



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DOS FUNGICIDAS SOBRE EL
CRECIMIENTO DE *Trichoderma* sp. AISLADO DE CAMPOS DE
CULTIVO DE PAPA DE LA PROVINCIA DE HUANCANÉ -
PUNO**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. CATTLEN LIZLIE HILASACA APAZA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO - PERÚ

2023



NOMBRE DEL TRABAJO

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DOS FUNGICIDAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Trichoderma sp.* AISLADO DE CAMPOS DE CULTIVO DE PAPA DE LA PROVINCIA DE HUANCANÉ - PUNO

AUTOR

CATTLEN LIZLIE HILASACA APAZA

RECuento DE PALABRAS

15562 Words

RECuento DE CARACTERES

84723 Characters

RECuento DE PÁGINAS

76 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

5.7MB

FECHA DE ENTREGA

Jun 12, 2023 3:17 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Jun 12, 2023 3:18 PM GMT-5

● **19% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 19% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 8% Base de datos de trabajos entregados
- 5% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Bloques de texto excluidos manualmente
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 8 palabras)



Firmado digitalmente por PAURO
ROCQUE Juan Jose FAU
20145496170 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 13.06.2023 15:42:30 -05:00



DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios por permitirme culminar con esta etapa en mi vida con salud, sabiduría y fortaleza para seguir adelante en mis objetivos.

A mis padres Fabian Hilasaca Alvarado y Rosa Apaza Mamani, por brindarme su apoyo incondicional en todo momento, dándome las mejores enseñanzas e inculcándome valores.

A mis hermanas Rocío y Luciana, por su amistad, su compañía y apoyo durante el proceso de realización de este trabajo.

Con mucho cariño les dedico este reconocimiento.

Cattlen Lizlie



AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme sabiduría y todo lo necesario para culminar con éxito el desarrollo de la presente tesis.

A la Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Biológicas que me permitieron emprender mi camino profesional.

A todos los docentes que inculcaron mi formación profesional, con sus enseñanzas y consejos.

A mis padres por confiar en mí, ayudándome y apoyándome; también agradecer a mis hermanas por su paciencia y apoyo en todo momento.

Al director de la presente tesis Dr. Juan José Pauro Roque, por su asesoría y apoyo durante el desarrollo de la tesis.

A la Ing. Nora Ortiz Calcina, por su apoyo y enseñanzas durante la ejecución del presente trabajo.

A mis amigos de la Universidad por su apoyo.

Cattlen Lizlie



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN 12

ABSTRACT..... 13

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 OBJETIVO GENERAL..... 16

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 16

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES 17

2.2 MARCO TEÓRICO..... 21

2.2.1 Fungicidas 21

2.2.2 *Trichoderma* sp. 26

2.2.3 Hongos en campos de cultivo de papa..... 29

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ZONA DE ESTUDIO 31

3.2 TIPO DE ESTUDIO..... 31

3.3 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN..... 31

3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA 32

**3.5 DETERMINACIÓN DE LA CARGA MICÓTICA DE *Trichoderma* sp. EN
SUELOS DE CULTIVOS DE PAPA DEL CENTRO POBLADO DE
MILLIRAYA Y ACCOCOLLO..... 32**

3.5.1 Frecuencia y lugares de muestreo 32

3.5.2 Aislamiento de *Trichoderma* sp. 32

3.5.3 Identificación de *Trichoderma* sp. 33



3.5.4 Cuantificación de hongos <i>Trichoderma</i> sp. en suelos de campos de cultivo	34
3.5.5 Variables	35
3.5.6 Análisis estadístico	36
3.6 DETERMINACIÓN DEL CRECIMIENTO MICELIAL <i>IN VITRO</i> DEL HONGO <i>Trichoderma</i> sp. FRENTE A DOS FUNGICIDAS EN CONDICIONES DE LABORATORIO.	36
3.6.1 Frecuencia y lugares de muestreo	36
3.6.2 Preparación de concentraciones de los fungicidas en agar PDA	36
3.6.3 Inhibición del crecimiento radial de la colonia de <i>Trichoderma</i> sp.	37
3.6.4 Variables	37
3.6.5 Análisis estadístico	37
CAPÍTULO IV	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1 CARGA MICÓTICA DE <i>Trichoderma</i> sp. EN SUELOS DE CULTIVO DE PAPA DEL CENTRO POBLADO DE MILLIRAYA Y ACCOCOLLO.	38
4.2 CRECIMIENTO MICELIAL <i>IN VITRO</i> DEL HONGO <i>Trichoderma</i> sp. FRENTE A DOS FUNGICIDAS EN CONDICIONES DE LABORATORIO.	43
V. CONCLUSIONES	59
VI. RECOMENDACIONES	60
VII. REFERENCIAS	61
ANEXOS	68

Área: Ciencias Biomédicas

Sub línea: Diagnóstico y Epidemiología

Fecha de sustentación: 14 de junio del 2023



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras micro y macroscópicas de <i>Trichoderma viride</i> . A) hifas con conidios luego de 5 días de incubación. B) observación de las formas de los conidióforos. C) formación de colonias con anillos concéntrico. D) formación de pigmento en la base de la placa de cultivo (Acurio y España, 2017).	34
Figura 2. Promedios de carga micótica de <i>Trichoderma</i> sp. según meses y centros poblados de muestreo.....	39
Figura 3. Prueba de Tukey de carga micótica de <i>Trichoderma</i> sp. en dos centros poblados del distrito de Huancané.	40
Figura 4. Prueba de Tukey de carga micótica de <i>Trichoderma</i> sp. durante los meses de muestreo en el distrito de Huancané.	40
Figura 5. Crecimiento <i>in vitro</i> de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. aislados de suelos del centro poblado Accocollo en PDA con tres concentraciones del fungicida Antracol.....	44
Figura 6. Prueba de Tukey de los diámetros de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. frente a concentraciones de Antracol aislados de suelos del centro poblado Accocollo.	45
Figura 7. Diámetros de crecimiento de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. aislados de suelos del centro poblado Accocollo en PDA con tres concentraciones del fungicida Curtine-V.	46
Figura 8. Prueba de Tukey de los diámetros de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. frente a concentraciones de Curtine-V aislados de suelos del centro poblado Accocollo.	47
Figura 9. Porcentajes de inhibición micelial según las concentraciones con 2 fungicidas y sus controles en PDA, aislados de suelos del centro poblado Accocollo.	48
Figura 10. Diámetros de crecimiento de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. aislados de suelos del centro poblado Milliraya en PDA con tres concentraciones del fungicida Antracol.	50



Figura 11. Prueba de Tukey de los diámetros de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. frente a 4 tratamientos de Antracol aislados de suelos del centro poblado Milliraya.	51
Figura 12. Diámetros de crecimiento de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. aislados de suelos del centro poblado Milliraya en PDA con tres concentraciones del fungicida Curtine-V.	53
Figura 13. Prueba de Tukey de los diámetros de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. frente a 4 tratamientos de Curtine-V aislados de suelos del centro poblado Milliraya.....	53
Figura 14. Porcentajes de inhibición micelial según los tratamientos con 2 fungicidas y sus controles, aislados de suelos del centro poblado Milliraya.	55
Figura 15. Preparación de Agar Dextrosa Papa.....	73
Figura 16. Muestras de suelo en agua estéril.....	73
Figura 17. Plaqueo de Agar Sabouraud y Agar Dextrosa Papa.....	73
Figura 18. Aislamiento de hongos filamentosos a partir de suelos de campos de cultivo de la provincia de Huancané.	74
Figura 19. Colocación de un disco de <i>Trichoderma</i> sp. aislado de un diámetro de 5 mm en las placas de PDA preparadas con los fungicidas en tres concentraciones.....	74
Figura 20. Crecimiento de <i>Trichoderma</i> sp. Según concentraciones del fungicida Antracol. Donde Tc= tratamiento control; T1=2g/l; T2=2.5g/l;T3=3g/l.....	74
Figura 21. Crecimiento de <i>Trichoderma</i> sp. según concentraciones del fungicida Curtine -V. Donde Tc=tratamiento control; T1=1 g/l; T2=3 g/l.....	75
Figura 22. Claves dicotómicas para identificación de <i>Trichoderma</i> sp (Barnet y Hunter 1998).	75



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química del Antracol.	24
Tabla 2. Composición química de Curtine – V.....	25
Tabla 3. Distribución de muestreos por centros poblados de muestreo.....	32
Tabla 4. Carga micótica de <i>Trichoderma</i> sp. ($\times 10^3$) en muestreos por centros poblados	38
Tabla 5. Crecimiento diario (cm) del diámetro de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. aislados del centro poblado Accocollo frente a 3 concentraciones del fungicida Antracol.....	43
Tabla 6. Crecimiento diario (cm) del diámetro de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. aislados del centro poblado Accocollo frente a 3 concentraciones del fungicida Curtine-V	46
Tabla 7. Inhibición del crecimiento miceliar (%) de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. (mm) según tratamiento fungicida y control, con tres repeticiones en hongos aislados de suelos del centro poblado Accocollo.	47
Tabla 8. Crecimiento diario (cm) del diámetro de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. aislados del centro poblado Milliraya frente a 3 concentraciones del fungicida Antracol	49
Tabla 9. Crecimiento diario (cm) del diámetro de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. aislados del centro poblado Milliraya frente a 3 concentraciones del fungicida Curtine-V	52
Tabla 10. Inhibición del crecimiento miceliar (%) de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. (mm) según tratamiento fungicida y control, con tres repeticiones en hongos aislados de suelos del centro poblado Milliraya.	54
Tabla 11. Diámetros de colonia de <i>Trichoderma</i> sp. (cm) según tratamiento fungicida y control, con tres repeticiones en hongos aislados de suelos del centro poblado Milliraya.	68
Tabla 12. Diámetros de colonia de <i>Trichoderma</i> sp. (cm) según tratamiento fungicida y control, con tres repeticiones en hongos aislados de suelos del centro poblado Occocollo.....	68
Tabla 13. Análisis de varianza y prueba de Tukey de la carga micótica de <i>Trichoderma</i> sp. en 2 centros poblados del distrito de Huancané.....	69



Tabla 14. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los diámetros de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. frente a 4 tratamientos de Antracol aislados de suelos del centro poblado Accocollo.....	69
Tabla 15. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los diámetros de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. frente a 4 tratamientos de Curtine-V aislados de suelos del centro poblado Accocollo.....	70
Tabla 16. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los diámetros de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. frente a 4 tratamientos de Antracol aislados de suelos del centro poblado Milliraya.	70
Tabla 17. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los diámetros de colonias de <i>Trichoderma</i> sp. frente a 4 tratamientos de Curtine-V aislados de suelos del centro poblado Milliraya.	71



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

°C	: grados centígrados
C. V.	: coeficiente de variabilidad
<i>et al.</i>	: y colaboradores
g	: gramo
ml	: mililitros
P	: probabilidad
pH	: potencial de hidrogeniones
Prom	: promedio
UFC/g	: unidades formadoras de colonia por gramo de muestra
PDA	: Agar Dextrosa Papa
g/l	: gramos por litro



RESUMEN

Los cultivos de papa día a día enfrentan problemas fitosanitarios donde se incluyen enfermedades causadas por hongos y bacterias, los cuales disminuyen la calidad del producto final, generando pérdidas económicas por la aplicación excesiva agroquímicos, afectando así la calidad orgánica de la papa y a su vez el ecosistema terrestre de los cultivos de papa. Razón por la cual se planteó evaluar la actividad de dos fungicidas Antracol y Curtine-V sobre el crecimiento del hongo *Trichoderma* sp. aislado en campos de cultivo de papa de la provincia de Huancané. La metodología para determinar la carga micótica de *Trichoderma* sp. en suelos de cultivo de papa de los centros poblados de Milliraya y Accocollo fue por muestreo simple al azar e inició con la recolección de muestras de suelo al azar de los campos de cultivo de papa de la provincia de Huancané, las cuales se diluyeron en suero fisiológico y posteriormente se cultivaron en el medio de cultivo Agar Papa Dextrosa mediante el método de vertido en placa para la cuantificación micótica, para determinar el crecimiento micelial *in vitro* del hongo *Trichoderma* sp. frente a los fungicidas Antracol (Propineb) y Curtine-V (Cymoxanil+mancozeb) se seleccionó el hongo *Trichoderma* sp, el cual fue identificado mediante la observación al microscopio usando las claves dicotómicas, seguidamente este hongo fue dispuesto por un diseño completamente al azar para evaluar al efecto de tres dosis de fungicidas mediante pruebas de susceptibilidad, donde se evaluó el crecimiento micelial para determinar si los fungicidas inhiben el crecimiento de *Trichoderma* sp, el crecimiento micelial fue evaluado mediante análisis de varianza y prueba de Tukey. *Trichoderma* sp. presentó recuentos entre 2.33×10^3 UFC/g y 6.33×10^3 UFC/g en el centro poblado de Milliraya siendo mayor a 2.33×10^3 UFC/g y 4.33×10^3 UFC/g en el centro poblado de Accocollo ($p=0.007$). Por otra parte, Antracol originó 79.24% en Accocollo y 90.32% en Milliraya de inhibición del crecimiento micelial de *Trichoderma* sp. y Curtine-V mostró inhibiciones de 81.65% en Accocollo y 94.13% en Milliraya, presentando diferencia estadística ($p<0.0001$). Concluyendo que los suelos del centro poblado Milliraya presentaron los mayores recuentos de *Trichoderma* sp. y los fungicidas Antracol y Curtine – V originaron altos valores de inhibición del crecimiento micelial *in vitro* sobre el hongo evaluado.

Palabras clave: agroquímicos, cultivo de papa, fungicida, recuento en placa, *Trichoderma* sp.



ABSTRACT

Potato crops face daily phytosanitary problems, which include diseases caused by fungi and bacteria, which decrease the quality of the final product, generating economic losses due to the excessive application of agrochemicals, thus affecting the organic quality of the potato and, in turn, the terrestrial ecosystem. of potato crops. Reason for which the following specific objectives were raised: determine the load of *Trichoderma* sp in potato growing soils from the towns of Milliraya and Accocollo and to determine the *in vitro* mycelial growth of the fungus *Trichoderma* sp against the fungicides Antracol (Propineb) and Curtine-V (Cymoxanil+mancozeb) under laboratory conditions. The Methodology began with the collection of random soil samples from potato fields in the province of Huancané, which were diluted and subsequently cultivated in the Potato Dextrose Agar culture medium using the pour plate method for the fungal quantification, after that the *Trichoderma* sp fungus was selected, which was identified by observation under a microscope using the dichotomous keys, then this fungus was arranged by a completely random design to evaluate the effect of three doses of fungicides through tests of sensitivity, where the mycelial growth was evaluated to determine if the fungicides inhibit the growth of *Trichoderma* sp, the numerical values were evaluated by analysis of variance and Tukey's test. The results were: *Trichoderma* sp presented counts between 2.33×10^3 CFU/g to 6.33×10^3 CFU/g in the town of Milliraya and 2.33×10^3 CFU/g to 4.33×10^3 CFU/g in the town of Accocollo ($p=0.007$). Antracol originated 79.24% and 90.32% inhibition of the mycelial growth of *Trichoderma* sp and Curtine - V showed inhibitions of 81.65% and 94.13% ($p<0.0001$). It is concluded that the soils of the Milliraya town center presented the highest counts of *Trichoderma* sp and the fungicides Antracol and Curtine - V originated high values of inhibition of *in vitro* mycelial growth on the evaluated fungus.

Keywords: agrochemicals, potato cultivation, fungicide, plate count, *Trichoderma*.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El cultivo de papa presenta dificultades para su desarrollo, las enfermedades causadas por hongos, microorganismos fitopatógenos y el uso indiscriminado de agroquímicos porque disminuyen la producción y por ende ocasionan pérdidas económicas masivas. Diversos químicos son usados de manera tradicional causando daños tanto para la papa, el agricultor y el ambiente en que se desempeñan. Esta situación ha llevado a los agricultores al uso masivo e indiscriminado de fungicidas en su afán de lograr una producción aceptable. La efectividad de un fungicida químico depende del conocimiento del patógeno, de la enfermedad y su resistencia por parte de la planta, y es necesario tener en cuenta estos puntos para un uso responsable.

La utilización de fungicidas químicos durante décadas para el control de enfermedades en cultivo agrícolas ha hecho inminente la búsqueda de alternativas amigables, que contribuyan a minimizar el impacto negativo sobre el medio ambiente, y también para proteger la estructura, función y diversidad biológica de los sistemas naturales agrícolas, los fungicidas usados para controlar los hongos fitopatógenos no solo son potencialmente peligrosos y costosos, sino también están perdiendo su efectividad debido a que estos hongos han desarrollado resistencia a los principales fungicidas. La ausencia de métodos alternativos o la escasa aplicación de microorganismos benéficos para minimizar el uso de agroquímicos son evidentes en nuestro país. Con el excesivo uso de los agroquímicos se corre el riesgo de perder las propiedades que posee el suelo y con ellos su fertilidad.

El hongo *Trichoderma* sp. es un habitante natural del suelo y puede desempeñarse como saprófito o como parásito de otros hongos fitopatógenos y además este género es muy conocido debido a su conducta antagonista, es un eficiente controlador biológico que



está siendo ampliamente usado en agricultura como agente de biocontrol debido a su habilidad para colonizar sustratos rápidamente, inducir resistencia sistémica adquirida en plantas, promover el crecimiento vegetal y poseer actividad antagónica contra un amplio rango de hongos patógenos causantes de enfermedades importantes en los cultivos.

En la provincia de Huancané, los cultivos de papa vienen siendo afectados por hongos fitopatógenos, siendo la papa el cultivo más importante no solo porque presenta la mayor superficie cultivada, sino también porque constituye la base de la dieta alimenticia del poblador rural; además porque su cultivo y producción representa una fuente de ingresos económicos de pequeños y medianos agricultores.

Debido a las características descritas anteriormente, para la inclusión de *Trichoderma* sp. dentro de una estrategia de manejo integrado de plagas, es necesario determinar la compatibilidad de este con insumos químicos utilizados comúnmente por los agricultores de los dos centros poblados como lo es el fungicida Curtine-V con registro: 400-97-AG-SENASA y Antracol con registro: 043-96-AG-SENASA, caso contrario se verían afectados y no podrían desempeñar su actividad beneficiosa. El motivo de estudio de esta investigación, radica en que se desea evaluar el efecto de los fungicidas sobre microorganismos benéficos como lo es el hongo *Trichoderma* sp.

Los resultados de esta investigación reportan el efecto de los fungicidas comerciales sobre el hongo benéfico *Trichoderma* sp., estos resultados serían una contribución para la disminución del uso excesivo de fungicidas y agroquímicos e incrementarían de calidad de papa orgánica para la población.

En ese sentido la investigación presentó los siguientes objetivos:



1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad de dos fungicidas Antracol y Curtine- V sobre el crecimiento del hongo *Trichoderma* sp. aislado de campos de cultivo de papa de la provincia de Huancané – Puno.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la carga micótica de *Trichoderma* sp. en suelos de cultivos de papa del centro poblado de Milliraya y Accocollo.
- Determinar el crecimiento micelial *in vitro* del hongo *Trichoderma* sp. frente a los fungicidas Antracol (Propineb) y Curtine-V (Cymoxanil+mancozeb).



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

Los tres fungicidas folpet (Folpam 80 PH), mancozeb (Mancozeb 75 PH) y zineb (Zineb 80 PH) tienen efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial del hongo *Trichoderma harzianum* (Castellanos *et al*, 2015), encontraron que la actividad de las peroxidases (POX) se indujo a las 24 horas posteriores a la aplicación de *Thichoderma harzianum* y se mantuvo hasta el día siete, la actividad de la enzima fue inducida por el patógeno, al quinto día en el cv “Tacarigua” (cvT) y al segundo día en el cv “Magdaleno” (cvM), revelando que potencialmente puede ser considerado un material resistente (Jiménez *et al*, 2013), en el caso de fungicidas como carboxin más thiram, fludioxonil más ciprodinil, y prochloraz, observaron grados de susceptibilidad de alta susceptibilidad (<23.75%), inhibiendo totalmente el crecimiento de los hongos endófitos evaluados. En *Botrytis cinerea* (Cepa 3015) se observó alta susceptibilidad a pyrimethanil, carboxin más thiram, fludioxonil más ciprodinil, y prochloraz (Corredor *et al*, 2007).

Los porcentajes de índice de crecimiento micelial (ICM) de *Paecilomyces carneus*, *Paecilomyces marquandii* y *Paecilomyces lilacinus* a 3750 mg/l de atrazina fueron de 22.6 %, 44.4 % y 46.3 %; con una concentración de efectividad media (CE₅₀) de 6820 mg/l, 4736 mg/l y 3633 mg/l, respectivamente. El paraquat presentó mayor toxicidad que la atrazina; *Paecilomyces carneus* (0.27 cm²/día) mantuvo significativamente su tasa de crecimiento diaria (TCD) a las concentraciones de 93 y 187 mg/l de paraquat. *Aspergillus tamaraii* obtuvo la CE₅₀ más alta (256.4 mg/l) de paraquat. El género *Paecilomyces* spp. y *Asperigillus tamaraii* resultaron tolerantes a la atrazina y paraquat, respectivamente (Chan *et al*, 2014), encontraron que los fungicidas carbendazim y metil-thiophanato, el primero con registro de uso en el cultivo de piña en



Costa Rica, inhiben 100% el crecimiento de *Fusarium oxysporum* en las tres dosis evaluadas. El spiroxamine, inhibe el desarrollo del hongo 100% a dosis media (0.80 mg/L) y alta (0.60mg/L), sin diferencias estadísticas entre ellos, encontrándose que *F. oxysporum* es altamente sensible a estos fungicidas. Se encontró resultados medianamente sensibles de *Fusarium oxysporum* para el difeconazol y pyraclostrobin de 60% a 75% de dosis media (0.25mg/L) a alta (0.50mg/L) y baja sensibilidad para el bitertanol y el triadimefon, inferior a 40% (Vásquez, 2009), en los ensayos con fungicidas, el ácido bórico presentó mayor efecto inhibitorio sobre las *Trichoderma* spp. que sobre el patógeno. A las concentraciones de 5 y 10 mg/ml no hubo crecimiento de las cepas de *Trichoderma* spp. y *Lasiodiplodia theobromae* presentó una inhibición del 53.6 y 57.3%, respectivamente. La concentración de 2 mg/ml, afectó más a las *Trichoderma* spp, excepto a la cepa I6 (39%), la cual no presentó diferencias significativas ($p < 0.005$) con respecto a *Lasiodiplodia theobromae* (34%) (Nieblas, 2012), encontraron que a medida que la concentración de Fipronil aumenta, el porcentaje de germinación de *Trichoderma* sp., disminuye a 53.78% y 22.52%; con respecto al crecimiento, disminuye a un 67.90% y 47.70% en las concentraciones 100 ppm y 250 ppm respectivamente, hallándose diferencia significativa en el control y los tratamientos, además *Trichoderma* sp. nativo presenta antagonismo de grado 1 sobre *Botrytis* sp. en condiciones normales, sin embargo en los tratamientos de 100 y 250 ppm presentan antagonismo de grado 3 (Tello, 2015).

Los resultados muestran que *Trichoderma koningiopsis* no inhibió su crecimiento en ningún caso; sin embargo, su crecimiento en el medio conteniendo azoxistrobina fue considerablemente mayor al obtenido en el medio con óxido de cobre. Por su parte, *Trichoderma stromaticum* únicamente creció en el medio con azoxistrobina (Guerrero & Arias, 2012), el tratamiento 1 (T1), cuya concentración del inóculo de *Trichoderma* utilizada fue de 38.3×10^6 conidias/ml de solución; resultó ser el mejor con un 63% de



biodegradación que corresponde a 4170.5 $\mu\text{g/g}$ de carbofuran en 57 días (Paredes, 2017), se encontró que a medida que la concentración de Metalaxyl aumenta, el porcentaje de germinación de *Trichoderma asperellum* disminuye. El porcentaje de crecimiento, obtenido fue 83%, 63% y 60% a las concentraciones de 262.5 ppm, 350 ppm, 437.5 ppm de Metalaxyl, respectivamente. Además, *Trichoderma asperellum* presentó antagonismo de grado 1 sobre *Rhizoctonia solani*, según la escala de Bell. Al incrementarse las concentraciones de metalaxyl de 262.5 ppm, 350 ppm, 437.5 ppm, disminuyó el porcentaje de germinación de esporas, sin embargo, no afecta de modo significativo los procesos de crecimiento y actividad antagónica de *Trichoderma asperellum* (Argomedeo *et al.*, 2015). Los resultados obtenidos en cuanto al crecimiento de *Trichoderma harzianum*, indican que el efecto de la metribuzina sobre la curva y velocidad de crecimiento de este, tiende a ser decreciente conforme se incrementa las concentraciones de metribuzina (600, 660, 720, 780, 840ppm) a comparación del control (0 ppm) (Azabache *et al.*, 2013).

Se encontró que las concentraciones dosis recomendada (D) y 10 veces inferior a la dosis) 10D de los productos fenoxaprop-p-etilo y 2,4D sal de amina afectaron el crecimiento micelial para las cepas T.17 y T.75; sin embargo, no así la germinación a la concentración de 0.1D. El bispiribac-sodio no afectó ninguna de las cepas evaluadas. Aún a los 7 días mostraron efecto residual sobre las cepas T.17 y T.75 los productos de fenoxaprop-p-etilo y 2,4D sal de amina a las concentraciones de 10D. El herbicida bispiribac- sodio resultó ser compatible con las tres cepas de *Trichoderma asperellum* evaluadas (Reyes *et al.*, 2012). Encontraron que Imidacloprid y Acetamiprid no disminuyen significativamente la germinación in vitro, y tampoco tienen un efecto significativo sobre el crecimiento de *Trichoderma viride* . Se observó también que las tres concentraciones de los insecticidas tienen el mismo efecto sobre la germinación, y el



porcentaje de crecimiento de *Trichoderma viride* no se ve afectado por los insecticidas evaluados (Meléndez, 2012). Encontraron resultados alcanzados del crecimiento y desarrollo de las cuatro especies de hongos con la utilización de los diferentes tipos de plaguicidas se obtuvo que para Acefato, el crecimiento microbiano fue óptimo; para Brillante, Curacron, Glifosato y Ridomil el crecimiento microbiano fue medio; y con la utilización de Vitavax el crecimiento de las diferentes especies de hongos fue mínimo a excepción de la especie *Trichoderma harzianum*. Concluyeron que *Trichoderma harzianum* es el microorganismo con características más óptimas para el manejo y desarrollo de una agricultura de calidad (Ríos, 2018).

Encontraron que el fungicida Fitoklin si bien no inhibe la germinación de *T. viride*, si disminuye el crecimiento de *T. viride* (Salvatierra, 2015), encontraron que clorpirifos disminuía hasta un 11.22% la germinación de *T. asperellum* a 37.43 % la de *T. asperellum* y a un 11.53% en el caso de *T. harzianum* . En relación al crecimiento micelial clorpirifos redujo el crecimiento de *T. asperellum* a un 35.63%, a 47.99% en el caso de *T. asperellum* (TCA 21) y a 49.65 % para *T. harzianum*. En cuanto a la capacidad antagónica, *T. asperellum* presentó un grado de antagonismo 2, mientras que *T. asperellum* y *T. harzianum* presentaron un grado de tipo 1. Concluyeron que al incrementarse la concentración de clorpirifos en el rango de 960 a 1440 ppm disminuye la germinación de *T. asperellum* y *T. harzianum* mientras que estas tres concentraciones no tienen un efecto inhibitorio significativo sobre el crecimiento y la capacidad antagónica de las tres especies de *Trichoderma* evaluada (Sabogal, 2015). En la evaluación del crecimiento de *T. asperellum* no se halló diferencia significativa entre los tratamientos, en la esporulación si hubo diferencia significativa, para germinación no se halló diferencias significativas, al evaluar la capacidad antagónica de *T. asperellum* se obtuvo que presentaba el grado antagónico 1; concluyendo que el insecticida Clorantraniliprole a las concentraciones de



92,184 y 276 ppm no tiene efecto inhibitorio sobre la germinación, crecimiento y la capacidad antagónica de *T. asperellum*, pero si hay cierto efecto inhibitorio en su esporulación (Merino, 2018).

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Fungicidas

a. Concepto

Los fungicidas son sustancias químicas que, aplicados a las plantas, las protegen de la penetración y/o posterior desarrollo de hongos patógenos en sus tejidos, es decir, es un compuesto que mata o inhibe el crecimiento del hongo dependiendo de su modo de acción y al grupo químico que pertenecen (Latorre, 1988); asimismo, es conocido por su capacidad específica para el control de enfermedades fungosas en las plantas durante su desarrollo y postcosecha (Jampílek & Král'ová, 2017).

b. Clasificación de los fungicidas

b.1 Fungicidas protectores o de contacto. Los fungicidas de protección no penetran el tejido foliar, es esencial que los fungicidas protectantes estén sobre las hojas, antes de las lluvias, este fungicida no es fácilmente lavado después de terminado de secar (Adrianzen *et al.*, 1996). El modo de funcionamiento de estos productos suele ser un proceso controlado en varios sitios poligénicos, es decir, actúa en diversos procesos metabólicos, que son esenciales para la vida de los hongos; por lo tanto, la probabilidad de que los hongos desarrollen resistencia a estos fungicidas es baja y por lo general este tipo de fungicidas afectan el metabolismo de las proteínas, bloquean la oxidación de ácidos grasos, afectan la producción de energía (ATP) y bloquean la enzima deshidrogenasa (Yaringaño, 1985).



b.2 Fungicidas de acción sistémica local. Es un fungicida intermedio con capacidad de penetrar a las hojas, pero se transfiere al resto de la planta. Su modo de acción se ubica en los inhibidores de la biosíntesis del ergosterol (Apablaza, 1997).

b.3 Fungicidas sistémicos. FAO (2000), indica que los ingredientes activos penetran en la planta, se mueven desde el sistema de raíces hasta las hojas y ayudan a proteger la planta. Estos productos son específicos, tienen propiedades terapéuticas y efecto prolongado ya que penetran en las hojas y pueden movilizarse a otros tejidos, dentro de la misma hoja o hacia otras partes de la planta, generalmente actúan en un solo paso de la fisiología del patógeno (monositio), lo que incrementa la posibilidad de generar resistencia del hongo, hoy en día se cuenta con 4 familias químicas (Benzimidazoles, Triazoles, Pirimidinas y recientemente las Estrobirulinas) (Apablaza, 1997).

c. Efectos fisiológicos y moleculares en los hongos

Los fungicidas bloquean el crecimiento de los hongos al interferir con los procesos celulares vitales. El modo de acción hace alusión a procesos celulares específicos que inhibe cada fungicida específico. Dentro de cada modo de acción hay sitios de acción específicos, que son las enzimas específicas del proceso celular a las que se unen los fungicidas (FRAC, 2019).

El mecanismo de acción antifúngico que todos tenemos es universal e inhibe el daño de la pared celular al unirse a la β -1,3-D-glucano sintasa (Fks1p), que es responsable de la síntesis de β -1,3-D-glucano. Esta acción es fungicida contra *Candida* y fungistática contra *Aspergillus*. El tratamiento con equinocandinas produce el hinchamiento y la lisis celular en las zonas de crecimiento de la pared, así como la activación de los genes relacionados con la biosíntesis de la pared (Reinoso *et al*, 2003). Las alteraciones en la pared celular de los hongos causadas por las equinocandinas podrían exponer el β -1,3-D-glucano en la superficie celular y por tanto este componente podría interactuar con el



receptor para el β -glucano dectina-1, activando la secreción de citocinas por las células de la inmunidad innata (Romani, 2004).

d. Fungicida Antracol

El Antracol WP70 es un fungicida orgánico utilizado a nivel mundial, cuya acción se ejerce específicamente para el control de hongos causantes de enfermedades como antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), cenicilla (*Oidium* sp.), mancha púrpura (*Alternaria porri*), mildew (*Peronospora* sp.), podredumbre (*Botrytis* sp.), gota (*Phytophthora infestans*) y tizón (*Alternaria solani*) en cultivos agrícolas de arroz, café, cacao, papa, cebolla, y plantas ornamentales, entre otros (Bayer Cropscience, 2000).

Este plaguicida es un compuesto organosulfurado incluido en los fungicidas ditiocarbamato (Kazos *et al.*, 2007), que se clasifica en la categoría toxicológica III, correspondiente a compuestos de toxicidad media (Córdoba, 2001).

a) Composición y estructura química

Naturaleza química

- Polvo mojable (WP).
- PROPINEB WP.



Componentes peligrosos

Tabla 1. Composición química del Antracol.

Componentes	No. CAS/No EINECS	Concentración [%]
Propineb (C ₅ H ₈ N ₂ S ₄ Zn) _x	9016-72-2	70.00
Alquilarilsulfonato	91078-64-7	1.0 – < 5.0
Metenamina	100-97-0	> 0.1 – < 1.0
Caolín	1332-58-7	>= 1.0

Fuente: BAYER (2021).

b) Efectos tóxicos en plantas y/o animales

Los registros disponibles acerca de los efectos adversos encontrados en sistemas biológicos experimentales informan: para ratas, disminución en el tamaño de los fetos al nacer y efectos histopatológicos, malformaciones y defectos craneofaciales (Larsson *et al.*, 1976), efectos sobre funciones musculares y sobre el citoesqueleto de células neuronales, astrocitos y células musculares (Schmuck *et al.*, 2002), lesiones preneoplásicas y neoplásicas en tiroides, riñón y vejiga urinaria (Hasegawa *et al.*, 1993), disminución en el peso corporal e incremento en la queratinización e hiperplasia en células epidérmicas (Yaldiz *et al.*, 2000). Para *Drosophila melanogaster* se informan alteraciones morfológicas en patas y alas, y para protozoos del género *Colpidium* toxicidad leve (Sáenz y Simbaqueba, 1996).

e. Fungicida Curtine–V

CURTINE-V es considerado un fungicida que muestra acción de contacto y translaminar, asimismo puede ser rápidamente absorbido a través del follaje. Tiene una acción sistémica local, ejerciendo un efecto curativo y actúa en la fase de incubación, previniendo la aparición del daño (SILVESTRE PERÚ S.A.C., 2019).

a) Composición y estructura química

Tabla 2. Composición química de Curtine–V.

Componentes	Contenido	Unidades de medida
Mancozeb	640	g/kg
Cymoxanil	80	g/kg
Aditivos	280	g/kg
N° CAS (i.a.) mancozeb	8018-01-7	-
N° CAS (i.a.) cymoxanil	57966-95-7	-

b) Ingredientes activos

- **Familia química:** Ditiocarbamatos y acetamida.
- Peso molecular: mancozeb (271 g/mol) y cymoxanil (198.2 g/mol).
- **Clasificación OMS:** Un poco peligroso (III) (SILVESTRE PERÚ S.A.C., 2010).

c) Efectos moleculares en los hongos

El fungicida Curtine-V presenta *Cymoxanil*, que controla el ataque de mildiú vellosa, destruye sus esporas al germinar, se incuban en el interior del tejido vegetal previniendo daños y lesiones a las plantas plantadas cuando la enfermedad comienza a aparecer. Limita la germinación y por ende la formación de nuevas conidias. Inhibe la división celular, interfiriendo con la síntesis de ARN (SILVESTRE PERÚ S.A.C, 2019).

Asimismo, tiene el *mancozeb*, impide la actividad de las enzimas sulfidrílicas en general y de la cisteína en particular, formando complejos con enzimas que contienen metales como las que intervienen en la reproducción de ATP (SILVESTRE PERÚ S.A.C, 2019).

d) Efectos tóxicos en plantas y/o animales



- **Mancozeb:** puede causar irritación, erupciones como también molestias cuando entra en contacto con la piel. Puede causar sensibilización de la piel de las personas.
- **Cymoxanil:** la inhalación del cymoxanil puede causar irritación en los ojos, dolor, lagrimeo o visión borrosa, irritación nasal y de garganta, dolor de garganta o secreción nasal y falta de coordinación. Al haber contacto con la piel puede ocasionar irritación como picazón, ardor, enrojecimiento, hinchazón y salpullidos. Basado en estudios con animales, la ingestión del cymoxanil puede causar depresión temporal del sistema nervioso central con mareos, confusión, falta de coordinación, somnolencia o inconciencia, cambios en las medidas hematológicas, cambios patológicos del hígado y pérdida de peso (SILVESTRE PERÚ S.A.C., 2010).

2.2.2 *Trichoderma* sp.

a) Clasificación taxonómica

Dominio	: Eukarya
Reino	: Fungi.
División	: Mycota.
Clase	: Hyphomycetes.
Orden	: Moniliales.
Familia	: Moniliaceae.
Género	: <i>Trichoderma</i> .

Especie: *Trichoderma* sp. (Companiononi *et al*, 2019).

b. Biología



El hongo *Trichoderma* es considerado anaerobio facultativo que se presenta naturalmente en un número significativo de entornos agrícolas y otros tipos de medios. De este microorganismo existen más de 30 especies, todas con efectos benéficos para la agricultura y otras ramas (Beebe, 1983).

Asimismo, es un hongo saprófito oportunista que se caracteriza por su rápido crecimiento, presente en la rizosfera terrestre de bosques o suelos de uso agrícola, se caracteriza por tener amplia gama de adaptabilidad convirtiéndolo en un hongo cosmopolita, además se desarrolla en una variedad de sustratos, siendo apto para un proceso de producción masiva, ideal para el uso agrícola (Companioni *et al.*, 2019).

Las especies de *Trichoderma* son responsables de la producción de metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas que se cree que inducen cambios estructurales a nivel celular, como la aspiración al vacío, la granulación, la citólisis y la destrucción celular que se observan en los organismos que interactúan. Actúa como una superbacteria competidora. Las especies del género *Trichoderma* son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidos por hongos, debido a su ubicuidad, a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores (Papavizas, 1985).

c. Características culturales de las colonias

Las colonias de *Trichoderma* en sus primeras etapas de crecimiento presenta apariencia aterciopelada de color blanco, en el desarrollo del micelio se torna a un blanco verdoso para posteriormente permanecer con una tonalidad verde oliva y produce la formación de anillos concéntricos siendo estos característicos de dicho hongo (Acurio & España, 2017), los conidióforos son ramificados, parecen un árbol pequeño y se presentan como penachos compactados que forman anillos con un sistema de ramas irregulares de manera piramidal (Infante *et al.*, 2009).



Sin embargo, Blaszczyk *et al.* (2014) menciona que algunas especies del género *Trichoderma* producen varios pigmentos, que van desde un amarillo verdoso hasta un tinte rojizo, gris o marrón, aunque también pueden ser incoloras. Las hifas de *Trichoderma* son hialinas septadas (Kubicek & Harman, 1998).

d. Efectos en los campos de cultivo

El incremento en la tasa de germinación de semilla, el aumento en el peso seco de la raíz y follaje, y el desarrollo radicular por *Trichoderma* es debido a que acelera el desarrollo de los tejidos meristemáticos primarios, los cuales aumentan la germinación, el volumen, la altura, así como el peso de la planta (Cupull *et al.*, 2003), también produce un factor de regulación de crecimiento (Windham *et al.*, 1986) y secreta fitohormonas; aunque Yedida *et al.* (2003), mencionan que no existe relación entre la estimulación de crecimiento promovida por *Trichoderma* sp. y acumulación de fitoalexinas producidas durante la interacción entre hongos y plantas (micorriza).

El desarrollo radicular también mejora la asimilación de humedad y nutrientes por parte de la planta (Vinale *et al.*, 2008). Este fenómeno de estimulación, puede deberse a un efecto directo de *Trichoderma* o también a efectos secundarios, en la interacción con fitopatógenos para su control (Windham *et al.*, 1986). La naturaleza molecular y molecular del efecto de estimulación de crecimientos que cede *Trichoderma* sp. a las plantas aún no han sido explicados (Harman *et al.*, 2004).

Trichoderma tiene la capacidad de antagonizar otros hongos patógenos (*Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium* spp., *Phytophthora capsici*, *Botrytis* spp., *Pythium* spp.), empleando sus diferentes mecanismos de control. La producción de enzimas líticas y su capacidad de producir metabolitos secundarios son empleados para la protección de las plantas contra enfermedades fúngicas (Woo, 2014). Entre algunos de los metabolitos que son producidos por



Trichoderma se mencionan péptidos no ribosómicos tales como: peptaiboles, sideróforos, micotoxinas, policétidos, terpenos, pironas, entre otros (Zeilinger & Bansal, 2016). Otro efecto favorable es que induce resistencia a fitopatógenos en las plantas con las que se asocia (Vinale *et al.*, 2008).

2.2.3 Hongos en campos de cultivo de papa

Los hongos son muy fundamentales para la conservación del suelo como también para las raíces de las plantas, puesto que el 90-95% de las plantas del suelo crean relaciones simbióticas que forman hongos micorrícicos para la producción de hormonas, clorofila como tolerancia al estrés de un ser vivo y no vivo. A medida que los hongos absorben los nutrientes (fosforo y potasio) más rápido, capturan el carbono y el nitrógeno que necesitan para el crecimiento, y su desarrollo facilita la captura del CO₂ (Camargo *et al.*, 2012).

Los hongos micorrícicos arbusculares en la agricultura forman un vínculo entre la planta y el suelo debido a que el micelio muy extenso, y producto de la asociación genera ventajas en la absorción de nutrientes de menos movilidad (como el P) contra las plantas no fúngicas, puesto que, el micelio exógeno penetra más profundamente en el suelo que los pelos de las raíces de las plantas no fúngicas (no micorrizadas); sin embargo, si los niveles de p del suelo son altos y las raíces de las plantas pueden absorber este material por sí mismas, por lo tanto, la simbiosis puede verse reducida o inhibida (Blanco *et al.*, 1997). Así como también son importantes para los cultivos, ya que, permite a la planta usar de manera más eficiente los nutrientes del suelo, razón por la cual se pueden reducir los problemas de contaminación del este por el exceso de fertilizantes químicos, si hay una reducción en la aplicación de los mismos (Cuenca *et al.*, 2007).

Por otro lado, la importancia de los hongos entomopatógenos es que no son nocivos para el operario ni para el ambiente, no deterioran la fauna benéfica, permiten



establecer programas de manejo integrado, se pueden usar para agricultura orgánica, no tienen efectos tóxicos por acumulación en aplicaciones sucesivas ni límite máximo de residuos (Ardón, 2007).

Para controlar el daño producido por hongos patógenos en diversos cultivos de interés agrícola, se basa en determinar la capacidad de los hongos como agentes biocontroladores y esta acción está directamente relacionada con la producción de enzimas extracelulares, como las quitinasas y celulasas que pueden dañar la pared celular del hongo patógeno (Campuzano *et al.*, 2017).

La actividad de estas enzimas se presenta en cepas de *Trichoderma* frente a fitopatógenos como *Rhizoctonia meloni*, *R. solani* y *Botrytis cinérea*, donde la *T. harzianum* ha sido una de las especies de *Trichoderma* más estudiadas, ya que posee la capacidad de producir las enzimas N-acetilglucosaminidasas, endoquitinasas, y quitobiosidasas, las cuales tienen funciones importantes en el control de fitopatógenos, la producción de quito-oligosacáridos y en la degradación de sustratos de quitina, el 25-60% del total de los hongos filamentosos tienen esta capacidad quitinolítica lo que permite degradar la quitina tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas (Ulacio *et al.*, 2002).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ZONA DE ESTUDIO

La investigación se realizó en la ciudad de Puno, en el laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA Puno. Las muestras de suelo de cultivo fueron recolectadas en los centros poblados Milliraya y Accocollo, pertenecientes al distrito y provincia de Huancané, región de Puno (Perú). Los habitantes que viven en la zona de estudio hablan el idioma Aymara, cultivan papa, ocas y habas mayoritariamente, la tierra tiene una coloración negruzca, no poseen sistemas de riego solo esperan la caída de lluvias, aplican abonos orgánicos con estiércoles de animales, ceniza y cuando es necesario agroquímicos, entre ellos los 2 fungicidas que se evaluaron (observación *in situ*).

3.2 TIPO DE ESTUDIO

La investigación está enmarcada en el tipo de estudio descriptivo y explicativo. Descriptivo, ya que los resultados del primer objetivo específico manifiestan la carga micótica de hongos del género *Trichoderma* sp. en suelos de dos campos de cultivo de la provincia de Huancané. Explicativo, ya que en los resultados del segundo objetivo específico manifiestan el efecto de dos fungicidas que se aplican a los cultivos e *in vitro* serán las causas de su inhibición.

3.3 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El diseño de la presente investigación fue experimental, en razón de que los recuentos de hongos filamentosos del género *Trichoderma* sp. fueron a partir de 2 campos de cultivo de la provincia de Huancané, asimismo se experimentó el efecto de 3 concentraciones de cada uno de los fungicidas sobre el crecimiento de las colonias del hongo.

3.4 POBLACIÓN Y MUESTRA

Para esta investigación se consideró 100 m² de cultivo de papa para cada centro poblado, en cada uno se aplicó el método por conveniencia, el cual se caracterizó por obtener muestras representativas mediante la inclusión de grupos típicos, para ello se trabajó con un total de 48 muestras, y fueron sometidas en medios de cultivo de agar adicionados con el fungicida tal como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Distribución de muestreos por centros poblados de muestreo.

Meses de muestreo	Zonas de muestreo	
	Milliraya	Accocollo
Agosto	8 muestras	8 muestras
Setiembre	8 muestras	8 muestras
Octubre	8 muestras	8muestras
Total	24 muestras	24 muestras

3.5 DETERMINACIÓN LA CARGA MICÓTICA DE *Trichoderma* sp. EN SUELOS DE CULTIVOS DE PAPA DEL CENTRO POBLADO DE MILLIRAYA Y ACCOCOLLO.

3.5.1 Frecuencia y lugares de muestreo

El muestreo se llevó a cabo cada mes (agosto, setiembre y octubre) y se recolectaron un total de 12 muestras de suelo de cada centro poblado en un terreno de 100 m². De cada sitio de muestro se recolectó 500 g de tierra a 10 cm de profundidad, descartando los primeros 5 cm de superficie de suelo (Acurio y España, 2017). Las muestras fueron colectadas en bolsas de plástico de cierre hermético, colocados en una caja de tecnopor y de inmediato fue derivado para su procesamiento al Laboratorio de Microbiología Clínica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

3.5.2 Aislamiento de *Trichoderma* sp.



Se colocó 1 g de la muestra de suelo en un tubo de ensayo con 9 ml de suero fisiológico (dilución 1), y se homogenizó durante 3 minutos y con una pipeta se tomó de la dilución 1 una alícuota de 0.5 ml para ser transferida al medio de Agar Sabouraud. Para cada centro poblado se consideró 2 repeticiones cada mes. Con la ayuda de un asa de Drigalsky esterilizada y cerca del mechero, se extendió la alícuota uniformemente sobre la superficie de la placa y se cultivó a una temperatura de 28 °C, las observaciones se realizaron a las 48 horas. Para el aislamiento del hongo *Trichoderma* sp. se realizó la resiembra en Agar Papa Dextrosa, con dos repeticiones y fueron incubadas a una temperatura de 28 °C durante 6 días.

3.5.3 Identificación de *Trichoderma* sp.

Para la identificación del hongo se usaron láminas porta y cubre objetos, asimismo se contó con una cinta adhesiva transparente y colorante de Azul de Lactofenol, además se utilizó diferentes claves taxonómicas, y la identificación se realizó mediante la observación de las características macro y microscópicas, sus estructuras reproductivas, utilizando como referencia la literatura de Alexopoulos (1996).

Para la identificación macroscópica de *Trichoderma* sp., según Acurio y España (2017) las colonias del moho presentan un crecimiento rápido (5 – 8 cm), a 26 °C luego de 5 días, el hongo logra cubrir la superficie del medio de cultivo de Agar Papa Dextrosa. En un inicio las colonias forman pústulas algodonosas de coloración blanca, luego se compactan y esporulan tornándose de una coloración verde con textura granular, los conidióforos ramificados se visualizan en el borde de la pústula (Figura 1, c). En el inverso de las placas las colonias se puede observar una coloración marrón – amarillenta, debido a que produce cristales amarillentos (Figura 1, d), los cuales concuerdan con las claves dicotómicas de Barnet y Hunter (1998).

Para la identificación microscópica de *Trichoderma* sp., Acurio y España (2017) indica que se observan los conidióforos en ramas laterales pareadas formando un ángulo de 90° en relación al eje de donde se originan. Las fiálides presentan estructuras alargadas, ligeramente anchas en la parte central y un cuello alargado de coloración hialina. En ocasiones se observa fiálides individuales en otras se presentan en grupos de 2 a 3. Las conidias poseen forma ovoide o globosa con coloración verde claro y bordes lisos e incrustadas en las fiálides formando racimos globosos de umbeladas bien definidas, todo ello coincide con las claves de identificación taxonómicas de Samuels *et al.* (1996) y Gams y Bissett (1998).

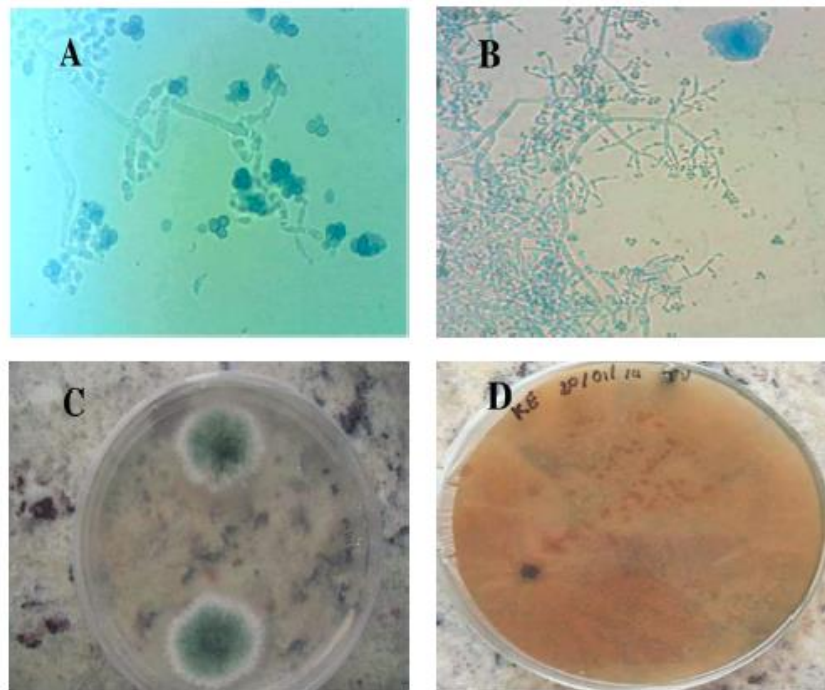


Figura 1. Estructuras micro y macroscópicas de *Trichoderma viride*. A) hifas con conidios luego de 5 días de incubación. B) observación de las formas de los conidióforos. C) formación de colonias con anillos concéntrico. D) formación de pigmento en la base de la placa de cultivo (Acurio y España, 2017).

3.5.4 Cuantificación de hongos *Trichoderma* sp. en suelos de campos de cultivo

La metodología que se siguió fue la recomendada por Carreño y Hurtado (2017) y constó de las siguientes etapas y procedimientos:



- a. **Preparación de la muestra.** Se tamizó la muestra de tierra de los 2 centros poblados, para desechar las ramas, piedritas entre otros. A continuación, se pesó 10 g de muestra anteriormente tamizada, para luego ser vertido a 90 ml de agua destilada estéril (dilución 10^1).
- b. **Preparación de las diluciones.** Se enumeraron los tubos con agua destilada estéril del 1 al 5. Seguidamente con una pipeta de vidrio estéril de 5 ml, se colectó 1 ml de la dilución 10^1 y se transfirió al tubo 2 (dilución 10^2), luego se homogenizó. Esta operación se repitió hasta obtener la dilución 10^5 .
- c. **Siembra por el método de vertido en placa.** Se pipeteó por duplicado a placas Petri previamente esterilizadas, alícuotas de 1 ml de las 3 últimas diluciones (10^3 , 10^4 y 10^5). Luego se agregó 15 ml de Agar Sabouraud que se mantuvo entre 45 y 50 °C a cada una de las placas conteniendo las diluciones. Se mezcló inmediatamente las alícuotas con el agar realizando movimientos horarios y antihorarios de las placas Petri, dejando luego gelificarlas a temperatura ambiente por unos 10 minutos para luego cultivarlas a 30 °C durante 5 a 7 días, hasta que desarrollen las colonias de hongos. Para evitar el crecimiento de bacterias se añadió cloranfenicol en el proceso de preparación de Agar Sabouraud.
- d. **Lectura e interpretación.** Para realizar el recuento de las colonias de hongos *Trichoderma* sp., se seleccionó las placas que presentaron entre 30 y 300 colonias, del cual se tomó la media aritmética entre las placas Petri duplicadas, que se multiplicó por el factor de dilución. Finalmente, el resultado del recuento se dio en unidades formadoras de colonias por g de suelo (UFC/g).

3.5.5 Variables

Variable Independiente: Suelo de campos de cultivo de los centros poblados evaluados.



Variable Dependiente: Carga micótica de hongos *Trichoderma* sp.

3.5.6 Análisis estadístico

En la investigación los tratamientos correspondieron a dos centros poblados (Milliraya y Accocollo) de donde procedieron las muestras de suelo, cada muestra fue colectada al azar de un campo de cultivo delimitado en 100 m². En cada punto de muestreo se realizaron 3 repeticiones por mes (Tabla 1). La variable respuesta fue el número de colonias de *Trichoderma* sp. por cada centro poblado de muestreo. A continuación, los valores de los recuentos fueron analizados mediante pruebas de T de Student, todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de confianza del 95% y los datos se procesaron con el software estadístico INFOSTAT versión estudiantil 2018 para Windows.

3.6 DETERMINACIÓN DEL CRECIMIENTO MICELIAL *IN VITRO* DEL HONGO *Trichoderma* sp. FRENTE A DOS FUNGICIDAS

3.6.1 Frecuencia y lugares de muestreo

Para determinar el efecto de los fungicidas sobre *Trichoderma* sp., se aplicó un diseño completamente al azar, con tres repeticiones por un tiempo de 3 meses. La unidad experimental correspondió a la técnica de cultivos duales en placas Petri usando el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA).

3.6.2 Preparación de concentraciones de los fungicidas en Agar Dextrosa Papa (PDA)

Para determinar el efecto de los fungicidas se prepararon concentraciones de 1.00 g/l, 3.00 g/l y 5.00 g/l del fungicida Curtine-V y 2.00 g/l, 2.50 g/l y 3.00 g/l de fungicida Antracol. El PDA se preparó con cada solución de fungicida. Por último, se cultivaron los hongos aislados de *Trichoderma* sp. en cada placa por la técnica de puntos con un asa de siembra previamente esterilizada. Los testigos se establecieron de la misma manera,



pero en Agar PDA sin fungicidas. Las placas se incubaron por un período de diez días, a una temperatura de 28 °C y se efectuaron observaciones del crecimiento de cada colonia cada 24 horas para constatar el crecimiento de *Trichoderma* sp.

3.6.3 Inhibición del crecimiento radial de la colonia de *Trichoderma* sp.

La inhibición del crecimiento radial se determinó con base en el diámetro del crecimiento radial medido en mm del hongo sin el efecto del fungicida, menos el diámetro del crecimiento del hongo influenciado por el fungicida, que fue expresado en porcentaje, tal como se especifica en la siguiente formula:

$$\%IM = \frac{CML - CMI}{CML} \times 100$$

Donde: % IM: Porcentaje de inhibición crecimiento micelar; **CML:** Crecimiento micelial libre; **CMI:** crecimiento micelial influenciado (Alfonso y Sandoval, 2008).

3.6.4 Variables

Variable independiente: Concentraciones de fungicidas Antracol (Propineb) y Curtine-V (Cymoxanil+mancozeb).

Variable dependiente: Inhibición del crecimiento radial de *Trichoderma* sp.

3.6.5 Análisis estadístico

El diseño experimental fue aleatorio, se realizaron 3 repeticiones para cada uno de los tratamientos los cuales correspondieron al diámetro de crecimiento por efecto de cada fungicida; Antracol (Propineb) y Curtine-V (Cymoxanil + mancozeb) frente al hongo *Trichoderma* sp. Los resultados fueron analizados mediante pruebas de análisis de varianza y de Tukey ($P \leq 0.05$). Todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de confianza de 95% y los datos se procesaron con el software estadístico INFOSTAT versión estudiantil 2018 para Windows.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARGA MICÓTICA DE *Trichoderma* sp. EN SUELOS DE CULTIVOS DE PAPA DEL CENTRO POBLADO DE MILLIRAYA Y ACCOCOLLO.

Tabla 4. Carga micótica de *Trichoderma* sp. ($\times 10^3$) en suelos de cultivo por centros poblados de muestreo.

Centros Poblados de muestreo	Meses	Repeticiones			Promedio	CV (%)
		1	2	3		
Milliraya	Agosto	3	2	2	2.33	24.74
	Septiembre	6	5	5	5.33	10.83
	Octubre	7	5	7	6.33	18.23
Accocollo	Agosto	2	3	2	2.33	24.74
	Septiembre	3	4	4	3.67	15.75
	Octubre	4	4	5	4.33	13.32

Donde: CV (%) = coeficiente de variación en porcentaje.

En la Tabla 4 se observa la carga micótica de *Trichoderma* sp. evaluados mediante tres repeticiones, durante tres meses consecutivos (agosto, septiembre y octubre del año 2021) en dos centros poblados del distrito de Huancané (Milliraya y Accocollo). Los mayores promedios en ambos centros poblados de muestreos se visualizan entre los meses de septiembre y octubre, con respecto a la evaluación en el mes de agosto (Figura 2). Los coeficientes de variación oscilaron entre 10.83% y 24.74% en el centro poblado Milliraya y de 13.32% a 24.74% en el centro poblado de Accocollo, presentando una dispersión de datos entre baja y leve con respecto a su promedio.

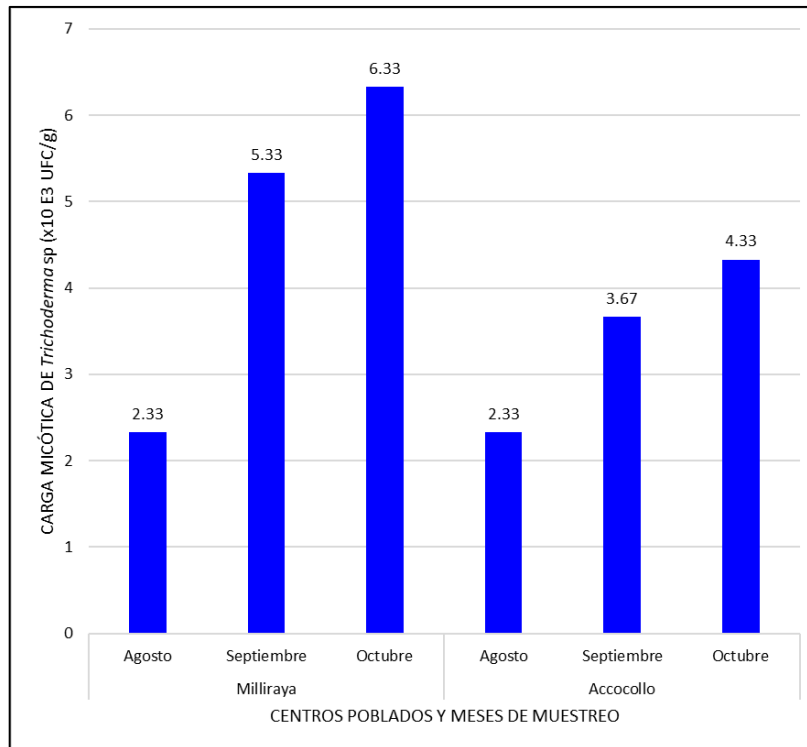


Figura 2. Promedios de carga micótica de *Trichoderma sp.* según meses y centros poblados de muestreo.

El análisis de varianza realizado a los valores de carga micótica de *Trichoderma sp.* obtenidos por centros poblados evaluados presentaron diferencia estadística significativa ($F=9.96$; $gl=1$; $p\text{-valor}=0.0070$) y la prueba de Tukey demostró que la carga micótica fue mayor en el centro poblado Milliraya con respecto al centro poblado Accocollo (Figura 3).

Asimismo, el análisis de varianza realizado a los valores de carga micótica de *Trichoderma sp.* obtenidos por meses presentaron diferencia estadística significativa ($F=21.33$; $gl=2$; $p\text{-valor}=0.0001$) y la prueba de Tukey coincidió con lo visualizado en la Tabla 4, donde la carga micótica fue mayor durante los meses de septiembre y octubre (sin diferencia estadística) con respecto al mes de agosto (Figura 4).

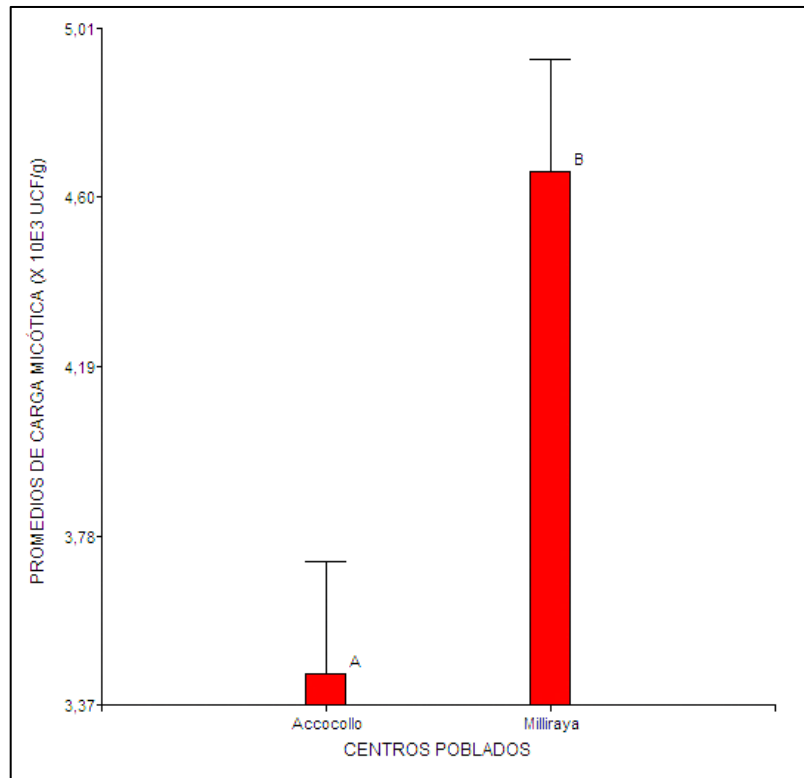


Figura 3. Prueba de Tukey de carga micótica de *Trichoderma* sp. en dos centros poblados del distrito de Huancané.

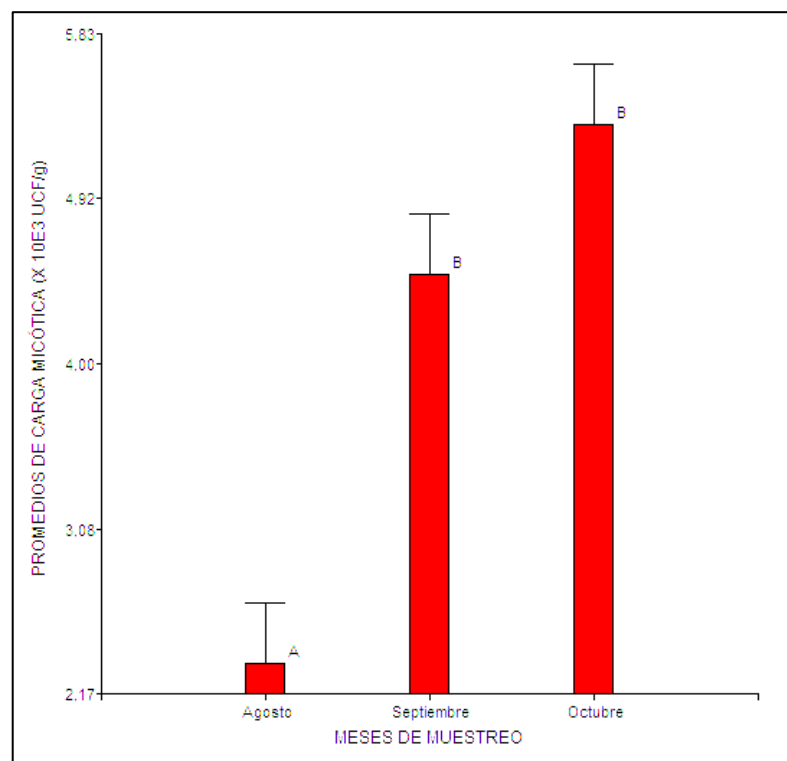


Figura 4. Prueba de Tukey de carga micótica de *Trichoderma* sp. durante los meses de muestreo en el distrito de Huancané.



Las muestras de suelo procedentes del centro poblado Milliraya estadísticamente presentaron la mayor carga micótica de *Trichoderma* sp., a pesar de que los suelos poseen un amplio número de recuentos microbianos mayoritariamente abundan las bacterias, los hongos, los protozoos, las algas y los actinomicetos (Hernández, 2002), su diversidad y la cantidad presente en la rizosfera dependerá de la composición y concentración de nutrientes como los exudados que son liberado por las raíces vegetales. Razón por la cual los hongos filamentosos del género *Trichoderma* sp. son muy comunes entre las poblaciones micóticas en los suelos ya que son colonizadores secundarios, que abundan en aquellos suelos que poseen mucha materia orgánica, como en la producción de humus y en las raíces de diversos vegetales (Cupull *et al.*, 2000).

Cada suelo tiene su particularidad en nutrientes y sustancias nocivas para los microorganismos, y varía según las enmiendas orgánicas y la fertilización sintética que terminan favoreciendo el crecimiento de colonias de *Trichoderma* sp. (Bulluck *et al.*, 2002). Es probable que los suelos del centro poblado Milliraya por la mayor carga micótica que presentó posea las mejores condiciones para estos microorganismos como una mayor cantidad de materia orgánica, buena aireación ya que el hongo es aeróbico, un pH entre neutro y ácido, suelos con buena humedad y de un 60% de capacidad de retención de humedad del suelo. Su persistencia, a pesar de que en el Altiplano peruano es frecuente la presencia de radiación solar alta y baja humedad por ser un clima seco, es debido a que forman clamidosporas en condiciones de estrés (García *et al.*, 2017).

Trichoderma sp. posee una larga y exitosa historia ya que son biocontroladores, por tanto, poseen capacidades antagonistas frente a los patógenos (Tellez *et al.*, 2017), según la consulta *in situ* a los habitantes la producción de cultivos es buena, y es probable que estos hongos logren aumentar el crecimiento radicular, incrementando la productividad de los cultivos mediante la captación de nutrientes (Gao *et al.*, 2018). Es



importante la presencia de *Trichoderma* sp., en razón que posee mecanismos de antibiosis, competencia (por nutrientes y espacio), micoparasitismo y logra desactivar enzimas microbianas (García *et al.*, 2017), también producen compuestos que inducen resistencia en los vegetales debido a que produce enzimas y antibióticos entre ellas las pironas (Casañola *et al.*, 2019), estimula el acelerado desarrollo radicular que posibilita la tolerancia al estrés en las plantas, estimulando el crecimiento vegetal. Los mecanismos mencionados no tienen efecto directo en los patógenos, más bien potencia y estimula mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos que poseen los vegetales (Martínez *et al.*, 2013).

Luego de realizar la cuantificación micótica de *Trichoderma* sp. en suelos de dos centros poblados en la provincia de Huancané, se afirma que los campos de cultivo presentan variaciones en la carga microbiana, esto debido a que a muchos factores como el contenido de materia orgánica, el uso de agroquímicos entre ellos fungicidas por parte de los agricultores, la calidad fisicoquímica del agua con alta salinidad, podrían afectar la sobrevivencia y permanencia de los hongos en los suelos, lo cual sería negativo para la fertilidad de los mismos, en razón de que los microorganismos son los seres vivos que degradan la materia orgánica, liberando nutrientes útiles para el crecimiento de las plantas, originan antagonismo frente a hongos patógenos de las raíces y muchos estimulan el crecimiento vegetal (fitohormonas).

4.2 CRECIMIENTO MICELIAL *IN VITRO* DEL HONGO *Trichoderma* sp. FRENTE A DOS FUNGICIDAS EN CONDICIONES DE LABORATORIO.

Tabla 5. Crecimiento *in vitro* (cm) de colonias de *Trichoderma* sp. aislados del centro poblado Accocollo frente a 3 concentraciones del fungicida Antracol (promedio de tres repeticiones).

DÍAS DE EVALUACIÓN	ANTRACOL (g/L)			
	0	2	2.5	3
1	1.30	0.00	0.00	0.00
2	3.80	1.10	0.20	0.20
3	5.90	2.60	0.90	0.50
4	7.30	3.20	1.60	0.80
5	7.80	5.00	2.40	1.10
6	8.40	5.70	2.70	1.60
7	8.50	6.28	2.91	2.00
8	8.50	6.50	3.00	2.20
9	8.50	6.50	3.00	2.20
10	8.50	6.50	3.00	2.20

En la Tabla 5 se observa la evolución del crecimiento del diámetro micelial de *Trichoderma* sp. aislados del centro poblado Accocollo en medios de cultivo conteniendo diferentes concentraciones del fungicida Antracol y su tratamiento control durante 10 días de observación. Con el tratamiento control se registró un crecimiento entre 1.30 cm al primer día, llegando a cubrir prácticamente toda la placa Petri con 8.5 cm al décimo día; mientras tanto en medios de cultivo con una concentración de 2 g/l del fungicida, el crecimiento de colonias se observó al segundo día con 1.10 cm, logrando al décimo día 6.5 cm; a una concentración de 2.5 g/l del fungicida el crecimiento inició al segundo día con 0.20 cm, llegando a los 3 cm al décimo día y en medios de cultivo con 3 g/l de fungicida, inició en 0.20 cm al segundo día hasta lograr 2.20 cm al décimo día (Figura 5).

Como se observa a mayor concentración del fungicida los diámetros de cada colonia tienden a disminuir en el transcurrir del tiempo.

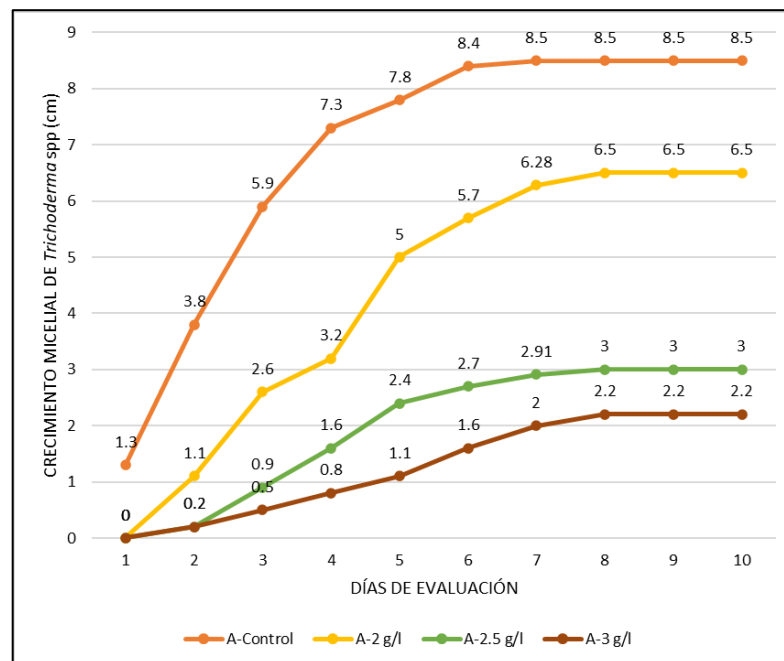


Figura 5. Crecimiento *in vitro* de colonias de *Trichoderma* sp. aislados de suelos del centro poblado Accocollo en PDA con tres concentraciones del fungicida Antracol.

Al realizar el análisis de varianza, los diámetros de las colonias de *Trichoderma* sp. aislados del centro poblado Accocollo presentaron diferencia estadística significativa entre las concentraciones de Antracol y el tratamiento control sin fungicida ($F=75.99$; $gl=3$; $p<0.0001$), donde los mayores diámetros fueron obtenidos en el tratamiento control, a continuación la concentración de 2 g/l de Antracol y finalmente las concentraciones de 2.5 y 4 g/l, entre éstos últimos no hubo diferencia estadística, tal como se muestra en el prueba de Tukey (Figura 6).

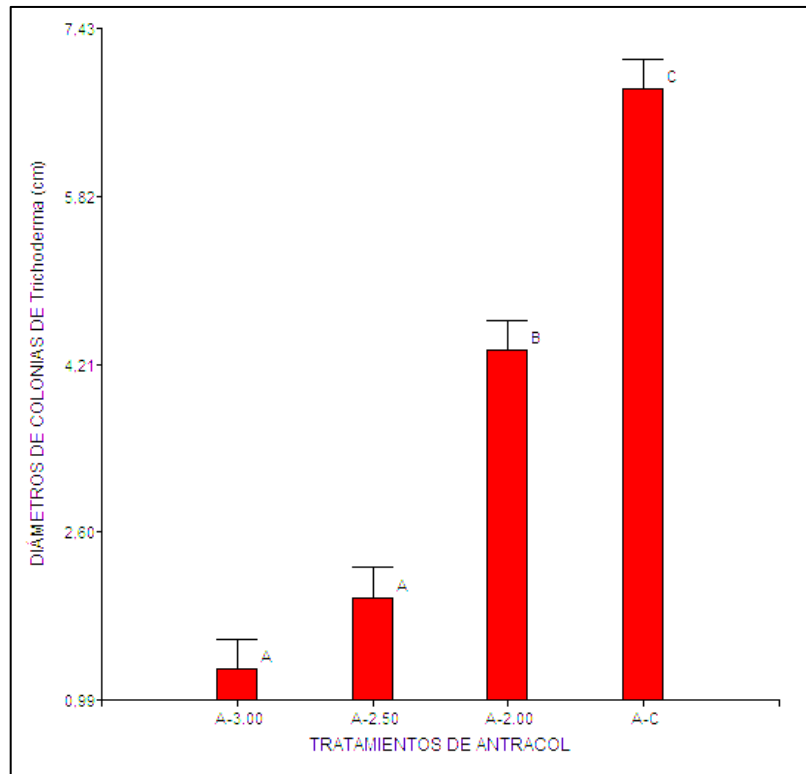


Figura 6. Prueba de Tukey de los diámetros de colonias de *Trichoderma* sp. frente a concentraciones de Antracol aislados de suelos del centro poblado Accocollo.

En la Tabla 6 se observa la evolución del crecimiento del diámetro micelial de *Trichoderma* sp. aislados del centro poblado Accocollo en medios de cultivo conteniendo diferentes concentraciones del fungicida Curtine-V y su tratamiento control durante 10 días de observación. En el tratamiento control las colonias variaron su diámetro desde 1.10 cm a 8.50 cm entre el primer y décimo día; a una concentración de 1 g/l del insecticida se registró un crecimiento entre 0.40 cm al segundo día a 4 cm de diámetro al décimo día; a una concentración de 3 g/l del fungicida el diámetro varió entre 0.30 cm a 3 cm entre el segundo y décimo día; mientras tanto que a una concentración de 5 g/l del fungicida apenas presentó un diámetro entre 0.10 cm y 1 cm al segundo y décimo día respectivamente (Figura 7). Como se observa a mayor concentración del fungicida los diámetros de cada colonia tienden a disminuir en el transcurrir del tiempo.

Tabla 6. Crecimiento diario (cm) del diámetro de colonias de *Trichoderma* sp. aislados del centro poblado Accocollo frente a 3 concentraciones del fungicida Curtine-V (promedio de tres repeticiones).

DÍAS DE EVALUACIÓN	CURTINE -V (g/L)			
	0	1	3	5
1	1.10	0.00	0.00	0.00
2	3.70	0.40	0.30	0.10
3	5.30	1.50	1.00	0.20
4	7.00	2.40	1.80	0.50
5	8.10	3.10	2.30	0.70
6	8.50	3.60	2.70	0.90
7	8.50	4.00	2.90	0.90
8	8.50	4.00	3.00	1.00
9	8.50	4.00	3.00	1.00
10	8.50	4.00	3.00	1.00

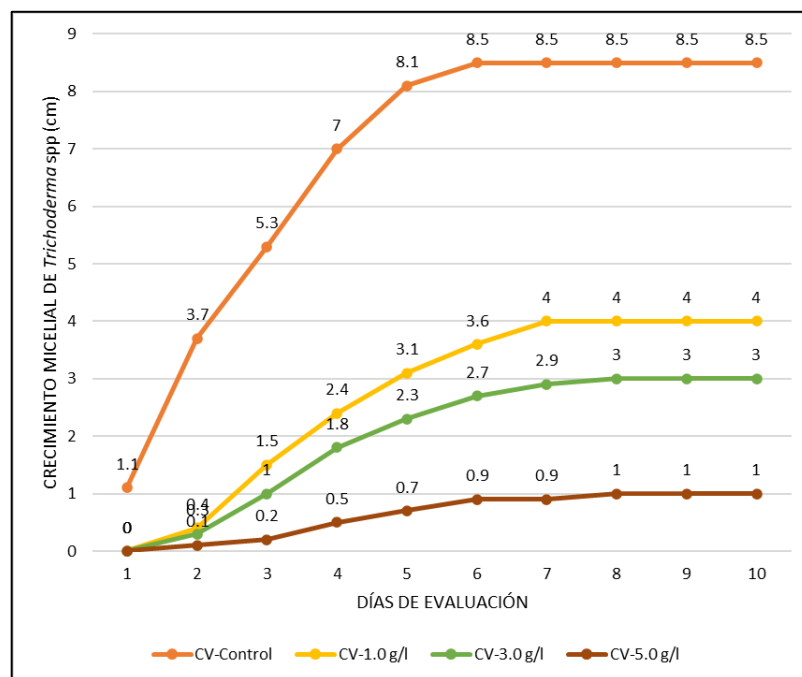


Figura 7. Diámetros de crecimiento de colonias de *Trichoderma* sp. aislados de suelos del centro poblado Accocollo en PDA con tres concentraciones del fungicida Curtine-V.

Al realizar el análisis de varianza, los diámetros de las colonias de *Trichoderma* sp. aislados del centro poblado Accocollo presentaron diferencia estadística significativa entre las concentraciones de Curtine-V y el tratamiento control sin fungicida ($F=78.71$; $gl=3$; $p<0.0001$), donde los mayores diámetros fueron obtenidos en el tratamiento control, a continuación a concentraciones de 1 y 3 g/l de Curtine-V (entre éstos no hubo diferencia estadística) y finalmente las concentraciones de 5 g/l, tal como se muestra en el prueba de Tukey (Figura 8).

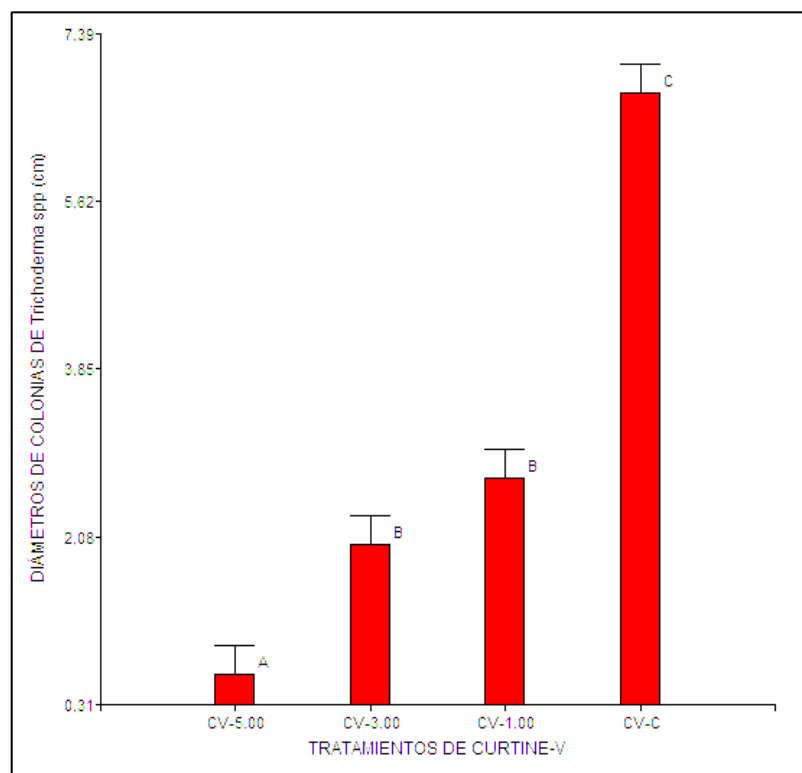


Figura 8. Prueba de Tukey de los diámetros de colonias de *Trichoderma* sp. frente a concentraciones de Curtine-V aislados de suelos del centro poblado Accocollo.

Tabla 7. Inhibición del crecimiento micelial (%) de colonias de *Trichoderma* sp. (mm) según tratamiento fungicida y control, con tres repeticiones en hongos aislados de suelos del centro poblado Accocollo.

Tratamientos	Concentración (g/l)	Inhibición de crecimiento micelial			Promedio	CV (%)
		1	2	3		
Antracol	2.00	69.14	72.62	68.29	70.02	3.28
	2.50	74.68	80.00	73.49	76.06	4.55
	3.00	83.33	80.00	74.39	79.24	5.70
Curtine-V	1.00	70.89	65.00	68.67	68.19	4.36
	3.00	75.95	78.75	73.49	76.06	3.46
	5.00	79.76	84.71	80.49	81.65	3.27
Control	Sólo PDA	--	--	--	--	--
	Sólo PDA	--	--	--	--	--
	Sólo PDA	--	--	--	--	--

Donde: CV(%)=coeficiente de variación en porcentaje.

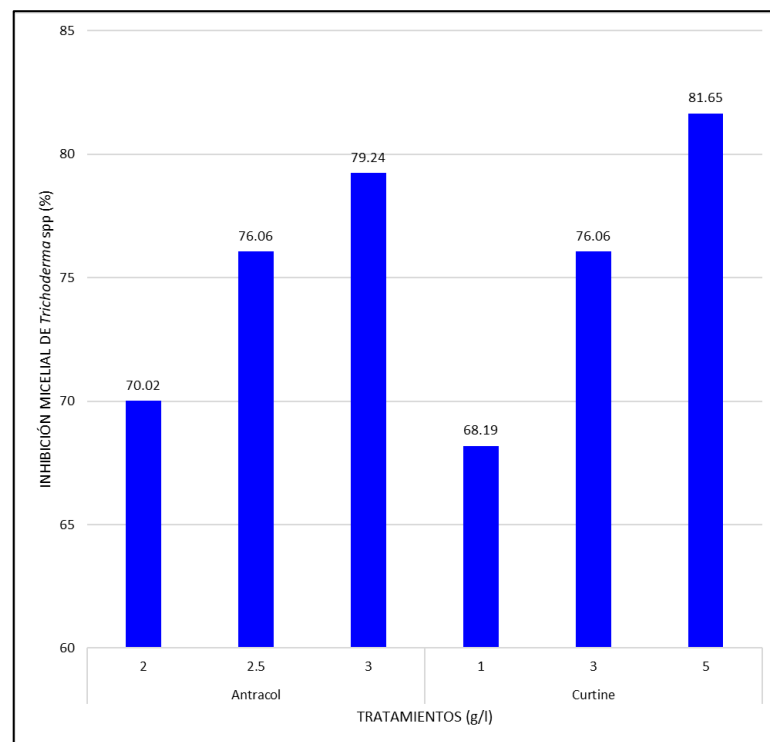


Figura 9. Porcentajes de inhibición micelial según las concentraciones con 2 fungicidas y sus controles en PDA, aislados de suelos del centro poblado Accocollo.

En la Tabla 7, se registra los porcentajes de inhibición del crecimiento de las colonias de *Trichoderma* sp., donde se observa que a mayor concentración de ambos fungicidas se incrementa la inhibición del crecimiento miceliar. Con Antracol los

promedios de inhibición oscilaron entre 70.02% a 2g/l de concentración y 79.24% a 3 g/l de concentración. Mientras que frente a Curtine–V los promedios de inhibición variaron entre 68.19% a 1 g/l de concentración y 81.65% a 5 g/l de concentración. Los coeficientes de variabilidad oscilaron ente 3.27% y 5.70%, indicando que los datos presentaron una baja dispersión con respecto a sus promedios (Figura 9).

Tabla 8. Crecimiento diario (cm) del diámetro de colonias de *Trichoderma* sp. aislados del centro poblado Milliraya frente a 3 concentraciones del fungicida Antracol (promedio de tres repeticiones).

DÍAS DE EVALUACIÓN	ANTRACOL(g/L)			
	0	2	2.5	3
1	0.10	0.00	0.00	0.00
2	0.20	0.00	0.00	0.00
3	0.20	0.00	0.00	0.00
4	0.60	0.01	0.00	0.00
5	1.90	0.10	0.03	0.05
6	4.60	1.30	0.40	0.60
7	6.60	2.70	1.30	1.10
8	8.00	3.80	2.30	1.70
9	8.00	4.50	3.00	2.00
10	8.00	5.00	3.00	2.00

En la Tabla 8 se observa la evolución del crecimiento del diámetro micelial de *Trichoderma* sp. aislados del centro poblado Milliraya en medios de cultivo conteniendo diferentes concentraciones del fungicida Antracol y su tratamiento control durante 10 días de observación. En el tratamiento control el crecimiento de las colonias variaron entre 0.20 cm al tercer día hasta 8 cm al décimo día; a concentración de 2 g/l del fungicida los valores oscilaron entre 0.01 cm al cuarto día llegando a 5 cm al décimo día; a una concentración de 2.5 g/l del fungicida el crecimiento se observó al quinto día con 0.03 cm llegando a 3 cm al décimo día y a 3 g/l de fungicida, los valores fueron de 0.5 cm al

quinto día a 2 cm al décimo día (Figura 10). Como se observa a mayor concentración del fungicida los diámetros de cada colonia tienen a disminuir en el transcurrir del tiempo.

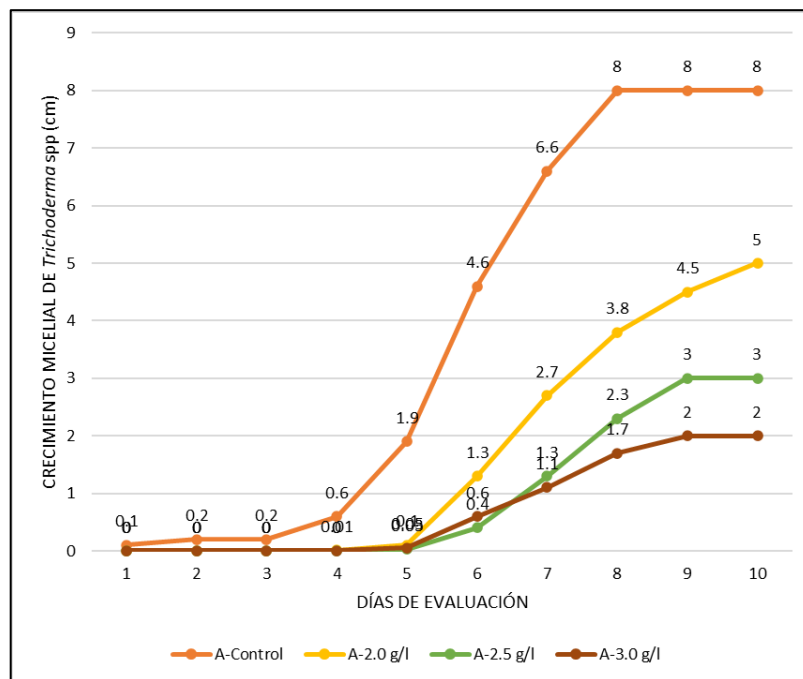


Figura 10. Diámetros de crecimiento de colonias de *Trichoderma* sp. aislados de suelos del centro poblado Milliraya en PDA con tres concentraciones del fungicida Antracol.

Al realizar el análisis de varianza, los diámetros de las colonias de *Trichoderma* sp. aislados del centro poblado Milliraya presentaron diferencia estadística significativa entre las concentraciones de Antracol y el tratamiento control sin fungicida ($F=12.06$; $gl=3$; $p<0.0001$), donde los mayores diámetros fueron obtenidos en el tratamiento control, a continuación las concentraciones de 2, 2.5 y 3 g/l de Antracol (entre éstos últimos no hubo diferencia estadística), tal como se muestra en el prueba de Tukey (Figura 11).

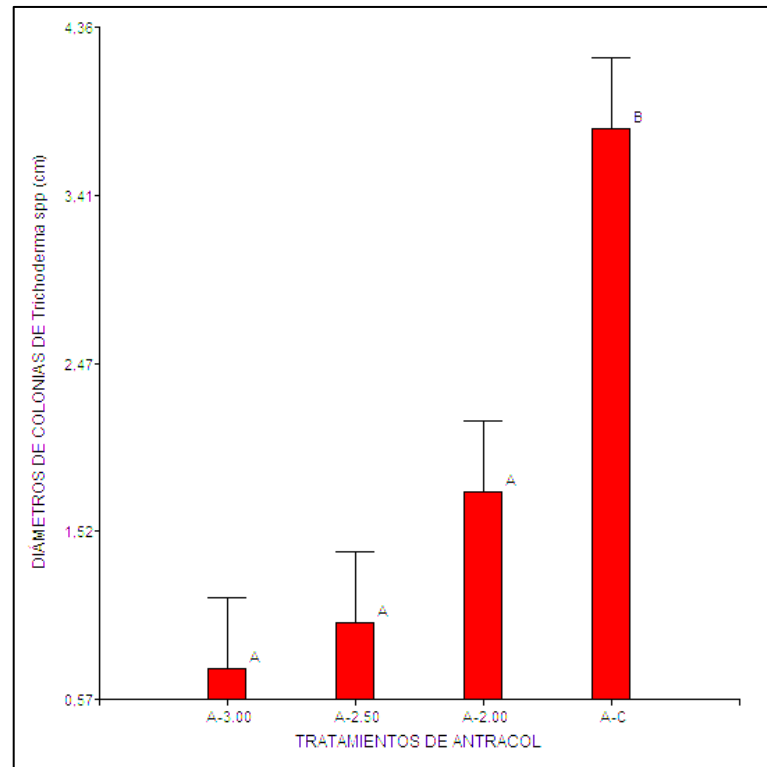


Figura 11. Prueba de Tukey de los diámetros de colonias de *Trichoderma* sp. frente a 4 tratamientos de Antracol aislados de suelos del centro poblado Milliraya.

En la Tabla 9 se observa la evolución del crecimiento del diámetro micelial de *Trichoderma* sp. aislado del centro poblado Milliraya en medios de cultivo conteniendo diferentes concentraciones del fungicida Curtine-V y su tratamiento control durante 10 días de observación. En el tratamiento control el crecimiento de colonias varió entre 0.30 cm al cuarto día, llegando a 8 cm al décimo día; a una concentración de 1 g/l del fungicida, los diámetros presentados fueron de 0.60 cm al quinto día y 5.50 cm al décimo día; a una concentración de 3 g/l del fungicida el crecimiento fue de 0.20 cm al cuarto día llegando a 4 cm al décimo día y en medios de cultivo con 5 g/l de fungicida, inició en 0.30 cm al quinto día hasta lograr 2.00 cm al décimo día (Figura 12). Como se observa a mayor concentración del fungicida los diámetros de cada colonia tienen a disminuir en el transcurrir del tiempo.

Tabla 9. Crecimiento diario (cm) del diámetro de colonias de *Trichoderma* sp. aislados del centro poblado Milliraya frente a 3 concentraciones del fungicida Curtine-V (promedio de tres repeticiones).

DÍAS DE EVALUACIÓN	CURTINE -V			
	CV-C	CV-1.00	CV-3.00	CV-5.00
1	0.10	0.00	0.00	0.00
2	0.20	0.00	0.00	0.00
3	0.20	0.00	0.00	0.00
4	0.30	0.00	0.20	0.00
5	1.10	0.60	0.90	0.30
6	3.90	3.10	1.70	0.90
7	6.30	4.40	2.70	1.50
8	7.60	5.20	2.70	1.80
9	8.00	5.50	4.00	2.00
10	8.00	5.50	4.00	2.00

Al realizar el análisis de varianza, los diámetros de las colonias de *Trichoderma* sp. aislados del centro poblado Milliraya presentaron diferencia estadística significativa entre las concentraciones de Curtine-V y el tratamiento control sin fungicida ($F=9.11$; $gl=3$; $p=0.0002$), donde los mayores diámetros fueron obtenidos en el tratamiento control, a continuación la concentración de 1 g/l del fungicida, seguido de la concentración 3 y finalmente la concentración 5 g/l, tal como se muestra en el prueba de Tukey (Figura 13).

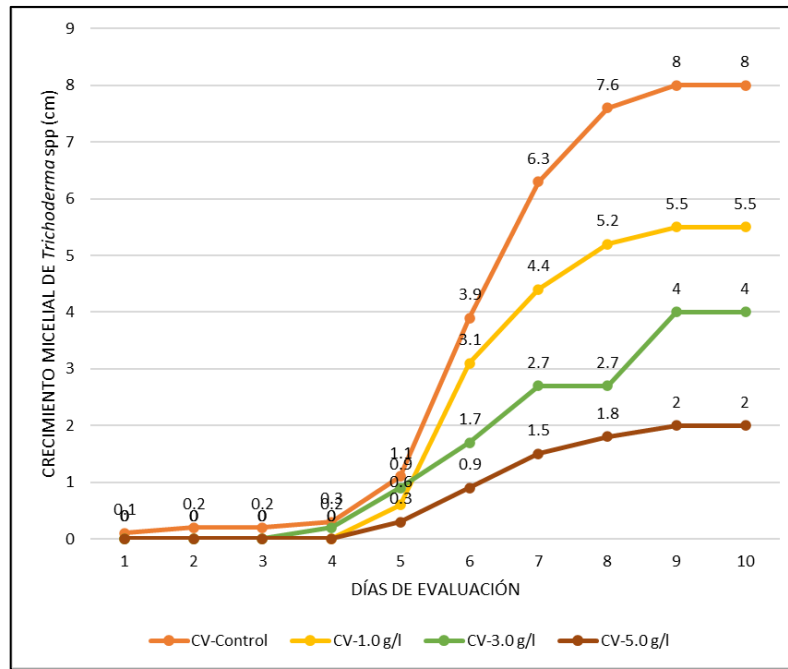


Figura 12. Diámetros de crecimiento de colonias de *Trichoderma* sp. aislados de suelos del centro poblado Milliraya en PDA con tres concentraciones del fungicida Curtine-V.

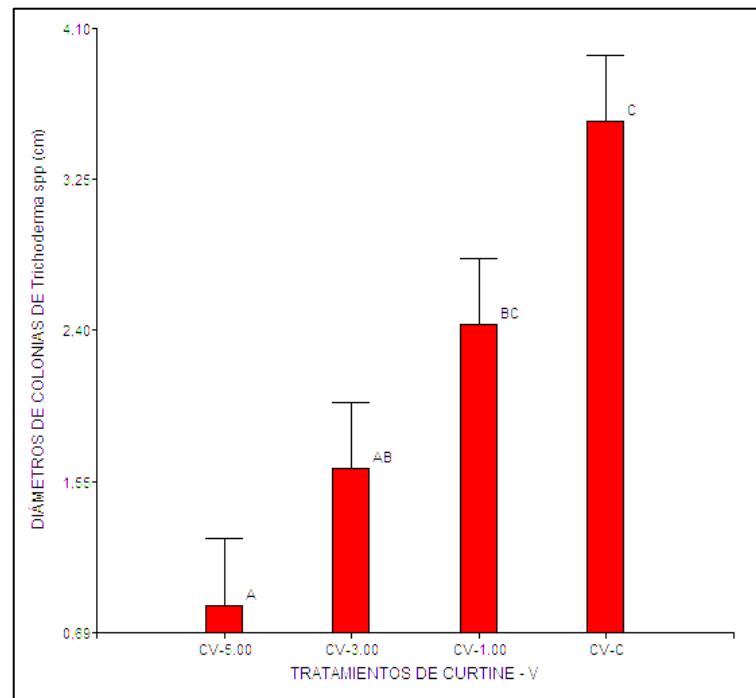


Figura 13. Prueba de Tukey de los diámetros de colonias de *Trichoderma* sp. frente a 4 tratamientos de Curtine-V aislados de suelos del centro poblado Milliraya.

Tabla 10. Inhibición del crecimiento miceliar (%) de colonias de *Trichoderma* sp. (mm) según tratamiento fungicida y control, con tres repeticiones en hongos aislados de suelos del centro poblado Milliraya.

Tratamientos	Concentración (g/l)	Inhibición de crecimiento micelial			Promedio	CV (%)
		1	2	3		
Antracol	2.00	47.06	42.67	41.77	43.83	6.46
	2.50	75.00	79.75	71.43	75.39	5.54
	3.00	92.59	89.47	88.89	90.32	2.20
Curtine-V	1.00	75.00	68.35	63.64	69.00	8.27
	3.00	81.25	82.28	76.62	80.05	3.76
	5.00	93.83	94.74	93.83	94.13	0.56
Control	Sólo PDA	--	--	--	--	--
	Sólo PDA	--	--	--	--	--
	Sólo PDA	--	--	--	--	--

Donde: CV (%) = coeficiente de variación en porcentaje.

En la Tabla 10, se registra los porcentajes de inhibición del crecimiento de las colonias de *Trichoderma* sp., donde se observa que a mayor concentración de ambos fungicidas se incrementa la inhibición del crecimiento miceliar. Con Antracol los promedios de inhibición oscilaron entre 43.83% a 2g/l de concentración y 90.32% a 3 g/l de concentración. Mientras que frente a Curtine-V los promedios de inhibición variaron entre 69.00% a 1 g/l de concentración y 94.13% a 5 g/l de concentración. Los coeficientes de variabilidad oscilaron ente 0.56% y 8.27%, indicando que los datos presentaron una baja dispersión con respecto a sus promedios.

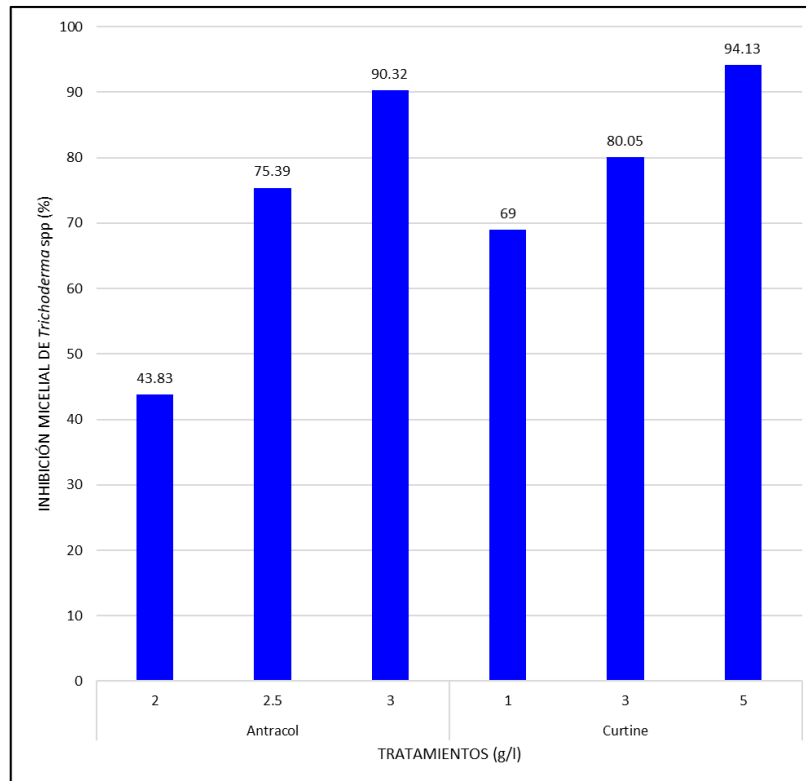


Figura 14. Porcentajes de inhibición micelial según los tratamientos con 2 fungicidas y sus controles, aislados de suelos del centro poblado Milliraya.

En la presente investigación, los fungicidas inhiben el crecimiento de los hongos filamentosos del género *Trichoderma* sp., estos resultados fueron similares a los obtenidos por Castellanos *et al.* (2015), quienes reportaron que los fungicidas Folpet, Mancozeb y Zineb, inhibieron a *Trichoderma harzianum*, por lo que son catalogados como tóxicos a diferencia de los insecticidas, indicando que se debería a que afectan la germinación de los conidios. Los fungicidas tendrían efecto sobre todos los hongos filamentosos benéficos, al respecto Corredor *et al.* (2007) mencionaron que los fungicidas Carboxin, Thiram, Fludioxonil, Ciprodinil y Prochloraz inhibieron completamente a los hongos endófitos *Botrytis cinerea*.

Se podría afirmar que a bajas concentraciones de 2 g/l de Antracol y 1 g/l de Curtine-V, las cepas de *Trichoderma* sp. resultaron con los mejores diámetros de colonias, lo cual concuerdan con los resultados obtenidos por Chan *et al.* (2014), al



reportar que *Paecilomyces* sp y *Aspergillus tamaritii*. En la investigación no se presentó una inhibición del 100% con ninguno de los fungicidas, resultados diferentes obtuvo Vásquez (2009) al reportar que los fungicidas Carbendazim y Metil-Thiophanato inhibieron el 100% del crecimiento de *Fusarium oxysporum*, por lo tanto, existirían organismos micóticos muy sensibles en los ecosistemas edafológicos. De igual modo Nieblas (2012) mencionó resultados similares a los obtenidos en la presente investigación, ya que a concentraciones de 5 y 10 mg/ml no reportó crecimiento de *Trichoderma* sp., pero *Lasiodiplodia theobromae* tuvo una inhibición del 53.6% y 57.3% a cada concentración respectivamente, será que la última especie citada es patógena de plantas y haya desarrollado mecanismos de defensa frente al fungicida.

Lo que se recomendaría ante la presencia de hongos patógenos de plantas, sería el uso de los fungicidas a bajas concentraciones, en razón de que en dichas condiciones los inóculos de *Trichoderma* sp. podrían llegar a biodegradar a los fungicidas, tal como lo cita Paredes (2017), quien a una concentración de 4,170.5 $\mu\text{g/g}$ de Carbofuran en 57 días llegó a ser degradado. Argomedo *et al.* (2015) también manifiestan de que los fungicidas impiden la germinación de las esporas como principal efecto sobre los hongos filamentosos.

En la investigación se obtuvo que *Trichoderma* sp. al incrementar la concentración del fungicida, originaba la inhibición de su crecimiento de la colonia, Sabogal (2015) obtuvo similares resultados con *Trichoderma asperellum*, donde al incrementar la concentración de Clorpirifos de 960 a 1,440 mg/l disminuye la germinación de sus esporas. En contraste el insecticida Clorantranilprole a concentraciones de 92 y 276 mg/l no tuvo efecto inhibitorio sobre la germinación y el crecimiento *T. asperellum* (Merino, 2018).



Los fungicidas evaluados (Antracol y Curtine-V) pertenecieron al grupo de los fungicidas protectantes y ambos inhibieron el crecimiento de *Trichoderma* sp., estos resultados fueron corroborados por Melgarejo (2011) quien manifiesta que éstos fungicidas afectan la germinación de las esporas micóticas llegando a ocasionar la muerte después de la germinación, entre otros mecanismos de acción se manifiestan que los fungicidas protectantes ejercen acción de inhibición del metabolismo energético debido a que incorpora oxígeno y libera CO₂ reduciendo la producción de ATP es decir pueden afectar el ciclo de Krebs alterando el metabolismo de la glucosa e impide la oxidación de ácidos grasos y aminoácidos.

Asimismo origina interferencia con la biosíntesis de proteínas afectando a nivel de los ribosomas inhibiendo el crecimiento micelial, alteran la síntesis de melanina impidiendo la formación de paredes apresoriales, la síntesis de ácido nucleicos, esteroides y lípidos de membranas; también interfiere la formación de estructuras celulares como la síntesis de pared celular, la división celular y la transducción de señales y la actividad multisitio afectando los radicales SH, aminos y carboxílicos de los componentes celulares de tal manera que se inactivan enzimas esenciales que afectan su normal funcionamiento de los hongos (Melgarejo, 2011).

En el tratamiento control se obtuvo un crecimiento micelial de *Trichoderma* sp. sobre toda la superficie del agar en la placa Petri, de igual manera Guerrero y Arias (2012) después de 10 días inoculación en PDA el moho *Trichoderma koningiopsis* y *T. stromaticum* cubrieron la totalidad del medio de cultivo en la placa Petri. Los fungicidas experimentados no lograron eliminar completamente al hongo, en ese sentido podríamos afirmar que poseería cierta tolerancia al fungicida, lo cual concuerda con lo manifestado por Papavizas (1985), quien indica que *Trichoderma* posee tolerancia a un amplio rango



de pesticidas y Harman *et al.* (2004) quienes afirman que la tolerancia es una característica innata de estos hongos.

En este estudio *Trichoderma* inició la aparición de micelio al tercer día, cuarto día y algunas veces al quinto día de evaluación, estos resultados fueron similares a los obtenidos por Guerrero y Arias (2012) quien encontró que *T. stromaticum* iniciaron su crecimiento a los tres días de inoculación, por lo que afirman que tendría cierta susceptibilidad a la Azoxistrobina. Esta depresión fue observada también por Neves *et al.* (2005) donde ciertos agroquímicos dificultan el crecimiento de *Trichoderma*, aduciendo que el cobre presente en los fungicidas inhibiría el crecimiento micelial.

Luego de evaluar el efecto de los dos fungicidas en el crecimiento *in vitro* de *Trichoderma* sp., se establece que los agroquímicos poseen efectos negativos frente a los microorganismos, algunos en mayor proporción y toxicidad que otros, razón por la cual se debería de aplicar en concentraciones bajas a los campos de cultivos para la protección no solo de *Trichoderma* sp. sino también de la gran biodiversidad bacteriana y micótica que vendrían siendo afectadas disminuyendo su población, entendiendo que los microorganismos son catalogados como biofertilizantes debido a su capacidad descomponedora.



V. CONCLUSIONES

- La carga micótica de *Trichoderma* sp. en suelos del distrito de Huancané fueron de 2.33×10^3 UFC/g a 6.33×10^3 UFC/g de suelo en el centro poblado de Milliraya y entre 2.33×10^3 UFC/g a 4.33×10^3 UFC/g de suelo en el centro poblado de Accocollo, presentando diferencia estadística de cargas micóticas siendo mayor en el centro poblado de Milliraya ($P=0.007$) y meses de muestreo con mayores recuentos en los meses de septiembre y octubre.
- Los fungicidas Antracol y Curtine-V inhibieron el crecimiento *in vitro* de *Trichoderma* sp. en condiciones de laboratorio, las concentraciones de 2, 2.5 y 3.0 g/l de Antracol y 1, 3 y 5 g/l de Curtine-V disminuyen el crecimiento del diámetro de las colonias del hongo al día 10 de evaluación con respecto a los tratamientos control, llegando a obtener inhibiciones del crecimiento micelial del 79.24% con Antracol y 81.65% con Curtine-V en aislamientos del centro poblado de Accocollo ($p<0.0001$) y 90.32% a 94.13% con Antracol y Curtine-V en aislamientos del centro poblado de Milliraya ($p=0.0002$), este último originó la mayor inhibición.



VI. RECOMENDACIONES

- A los tesisistas o investigadores realizar estudios de correlación de la carga micótica y bacteriana con los valores fisicoquímicos que presentan los suelos del distrito de Huancané y lograr una mejor interpretación de los resultados.
- A los tesisistas o investigadores realizar estudios de diversos fungicidas que se expenden en las tiendas de productos agroquímicos y determinar sus efectos en hongos *Trichoderma* sp., para recomendar su uso en los campos de cultivo, ya que generarían menor daño a los hongos benéficos existentes en los suelos de los campos de cultivo de la región Puno.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acurio, R., y España, C. (2017). Aislamiento, caracterización y evaluación de *Trichoderma* spp como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). Rev. La Granja. Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 25 (1): 53-61. DOI: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>.
- Adrianzen, R. (1996). Vademécum Agrario 95/96. Ingeniero Agrónomo. Edito Prensa. lima-Perú 768 p.
- Apablaza, G. (1997). Patología de Cultivos. Epidemiología y Control Holístico. Colección de Agricultura Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Edit. Universidad Católica de Chile. Santiago. Pág. 283-305.
- Ardón, C. (2007). La producción de los hongos comestibles. Universidad de San Carlos de Guatemala. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/07/07_1932.pdf
- Argomedo, A., Rodríguez S., Rodríguez C., Saldaña M., Santos W. y Krugg W. (2015). Efecto del fungicida Metalaxyl sobre la germinación, crecimiento y capacidad antagónica de *Trichoderma asperellum* en condiciones de laboratorio. Rev. Rebiolest. Vol. 3 (2): 37-42
- Azabache, J., Wilson, J., Ramos, L. y Flores, J. (2013). Efecto de la metribuzina sobre el crecimiento *in vitro* de *Trichoderma harzianum*. Rev. Sciendo. Vol. 16 (1): 52-60.
- BAYER, S.A. (2021). Hoja de datos de seguridad del ANTRACOL 70 WP Versión 6 / MEX. Guatemala. <file:///C:/Users/Propietario/Downloads/ANTRACOL-Hoja-de-seguridad.PDF>
- BAYER. (2000). Cropscience. Antracol. An old warhorse that's still going strong. Courier Agrochem. Vol. 2: 15-7.
- Barnett H. L. (1998), Illustrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing Company. California. 218p
- Beebe, S. (1983). Pudriciones radicales del frijol y su control. CIAT. Cali, Colombia. 52 pp.
- Blanco, F., Fabio A. y Salas, R. (1997). Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en costa Rica. Agronomía Costarricense. Vol. 21(1): 55-67.



- Blaszczyk, L., Siwulski, M., Sobieralski, K., Lisiecka, J. y Jędrzycka, M. (2014). *Trichoderma* spp. application and prospects for use in organic farming and industry. *Journal of Plant Protection Research*. Vol. 54(4): 310-317.
- Camargo, S., Montaña, M., De la Rosa, C. y Montaña, S. (2012). Micorrizas: una gran unión debajo del suelo. *Revista Digital Universitaria*. Vol. 13(7): 4. <http://www.revista.unam.mx/vol.13/num7/art72/>
- Campuzano, S., Urquijo, L. y Valderrama, J. (2017). Evaluación de la actividad celulolítica y quitinolítica de hongos filamentosos aislados de rizósfera de cultivos de papa para control de *Rhizoctonia solani*. Bogotá. *Nova*. Vol.15 (28): 45-55.
- Carreño, C. y Hurtado, A. (2017). Manual de prácticas de microbiología ambiental. Universidad Católica Sedes Sapientiae. Fondo Editorial UCSS. Lima – Perú. 70 p. file:///C:/Users/HUAWEI/Downloads/Carre%C3%B1o_Hurtado_libro_2017.pdf.
- Casañola, G., Marrero, Y., Le, H., Khan, M., Torrens, F., Rescigno, A. y Abad, C. (2019). La enzima tirosinasa: 2. Inhibidores de origen natural y sintético. *AFINIDAD*. Vol. 70 (564).
- Castellanos, L., Lorenzo, M., Lina, B., Hernández, R. y Guillen, D. (2015). Efecto *in vitro* de plaguicidas comerciales sobre *Trichoderma harzianum* cepa A-34. *Rev. FAC UNCUYO*. Vol. 47 (2): 185-196.
- Chan, W., Heredia, G., Rodríguez, R. y Arias, R. (2014). Toxicidad *in vitro* de los herbicidas Atrazina y Paraquat sobre el crecimiento vegetativo y la esporulación de hongos saprobios del suelo. *Rev. Int. Contam. Ambie*. Vol. 30 (4): 393- 406.
- Companioni, B., Domínguez, G. y García, R. (2019). *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Bioteología Vegetal*. Vol. 19(4): 237-248.
- Córdoba, D. (2001). *Toxicología*. 4^a ed. Bogotá: Editorial Manual Moderno.
- Corredor, I., Caridad, M. y Restrepo, S. (2007). Evaluación de la susceptibilidad de hongos endófitos aislados de rosa (*Rosa hybrida*) a fungicidas comerciales. *Rev. Colombiana de Biotecnología*. Vol 9 (1): 59-74.
- Cuenca, G. (2007). Las micorrizas arbusculares como una alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia*. Vol. 32(1): 23-29.
- Cupull, S., Andréu, C., Pérez, N., Delgado, P. y Cupull, C. (2003). Efecto de *Trichoderma viride* como estimulante de la germinación, en el desarrollo de posturas de cafetos y el control de *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Centro Agrícola*, año 30, no. 1.
- FAO. (2000). El código Internacional de la FAO sobre la Distribución y Utilización de Pesticidas.



- FRAC. (2019). Clasificación de fungicidas y bactericidas según el modo de acción. Primera edición. España.
<https://www.syngenta.es/sites/g/files/zhg516/f/2019/04/clasificacion-fungicidas-bactericidas-segun-modo-accion.pdf>
- Gams, W. y Bissett, J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma*. Harman GE, Kubicek CP (eds) *Trichoderma and Gliocladium*. London: Taylor and Francis.
- Gao, J., Wang, Q., Sun, J., He, A. y Chen, J. (2018). Biological role of the superoxide dismutase TaSOD on vegetative growth, stress response, and antagonism in *Trichoderma asperellum*. *Australasian Plant Pathology*. Vol. 47 (6): 623-627. DOI: [10.1007/s13313-018-0605-5](https://doi.org/10.1007/s13313-018-0605-5).
- García, H., Martínez, Á., Hermosa, M., Monte, E., Aguilar, C., y González, C. (2017). Caracterización morfológica y molecular de cepas nativas de *Trichoderma* y su potencial de biocontrol sobre *Phytophthora infestans*. *Revista Mexicana De Fitopatología, Mexican Journal Of Phytopathology*. Vol. 35 (1). DOI: [10.18781/r.mex.fit.16054](https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.16054).
- Guerrero, R. y Arias, D. (2012). Evaluación del efecto de fungicidas sobre el desarrollo de dos especies de *Trichoderma* (Fungi Ascomycota : Hypocreaceae) utilizadas en el biocontrol de hongos patógenos de cacao. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*. Vol. 1 (1): 11-17.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5240746>.
- Harman, G., Howell, C., Viterbo, A., Chet, I. y Lorito M. (2004). *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*. Vol. 2: 43-56.
- Hasegawa, R., Cabral, R., Hoshiya, T., Hakoi, K., Ogiso, T., Boonyaphiphat, P., *et al.* (1993). Carcinogenic potential of some pesticides in a medium-term multi-organ bioassay in rats. *Int J Cancer*. Vol. 54: 489-93.
- Infante, D., Martínez, B., González, N. y Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de protección vegetal*. Vol. 24(1): 14-21. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002
- Jampilek, J. y Král'ová, K. (2017). Nanopesticides: preparation, targeting, and controlled release. In *New Pesticides and Soil Sensors* (pp. 81-127). Academic Press. DOI: [10.1016/B978-0-12-804299-1.00004-7](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804299-1.00004-7).



- Jiménez, M., Arcia, A., Ramis, C. y Yreny, F. (2013). Evaluación de *Trichoderma harzianum* Rifai como inductor de resistencia a la pudrición blanca *Sclerotium rolfsii*. Sacc de la caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo condiciones controladas. Rev. J Selva Andina Res Soc. Vol. 4 (1): 31-41.
- Kazos E., Stalikas, C., Nanos, C. y Konidari, C. (2007). Determination of dithiocarbamate fungicide propineb and its main metabolite propylenethiourea in airborne samples. Chemosphere. Vol. 68: 2104-10.
- Kubicek, C. y Harman, G. (1998). *Trichoderma* and *Gliocladium* Basic biology, taxonomy and genetics vol. 1, Laylor y Francis Ltd., London, UK ISBN 0-7484-0572-0.
- Larsson, K., Arnander, C., Cekanova, E. y Kjellberg, M. (1976). Studies of teratogenic effects of the dithiocarbamates Maneb, Mancozeb, and Propineb. Teratol. Vol. 14: 171-83.
- Latorre, G. (1988). Enfermedades de las plantas cultivadas. Ed. Universidad Católica de Chile. Santiago de Chile. Pág. 303.
- Martínez, B., Infante, D. y Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. and their role in the control of crop pests. Protección Vegetal, 28(1), 1-11.
- Meléndez, N. (2012). Efecto in vitro de Imidacloprid y Acetamiprid sobre la germinación y el crecimiento de *Trichoderma viride* FP-UNT 01 nativa. Tesis de Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 68 p.
- Melgarejo, J. (2011). Mecanismos de acción de los fungicidas. Revista Ventana al Campo. Capítulo 11. 193-202.
https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/19031/64405_64953.pdf.
- Merino, M. (2018). Efecto del insecticida clorantraniliprole sobre el crecimiento, la esporulación, la germinación y capacidad antagónica de *Trichoderma asperellum* en condiciones de laboratorio. Tesis de Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 61 p.
- Nieblas, N. (2012). Evaluación del potencial de *Trichoderma sp.* y *Glomus intraradices* para controlar a *Lasiodiplodia theobromae*, uno de los agentes causales de la muerte regresiva por Botriosferia en vid (*Vitis vinifera* L.). Tesis de Maestría en Ciencias, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. México. 128 p.



- Papavizas, G. (1985). *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology, and potential for biocontrol. Annu. Rev. Phytopathol. Vol. 23: 23-24.
- Paredes, M. (2017), Evaluación de la biodegradación de un insecticida carbamato en muestra de suelo de cultivo de papa. Tesis de Ing. en Biotecnología de los Recursos Naturales, Universidad Politécnica Salesiana. Quito-Ecuador. 110 p.
- Reinoso, C., Schuller, C., Schuetzer, M. y Kuchler, K. (2003). The yeast protein kinase C cell integrity pathway mediates tolerance to the antifungal drug caspofungin through activation of Slr2p mitogen-activated protein kinase signaling. Eukaryot Cell. Vol. 2: 1200-1210.
- Reyes, Y., Infante, D., Borrego, J., del Pozo, E., Cruz, A. y Martínez, B. (2012). Compatibilidad de *Trichoderma asperellum* Samuels con herbicidas de mayor uso en el cultivo de arroz. Rev. Protección Veg. Vol. 27 (1): 45-53
- Ríos, A. (2018). Determinación de los efectos de seis plaguicidas de amplio espectro sobre cuatro microorganismos benéficos con potencial para la recuperación de suelos agrícolas a nivel de laboratorio. Tesis de Ciencias Químicas. Facultad de Ciencias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador. 101 p.
- Romani, L. (2004). Immunity to fungal infections. Nat Rev Immunol. Vol. 4: 1-23.
- Sabogal, A. (2015). Efecto del insecticida Clorpirifos sobre la germinación, el crecimiento y la capacidad antagónica de tres especies de *Trichoderma* en condiciones de laboratorio. Tesis de Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 80 p.
- Sáenz, D. y Simbaqueba, A. (1996). Evaluación del efecto genotóxico (variantes fenotípicas) del fungicida Antracol WP 70 en cepas silvestres de *Drosophila melanogaster*. Escuela de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia.
- Salvatierra, W. (2015). Efecto del fungicida Fitoklin sobre la germinación y el crecimiento de *Trichoderma viride* en condiciones de laboratorio. Tesis de Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 51 p.
- Samuels, G., Chaverri P., Farr D. y McCray E.. (1996). *Trichoderma* Online: Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. (A. U. Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, Productor). *Trichoderma* Online: Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. <http://taxadescriptions/keys/Trichoderma Index.cfm>.



- Schmuck, G., Ahr, H., Mihail, F., Stahl, B. y Kayser, M. (2002). Effects of the dithiocarbamate fungicide Propineb in primary neuronal cell cultures and skeletal muscle cells of the rat. *Arch Toxicol.* Vol. 76: 414-22.
- SILVESTRE PERÚ S.A.C (2010). Hoja de seguridad CURTINE-V. Perú. <https://docplayer.es/97142844-Curtine-v-cymoxanil-mancozeb.html>
- SILVESTRE PERÚ S.A.C (2019). Ficha técnica CURTINE-V. Perú. <https://silvestre.com.pe/wp-content/uploads/FT-CURTINEV.pdf>
- Téllez, J., Rodríguez, M., López, M., Montes, R. y Sepúlveda, G. (2017). *Trichoderma asperellum* ameliorates phytotoxic effects of copper in onion (*Allium cepa* L.). *Environmental And Experimental Botany.* Vol. 136: 85 – 93. [DOI: 10.1016/j.envexpbot.2017.01.009](https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.01.009).
- Tello, G. (2015). Efecto del insecticida Fipronil sobre la germinación, el crecimiento y patogenicidad de *Trichoderma* sp. nativo en condiciones de laboratorio. Tesis de Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Perú. 64 p.
- Ulacio, D., Salas, J., Querales, P. y Sanabria, M. (2002). Microbiota del suelo de zonas productoras de papa del Estado Mérida *Y Su Relación con Rhizoctonia solani*. *Bioagro.* Vol. 14(1):11-6.
- Vásquez, J. (2009). Evaluación de la eficacia *in vitro* de sustancias químicas y microorganismos antagonicos del género *Trichoderma spp.*, como herramienta para la toma de decisiones en el control de enfermedades caso muerte descendiente del cultivo de piña *Ananas comosus* (L) Merr. Tesis de Ingeniería Agronómica, Instituto Tecnológico de Costa Rica. 87 p.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti M., Marra R., Woo S. y Lorito M. (2008). *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology & Biochemistry.* Vol. 40: 1-10.
- Windham, M., Elod, Y. y Baker, R. (1986). Mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology.* Vol. 76:518-521.
- Woo, S., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro, M., Marra, R., *et al.* (2014). *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *The Open Mycology J.* Vol. 8(1):71–126.
- Yaldiz, M., Akdeniz, S., Bilgin, U., Deveci, E., Akkus, M., Kilinc, M. y Deveci, S. (2000). Teratogenic effects of Propineb on rat skin. *Clin Exp Obstet Gynecol.* Vol. 27: 235-7.



- Yaringaño, C. (1985). Control Químico de Ojo de Sapo del Tabaco Negro en Almaciguera y Campo Definitivo. Boletín Técnico E.E.A. El porvenir San Martín – Perú. Pág. 23.
- Yedida, I., Shores. M., Kerem, Z., Benhamou, N., Kapulnik, Y. y Chet, I. (2003). Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. lachrymans in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of Phytoalexins. Applied and Environmental Microbiology 69: 7343-7353.
- Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., y Mukherjee, P. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma* – Chemistry meets genomics. Fungal Biology Reviews. Vol. 30(2): 74–90.

ANEXOS

Tabla 11. Diámetros de colonia de *Trichoderma* sp (cm) según tratamiento fungicida y control, con tres repeticiones en hongos aislados de suelos del centro poblado Milliraya.

Tratamientos	Concentración	Repeticiones		
		1	2	3
Antracol	2.00	4.50	4.30	4.60
	2.50	2.00	1.60	2.20
	3.00	0.60	0.80	0.90
Curtine-V	1.00	2.00	2.50	2.80
	3.00	1.50	1.40	1.80
	5.00	0.50	0.40	0.50
Control	Sólo PDA	8.5	7.5	7.9
	Sólo PDA	8.0	7.9	7.7
	Sólo PDA	8.1	7.6	8.1

Tabla 12. Diámetros de colonia de *Trichoderma* sp. (cm) según tratamiento fungicida y control, con tres repeticiones en hongos aislados de suelos del centro poblado Occocollo.

Tratamientos	Concentración	Repeticiones		
		1	2	3
Antracol	2.00	2.50	2.30	2.60
	2.50	2.00	1.60	2.20
	3.00	1.40	1.70	2.10
Curtine-V	1.00	2.30	2.80	2.60
	3.00	1.90	1.70	2.20
	5.00	1.70	1.30	1.60
Control	Sólo PDA	8.10	8.40	8.20
	Sólo PDA	7.90	8.00	8.30
	Sólo PDA	8.40	8.50	8.20

Tabla 13. Análisis de varianza y prueba de Tukey de la carga micótica de *Trichoderma* sp. en 2 centros poblados del distrito de Huancané.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
UFC/g	18	0,79	0,74	20,25

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	35,50	3	11,83	17,54	0,0001
Centros Pob	6,72	1	6,72	9,96	0,0070
MESES	28,78	2	14,39	21,33	0,0001
Error	9,44	14	0,67		
Total	44,94	17			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,83043

Error: 0,6746 gl: 14

Centros Pob	Medias	n	E.E.	
Accocollo	3,44	9	0,27	A
Milliraya	4,67	9	0,27	B

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,24112

Error: 0,6746 gl: 14

MESES	Medias	n	E.E.	
Agosto	2,33	6	0,34	A
Septiembre	4,50	6	0,34	B
Octubre	5,33	6	0,34	B

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

Tabla 14. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los diámetros de colonias de *Trichoderma* sp. frente a 4 tratamientos de Antracol aislados de suelos del centro poblado Accocollo.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIÁM COL	40	0,93	0,90	25,39

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	297,78	12	24,82	29,55	<0,0001
TRAT	191,43	3	63,81	75,99	<0,0001
DÍAS	106,35	9	11,82	14,07	<0,0001
Error	22,67	27	0,84		
Total	320,45	39			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,12146

Error: 0,8397 gl: 27

TRAT	Medias	n	E.E.	
A-3.00	1,28	10	0,29	A
A-2.50	1,97	10	0,29	A
A-2.00	4,34	10	0,29	B
A-C	6,85	10	0,29	C

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,22877

Error: 0,8397 gl: 27

DÍAS	Medias	n	E.E.			
Día_1	0,33	4	0,46	A		
Día_2	1,33	4	0,46	A	B	
Día_3	2,48	4	0,46	A	B	C
Día_4	3,23	4	0,46	B	C	D



Día_5	4,08	4	0,46	C	D
Día_6	4,60	4	0,46	C	D
Día_7	4,92	4	0,46		D
Día_8	5,05	4	0,46		D
Día_10	5,05	4	0,46		D
Día_9	5,05	4	0,46		D

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

Tabla 15. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los diámetros de colonias de *Trichoderma* sp. frente a 4 tratamientos de Curtine-V aislados de suelos del centro poblado Accocollo.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIÁM COL CV	40	0,92	0,89	31,11

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	281,38	12	23,45	26,47	<0,0001
TRAT_CV1	209,17	3	69,72	78,71	<0,0001
DÍAS_CV	72,21	9	8,02	9,06	<0,0001
Error	23,92	27	0,89		
Total	305,30	39			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,15184

Error: 0,8858 gl: 27

TRAT CV1	Medias	n	E.E.	
CV-5.00	0,63	10	0,30	A
CV-3.00	2,00	10	0,30	B
CV-1.00	2,70	10	0,30	B
CV-C	6,77	10	0,30	C

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,28915

Error: 0,8858 gl: 27

DÍAS CV	Medias	n	E.E.			
Día_1	0,28	4	0,47	A		
Día_2	1,13	4	0,47	A	B	
Día_3	2,00	4	0,47	A	B	C
Día_4	2,93	4	0,47		B	C
Día_5	3,55	4	0,47			C
Día_6	3,93	4	0,47			C
Día_7	4,08	4	0,47			C
Día_9	4,13	4	0,47			C
Día_8	4,13	4	0,47			C
Día_10	4,13	4	0,47			C

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

Tabla 16. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los diámetros de colonias de *Trichoderma* sp. frente a 4 tratamientos de Antracol aislados de suelos del centro poblado Milliraya.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIÁM COL A	40	0,82	0,74	69,05

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	191,93	12	15,99	10,13	<0,0001
TRAT	57,10	3	19,03	12,06	<0,0001



DÍAS	134,82	9	14,98	9,49	<0,0001
Error	42,63	27	1,58		
Total	234,55	39			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,53777

Error: 1,5788 gl: 27

TRAT	Medias	n	E.E.	
A-3.00	0,75	10	0,40	A
A-2.50	1,00	10	0,40	A
A-2.00	1,74	10	0,40	A
A-C	3,79	10	0,40	B

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=3,05614

Error: 1,5788 gl: 27

DÍAS	Medias	n	E.E.	
Día_2	0,00	4	0,63	A
Día_1	0,00	4	0,63	A
Día_3	0,05	4	0,63	A
Día_4	0,15	4	0,63	A
Día_5	0,52	4	0,63	A
Día_6	1,73	4	0,63	A B
Día_7	2,93	4	0,63	A B
Día_8	3,95	4	0,63	B
Día_9	4,38	4	0,63	B
Día_10	4,50	4	0,63	B

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

Tabla 17. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los diámetros de colonias de *Trichoderma* sp. frente a 4 tratamientos de Curtine-V aislados de suelos del centro poblado Milliraya.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
DIAM COL CV	40	0,84	0,77	56,88

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	207,60	12	17,30	12,07	<0,0001
TRAT	39,18	3	13,06	9,11	0,0002
DÍAS	168,41	9	18,71	13,05	<0,0001
Error	38,70	27	1,43		
Total	246,30	39			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,46527

Error: 1,4335 gl: 27

TRAT	Medias	n	E.E.	
CV-5.00	0,85	10	0,38	A
CV-3.00	1,62	10	0,38	A B
CV-1.00	2,43	10	0,38	B C
A-C	3,52	10	0,38	C

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

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,91206

Error: 1,4335 gl: 27

DÍAS	Medias	n	E.E.	
Día_2	0,00	4	0,60	A
Día_3	0,00	4	0,60	A
Día_1	0,00	4	0,60	A
Día_4	0,13	4	0,60	A



Día_5	0,72	4	0,60	A	
Día_6	2,40	4	0,60	A	B
Día_7	3,73	4	0,60		B
Día_8	4,33	4	0,60		B
Día_10	4,88	4	0,60		B
Día_9	4,88	4	0,60		B

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



Figura 15. Preparación de Agar Dextrosa Papa.



Figura 16. Muestras de suelo en agua estéril.



Figura 17. Plaqueo de Agar Sabouraud y Agar Dextrosa Papa.

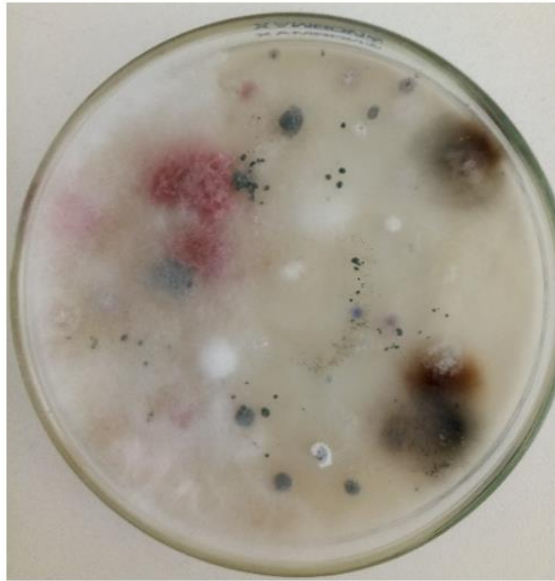


Figura 18. Aislamiento de hongos filamentosos a partir de suelos de campos de cultivo de la provincia de Huancané.

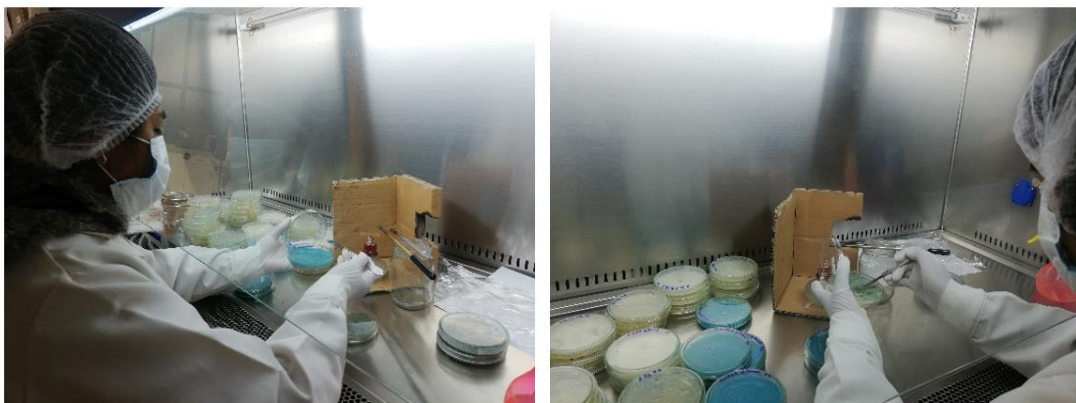


Figura 19. Colocación de un disco de *Trichoderma* sp. aislado de un diámetro de 5 mm en las placas de PDA preparadas con los fungicidas en tres concentraciones.

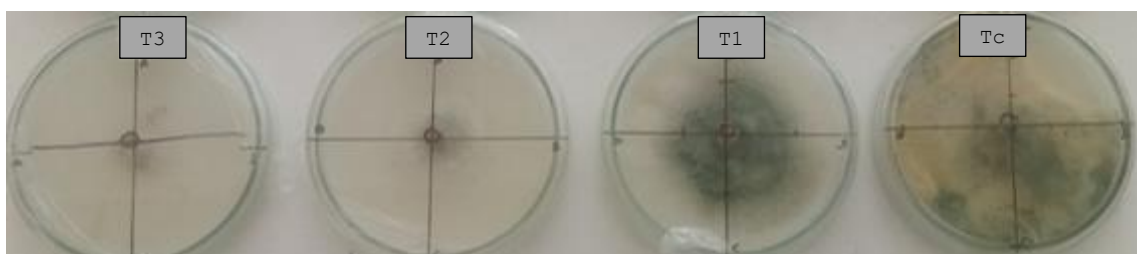


Figura 20. Crecimiento de *Trichoderma* sp. Según concentraciones del fungicida Antracol. Donde Tc= tratamiento control; T1=2g/l; T2=2.5g/l; T3=3g/l.

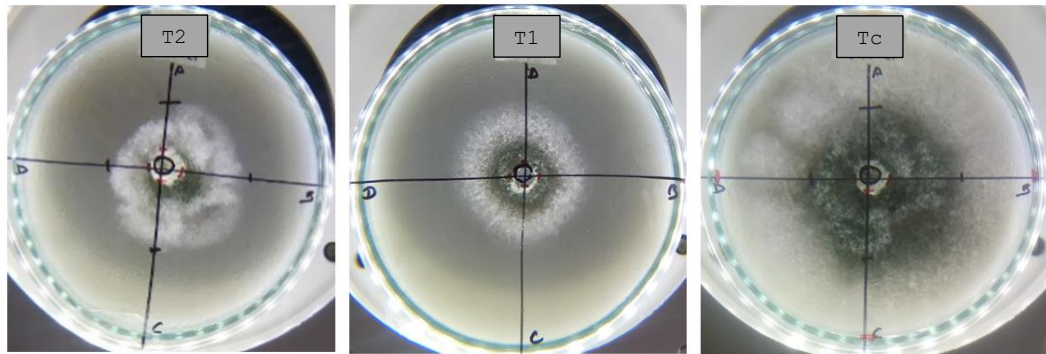


Figura 21. Crecimiento de *Trichoderma* sp. según concentraciones del fungicida Curtine -V. Donde Tc=tratamiento control; T1=1 g/l; T2=3 g/l.

Conidióforos hialinos, muy ramificados, no verticilados; fiálides solos o en grupos; conidias (fialosporas) hialinas; 1-células, ovoides, nacidas en pequeños racimos terminales; generalmente se reconoce fácilmente por su rápido crecimiento y parches verdes o cojines de conidios; saprofito en suelo o sobre madera, muy común, algunas especies reportadas como parásitos de otros hongos.	
1b Ausencia de esporangios y esporangióforos	4
4b Conidios no formados en peritecis ni en picnidios	6
6a Ontogenia basípeta. Conidios en agrupaciones o en cadena	7
7b Conidios en agrupaciones	13
13b Fiálides en forma de botella, poli fiálides presentes o ausentes	15
15a Colonias verdes	<i>Trichoderma</i>

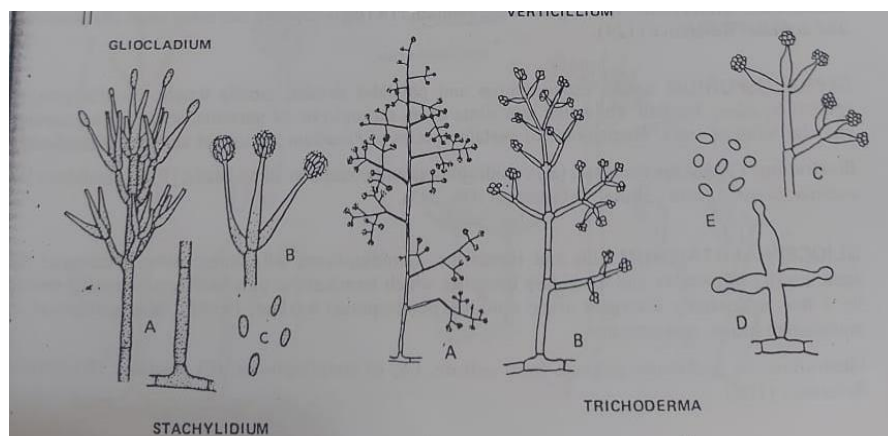


Figura 22. Claves dicotómicas para identificación de *Trichoderma* sp (Barnet y Hunter 1998).



Universidad Nacional del Altiplano
Facultad de Ciencias Biológicas

Ciudad Universitaria – Teléfono 35 6189 – Apartado Postal 291



CONSTANCIA Nº 34-2022-D-FCCBB-UNA

EL QUE SUSCRIBE, DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNA-PUNO.

HACE CONSTAR.-

Que, la Bachiller **CATTLEN LIZLIE HILASACA APAZA**, es egresada de la Escuela Profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, ha realizado su trabajo de investigación (Tesis) titulado **EVALUACION DEL EFECTO DE DOS FUNGICIDAS SOBRE EL CRECIMIENTO DE TRICHODERMA SP. AISLADO DE COMPOS DE CULTIVO DE PAPA DE LA PROVINCIA DE HUANCANÉ – PUNO**, en el Laboratorio de Microbiología Clínica, de la Escuela Profesional de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, los meses de agosto, setiembre, octubre y noviembre del 2021.

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesada, para los fines que estime por conveniente.

Puno, 12 de setiembre del 2022.



[Firma manuscrita]
DECANO **EDUARDO MORENO TERRAZAS**
DECANO

cc:
Archivo 2022
EGMT/aroq -

Constancia de laboratorio donde se ejecutó la tesis.



AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo Cattlen Lizpe Helasara Apaza
identificado con DNI 70424365 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

De Biología

, informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación para la obtención de Grado

Título Profesional denominado:

"Evaluación del efecto de dos fungicidas sobre el crecimiento de Trichoderma sp. aislado de campos de cultivo de papa de la provincia de Huacaní - Puno."

" Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los "Contenidos") que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 12 de Junio del 2023

Cattlen

FIRMA (obligatoria)



Huella



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Cattlen Lizlie Helasaca Apaza
identificado con DNI 70424365 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

De Biología
informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación para la obtención de Grado
 Título Profesional denominado:

"Evaluación del efecto de dos fungicidas sobre el crecimiento de
Trichoderma sp. aislado de campos de cultivo de papa de la provincia
de Huacané - Puno.
Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 12 de Junio del 2023

FIRMA (obligatoria)



Huella