



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**



**INFLUENCIA DE ESPECIES DE *Trichoderma* spp. EN EL  
CONTROL DE *Botrytis fabae* Y SU MEJORA EN EL  
RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE HABA (*Vicia faba* L.) EN EL  
DISTRITO DE CHUCUITO - PUNO**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. ELIZABETH MAMANI TOQUE**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**MENCION: FITOTECNIA**

**PUNO – PERÚ**

**2020**



## DEDICATORIA

*A Dios Padre celestial por su amor y Misericordia infinita.*

*A mis amados padres **Carlos Cirilo Mamani Mamani** y **Adelia Toque Peralta**, y a mi apreciado hermano **Franklin Mamani Toque (+)** por su constante sacrificio amor y comprensión, porque me indujeron al camino de la superación. También sin olvidarme de mis queridos abuelitos: **Fernando Toque C.**, **Juaquina Peralta Q. (+)** y **Viviana Mamani C.** que con su amor y apoyo me mantuvieron fuerte hasta el final.*

*A la **Ing. M. Sc. Dra. Betsabe León Ttacca**, por el apoyo incondicional, comprensión y fortalecimiento de mis debilidades que tuve para elaborar este trabajo.*

*Y con amor a **Hofner J. Condori Ch.**, quien a cada instante me apoyo con su paciencia y comprensión en este proceso de vida profesional. Y en especial a mi hermoso hijo **Qohelet Benjamin C. M.** por ser mi sonrisa y alegría de mi vida.*

*Con inmenso afecto a **mis tíos (as) y primos (as)** que han contribuido de forma directa e indirecta en mi formación. Y así mismo a **mis amigos(as) de ayer, hoy y siempre**, sin nombrarlos por temor a olvidarme de alguno de ellos.*

**Elizabeth Mamani Toque**



## AGRADECIMIENTOS

- Primeramente agradezco a **Dios** sobre todas las cosas, por la bendición de su inteligencia y sabiduría, gracias por ayudarme a culminar con este propósito.
- A la **Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Agrarias, Carrera de Ingeniería Agronómica**, por permitir mi formación profesional a través de sus planteles Docentes, Administrativos y Auxiliares de Docencia.
- Agradezco a la **Ing. M. Sc. Dra. Betsabe León Ttacca** por su colaboración permanente en asesorar a este trabajo en las correcciones del perfil y el documento final en el trabajo de tesis.
- A la **Ing. M. Sc. Rosario Ysabel Bravo Portocarrero** mi Directora gracias por el tiempo, dedicación y paciencia en la elaboración de este proyecto.
- Agradecer la paciencia y la orientación para aportar juiciosamente con las correcciones y observaciones muy acertadas, por los miembros del comité revisor de la presente tesis **Dr. Luis Alfredo Palao Iturregui, Lic. Biol. Alfredo Ludwig Loza del Carpio y el Ph. D. Israel Lima Medina**.
- A mis padres **Carlos y Adelia**; a mi amor **Hofner Josue**, y a todos mis familiares por el apoyo incondicional al presente trabajo de investigación.
- También un agradecimiento sincero y fraterno a todos mis amigos de estudio de la Facultad, quienes de una u otra forma colaboraron con ideas y consejos para la conclusión satisfactoria del presente trabajo, en especial a **Nora Ortiz Calcina, Marylia Cruz Calderon, E. Maritza Salazar Canaza, Vilk M. Checalla Mamani, Elizabeth Blanco Torres, Leslie D. Ramos Castillo, Giovana Mamani Huayhua** por brindarme su apoyo en el campo de la Agronomía.

*Gracias.*



## ÍNDICE GENERAL

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTOS**

**ÍNDICE GENERAL**

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**ÍNDICE DE TABLAS**

**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

**RESUMEN ..... 15**

**ABSTRACT..... 16**

### **CAPÍTULO I**

#### **INTRODUCCIÓN**

1.1. OBJETIVO GENERAL ..... 18

1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS..... 18

### **CAPÍTULO II**

#### **REVISIÓN DE LITERATURA**

2.1. ANTECEDENTES ..... 19

2.2. CULTIVO DE HABA..... 20

2.2.1. Importancia económica y distribución geográfica ..... 20

2.2.2. Origen y distribución del cultivo de haba ..... 21

2.2.3. Adaptación en el altiplano del cultivo de haba ..... 21

2.2.4. Ubicación taxonómica del cultivo de haba ..... 21

2.2.5. Valor nutritivo del cultivo de haba ..... 22

2.2.6. Variedades y cultivares del cultivo de haba..... 22

2.2.7. Morfología del cultivo de haba ..... 24

2.2.8. Fenología del cultivo de haba ..... 25

2.2.9. Condiciones ecológicas para el cultivo de haba ..... 31

2.3. ENFERMEDADES DEL CULTIVO DE HABA ..... 31

2.3.1. Mancha chocolate (*Botrytis fabae* S.)..... 31

2.3.2. Mancha concentrica (*Alternaria alternata*) ..... 35

2.3.3. Roya (*Uromyces fabae*) ..... 35

2.4. PLAGAS DEL CULTIVO DE HABA..... 36

2.4.1. Pulgones (*Aphis craccivora*, *Myzus* sp.) ..... 36

2.4.2. Gusano de tierra (*Agrotis* sp. y *Copitarsia* sp.)..... 36



2.4.3. Mosca minadora ( <i>Liriomyza</i> sp. y <i>Melanagromyza</i> sp.) .....	37
2.5. CONTROLADORES BIOLÓGICOS.....	37
2.5.1. <i>Trichoderma</i> spp. en el control biológico de enfermedades de plantas .....	38

### CAPÍTULO III

#### MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO.....	47
3.1.1. Ubicación geográfica .....	47
3.1.2. Ubicación política .....	48
3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL .....	48
3.2.1. Material genético vegetal.....	48
3.2.2. Material patógeno de <i>Botrytis fabae</i> Sard.....	48
3.2.3. Material genético biocontrolador.....	48
3.2.4. MATERIALES E INSUMOS.....	48
3.3. METODOLOGÍA.....	50
3.3.1. CAPACIDAD ANTAGÓNICA DE <i>Trichoderma</i> spp. HACIA <i>Botrytis fabae</i> EN CONDICIONES IN VITRO.....	50
3.3.2. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ESPECIES DE <i>Trichoderma</i> spp. Y MEJORA EN EL RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE HABA. ....	56
3.4. ANÁLISIS DE DATOS .....	67
3.4.1. MEDICIÓN DEL CRECIMIENTO MICELIAL Y ENFRENTAMIENTOS DUALES en In vitro .....	67
3.4.2. PARAMETROS EVALUADOS EN CAMPO.....	67
3.4.3. SEVERIDAD DE LA MANCHA CHOCOLATE .....	67
3.5. REGISTROS METEOROLÓGICOS DURANTE LA CAMPAÑA AGRÍCOLA .....	69
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	71

### CAPÍTULO IV

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CAPACIDAD ANTAGÓNICA DE ESPECIES DE <i>TRICHODERMA</i> SPP. HACIA <i>BOTRYTIS FABAE</i> IN VITRO. ....	73
4.1.1. Prueba de Antagonismo .....	73
4.2. EFECTO DE CONCENTRACIONES DE CONIDIOS (1x10 <sup>8</sup> , 1x10 <sup>7</sup> Y 1x10 <sup>6</sup> ) DE ESPECIES DE <i>TRICHODERMA</i> SPP. EN EL CONTROL DE LA	



MANCHA CHOCOLATE ( <i>BOTRYTIS FABAE</i> ) DEL CULTIVO DE HABA, EN EL DISTRITO DE CHUCUITO-PUNO. ....	80
4.2.1. Medición de la enfermedad (Severidad y Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC)).....	80
4.3. ....	87
4.3.1. Evaluación de características morfológicas de plantas de haba tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. en diferentes concentraciones. ....	87
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>98</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>99</b>
<b>VII. REFERENCIAS.....</b>	<b>100</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>107</b>

**ÁREA :** Ciencias Agrícolas

**TEMA:** Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades de cultivos andinos, tropicales,  
forestales y pasturas.

**FECHA DE SUSTENTACION:** 03 DE DICIEMBRE DEL 2020



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mancha chocolate ( <i>Botrytis fabae</i> ). Laboratorio de Sanidad Vegetal UNA-PUNO.....	32
<b>Figura 2.</b> Conidióforo de <i>Botrytis fabae</i> (Mirzaei et al., 2008). .....	33
<b>Figura 3.</b> Conidias de <i>Botrytis fabae</i> (Mirzaei et al., 2008) . .....	33
<b>Figura 4.</b> Ciclo de <i>Botrytis</i> spp. (Agrios, 2005).....	34
<b>Figura 5.</b> Mapa de ubicación del trabajo de investigación en el distrito de Chucuito...	47
<b>Figura 6.</b> Reaislamiento de <i>Botrytis fabae</i> de cultivos colonizados por cepas de <i>Trichoderma</i> . Laboratorio de Sanidad Vegetal UNA-PUNO.....	53
<b>Figura 7.</b> Prueba de antibiosis. <b>A)</b> Agitación a 110 rpm. <b>B)</b> Filtrado. <b>C)</b> Baño maría <b>D)</b> Baño maría de los metabolitos secundarios de los hongos antagónicos. <b>E)</b> Luego del Baño maría se transfirió de un tubo a otro tubo centrifuga y así plaquear. <b>F)</b> Plaqueado de los metabolitos secundarios con medio PSA. <b>G)</b> Siembra de <i>Botrytis fabae</i> . <b>H)</b> Sellado e incubados a temperatura a 25°C. ....	55
<b>Figura 8.</b> Capacidad antibiótica del <i>Trichoderma</i> spp. frente a <i>Botrytis fabae</i> . .....	55
<b>Figura 9.</b> Método de Evaluación. <b>A)</b> Comparación de la capacidad antibiótica entre las 3 especies <i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i> y <i>T. nativo 2</i> . <b>B)</b> Medición del crecimiento radial (cm) de <i>Botrytis fabae</i> en presencia de los controladores (Diámetro del disco = 0,5 cm).....	56
<b>Figura 10.</b> Reactivación de cepas <i>Trichoderma</i> spp. <b>A)</b> Plaqueo con PSA. <b>B)</b> <i>Trichoderma</i> comercial adquirida por la SENASA. <b>C)</b> Siembra de cepas de <i>Trichoderma</i> sp en medio PSA. <b>D)</b> Sellada la placa para luego incubarla a una T° de 25°C por 7 días. ....	58
<b>Figura 11.</b> Diagrama de proceso de producción de <i>Trichoderma</i> spp. (Sivila & Álvarez, 2013). .....	59
<b>Figura 12.</b> Producción de esporas de <i>Trichoderma</i> spp. en sustrato de cebada.....	59
<b>Figura 13.</b> Conteo de conidias de <i>Trichoderma</i> spp. <b>A)</b> Peso de arroz de 1g. <b>B)</b> Tubo de ensayo con agua destilada de 9ml para el lavado de arroz colonizado con <i>Trichoderma</i> spp. <b>C)</b> Dilución madre de <i>Trichoderma</i> spp. <b>D)</b> Suspensión de conidias de <i>Trichoderma</i> spp. <b>E)</b> Suspensión de <i>Trichoderma</i> spp. para realizar el conteo de conidias <b>F)</b> Suspensión de conidias de <i>Trichoderma</i> spp. en el hematómetro <b>G)</b> y <b>H)</b> Conteo de conidias (Ortiz, 2016). .....	61
<b>Figura 14.</b> Deshierbo y aporque del cultivo de haba –Chucuito.....	66
<b>Figura 15.</b> Cosecha y emparve del cultivo de haba-Chucuito. ....	66



<b>Figura 16.</b> Escala de crecimiento de severidad Herbas (2000) citado por Meneses (2000). .....	69
<b>Figura 17.</b> Promedio de precipitación (mm) y temperatura mensual (°C) del distrito de Chucuito.....	70
<b>Figura 18.</b> Colonización de hongos antagonicos en placas precolonizadas por <i>Botrytis fabae</i> , cepas <i>T. harzianum</i> , <i>T. viride</i> y <i>T. nativo</i> . Laboratorio de Sanidad Vegetal UNA-PUNO.....	73
<b>Figura 19.</b> Porcentaje de Micoparasitismo en 4 días de las especies de <i>Trichoderma</i> spp. hacia <i>Botrytis fabae</i> . .....	75
<b>Figura 20.</b> Porcentaje de Micoparasitismo en 7 días de las especies de <i>Trichoderma</i> spp. hacia <i>Botrytis fabae</i> . .....	76
<b>Figura 21.</b> Porcentaje de inhibición micelial de <i>Botrytis fabae</i> S. en presencia de metabolitos secundarios de cepas de hongos antagonicos.....	78
<b>Figura 22.</b> Curvas del progreso de la enfermedad de la mancha chocolate ( <i>Botrytis fabae</i> ) del haba ( <i>Vicia faba</i> ) tratadas con 3 cepas de <i>Trichoderma</i> spp. y diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito. ....	83
<b>Figura 23.</b> Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) de la mancha chocolate ( <i>Botrytis fabae</i> ) del cultivo de haba ( <i>Vicia faba</i> ) tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp con diferente concentraciones en el distrito de Chucuito.....	85
<b>Figura 24.</b> Altura de planta según a la interacción de <i>Trichoderma</i> *Dosis.....	92
<b>Figura 25.</b> Numero de granos según a la interacción de <i>Trichoderma</i> *Dosis.....	94
<b>Figura 26.</b> Rendimiento (Kg/Ha) según a la interacción de <i>Trichoderma</i> *Dosis. ....	96
<b>Figura 27.</b> Distribución de tratamientos, surcos, bloques según Diseño experimental de Bloque Completo al Azar en parcelas divididas con un arreglo factorial 3X4 con 3 repeticiones en el distrito de Chucuito de la provincia de Puno, durante la campaña agrícola 2017-2018. ....	107
<b>Figura 28.</b> Terreno del proyecto de investigación .....	124
<b>Figura 29. A.</b> Germinación del cultivo de haba <b>B.</b> Formación de hojas del cultivo de haba.....	124
<b>Figura 30. A.</b> Formación de flores <b>B.</b> Formación de vainas del cultivo de haba - Chucuito .....	125
<b>Figura 31.</b> Muestra de síntomas de la mancha chocolate ( <i>Botrytis fabae</i> ) en el campo experimental- chucuito. ....	125





**Figura 32.** Mochilas asperjadoras para la aplicación de *Trichodermas* spp. con diferentes concentraciones en el cultivo de haba en el distrito de Chucuito. .... 126

**Figura 33.** Aquí se observa **A.** Forma de dilución del sustrato de cebada con *Trichoderma* spp. en agua de pozo. **B.** Echar el agua diluida de *Trichoderma* spp. a la mochila asperjadora para así luego aplicar en el campo de investigación. .... 126

**Figura 34.** Prueba de Antibiosis. Tratamientos con cepas de *Trichoderma* spp. en la Agitadora por 7 días. Y obtener metabolitos solubles. Laboratorio de Sanidad Vegetal UNA-PUNO. Junio 2108. .... 127

**Figura 35.** Forma de zarandear los metabolitos solubles a un tubo centrifuga para luego plaquear. Laboratorio de Sanidad Vegetal UNA-PUNO. Junio 2018. .... 127

**Figura 36.** Plaqueo de los metabolitos solubles de *Trichodermas* spp para luego medir la inhibición micelial del hongo patógeno *B. fabae*. .... 127

**Figura 37.** Introducción del hongo patógeno *B. fabae* en forma de disco. .... 128

**Figura 38.** Resultados según la prueba de Antibiosis, durante los 7 días. Laboratorio de Sanidad Vegetal. Junio 2018. .... 128

**Figura 39.** Resultados según la prueba del Micoparasitismo a través del reaislamiento de *Botrytis fabae* de cultivos colonizados por cepas de *Trichoderma* spp. Laboratorio de Sanidad Vegetal. Junio 2018. .... 128



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Fenología del Haba .....	26
<b>Tabla 2.</b> Procedencia de cepas de <i>Trichoderma</i> spp. ....	48
<b>Tabla 3.</b> Cepas de <i>Trichoderma</i> spp para el control de <i>Botrytis fabae</i> . ....	52
<b>Tabla 4.</b> Descripción de los tratamientos en <i>In vitro</i> . ....	52
<b>Tabla 5.</b> Resultados del Análisis de suelo Inicial (I) de fertilidad de suelo del lugar de campo en el distrito de Chucuito. ....	62
<b>Tabla 6.</b> Resultados del Análisis de suelo Final (F) de fertilidad de suelo del lugar de campo en el distrito de Chucuito. ....	63
<b>Tabla 7.</b> Distribución de los tratamientos de <i>Trichoderma</i> spp. para el control de <i>Botrytis fabae</i> .....	65
<b>Tabla 8.</b> Número de evaluaciones de severidad del cultivo de haba ( <i>Vicia faba</i> ) Var. Blanca Gigante de Copacabana en el distrito de Chucuito. ....	68
<b>Tabla 9.</b> Tiempo y porcentaje de inhibición micelial de hongos antagonistas sobre el patógeno <i>Botrytis fabae</i> .....	74
<b>Tabla 10.</b> Prueba de Tukey $<0.05$ porcentaje de Micoparasitismo en 4 días de las especies de <i>Trichoderma</i> spp. hacia <i>Botrytis fabae</i> .. ....	75
<b>Tabla 11.</b> Prueba de Tukey (Pr $<0.05$ ) del porcentaje de inhibición micelial de <i>Botrytis fabae</i> en presencia de metabolitos inhibitorios de las especies <i>Trichoderma</i> spp.....	78
<b>Tabla 12.</b> Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) de la mancha chocolate ( <i>Botrytis fabae</i> ) del haba ( <i>Vicia faba</i> ) tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito.....	81
<b>Tabla 13.</b> Porcentaje de severidad y área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) de la mancha chocolate ( <i>Botrytis fabae</i> ) del cultivo de haba ( <i>Vicia faba</i> ) tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp con diferente concentraciones en el distrito de Chucuito.....	84
<b>Tabla 14.</b> Características morfológicas de plantas de haba ( <i>Vicia faba.</i> ) var. Blanca Gigante de Copacabana tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. en el distrito de Chucuito, durante la campaña agrícola 2017 – 2018. ....	90
<b>Tabla 15.</b> Prueba de Comparación de medias de Tukey para factor Interacción <i>Trichoderma</i> spp * Dosis con significancia estadística. ....	91
<b>Tabla 16.</b> Prueba de Comparación de medias de Tukey para factor Interacción <i>Trichoderma</i> spp * Dosis con significancia estadística .....	93



<b>Tabla 17.</b> Primera evaluación de la severidad (%) a los 90 dds de la mancha chocolate ( <i>Botrytis fabae</i> ) del cultivo de haba ( <i>Vicia faba</i> ) en hojas de plantas de haba tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito. .....	108
<b>Tabla 18.</b> Segunda evaluación de la severidad (%) a los 115 dds de la mancha chocolate ( <i>Botrytis fabae</i> ) del cultivo de haba ( <i>Vicia faba</i> ) en hojas de plantas de haba tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito. .....	111
<b>Tabla 19.</b> Tercera evaluación de la severidad (%) a los 135 dds de la mancha chocolate ( <i>Botrytis fabae</i> ) del cultivo de haba ( <i>Vicia faba</i> ) en hojas de plantas de haba tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito. .....	114
<b>Tabla 20.</b> Medición del crecimiento radial (cm) de <i>Botrytis fabae</i> en presencia de los controladores biológicos (Diámetro del disco = 0,5 cm). .....	118
<b>Tabla 21.</b> Evaluación de características morfológicas de plantas del cultivo de haba ( <i>Vicia faba</i> ) var. Blanca Gigante de Copacabana tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito de la provincia de Puno, durante la campaña agrícola 2017-2018. ....	119
<b>Tabla 22.</b> Precipitación total (mm) y Temperatura media mensual (°C). .....	120
<b>Tabla 23.</b> Análisis de varianza del porcentaje de micoparasitismo en 4 días. ....	121
<b>Tabla 24.</b> Análisis de varianza del porcentaje de micoparasitismo en 7 días. ....	121
<b>Tabla 25.</b> Análisis de varianza del porcentaje de inhibición micelial de <i>Botrytis fabae</i> en presencia de metabolitos inhibitorios de las especies <i>Trichoderma</i> spp. ....	121
<b>Tabla 26.</b> Análisis de varianza del Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) de la mancha chocolate ( <i>Botrytis fabae</i> ) del cultivo de haba ( <i>Vicia faba</i> ) a tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp en el distrito de Chucuito. ....	121
<b>Tabla 27.</b> Análisis de varianza de la altura de planta (cm) de haba ( <i>Vicia faba</i> ) tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito. .....	122
<b>Tabla 28.</b> Análisis de varianza del número de ramas de haba ( <i>Vicia faba</i> ) tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito. .....	122



<b>Tabla 29.</b> Análisis de varianza del número de vainas de haba ( <i>Vicia faba</i> ) tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito. ....	122
<b>Tabla 30.</b> Análisis de varianza del número de granos seco de haba ( <i>Vicia faba</i> ) tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito. ....	122
<b>Tabla 31.</b> Análisis de varianza del número del peso seco de biomasa (g) de haba ( <i>Vicia faba</i> ) tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito. ....	123
<b>Tabla 32.</b> Análisis de varianza del número de Peso de grano seco de haba ( <i>Vicia faba</i> ) tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito. ....	123
<b>Tabla 33.</b> Análisis de varianza del rendimiento (kg/ha) de plantas de haba ( <i>Vicia faba</i> ) tratadas con cepas de <i>Trichoderma</i> spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito. ....	123



## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

### LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS O SIMBOLOS

**	= Altamente significativo
AP	= Altura de planta.
BCA	= Bloque Completamente al Azar
BLOQ	= Bloques
CC	= Capacidad de campo
CM	= Cuadrado medio
CV	= Coeficiente de variabilidad
Cm	= Centímetros
C	= Cepas
°C	= Grados centígrados
D0	= sin concentración
D6	= $1 \times 10^6$ ufc
D7	= $1 \times 10^7$ ufc
D8	= $1 \times 10^8$ ufc
DCA	= Diseño Completamente al Azar
Eval.	= Evaluación
Fc	= F-calculada
Ft	= F-tabular
g	= gramos
INIA	= Instituto Nacional de Innovación Agraria
Kg/Ha	= Kilogramos por Hectárea
M.O.	= Materia orgánica



ns	= No Significativo
Nº	= Número
NG	= Numero de granos
NR	= Numero de ramas
NV	= Numero de vainas
PG	= Peso grano seco
Ppm	= Partes por millón
Prom	= Datos promedio de cada característica morfológica de 10 plantas.
PSA	= Papa, Sacarosa, Agar
PSB	= Peso seco de Biomasa
sp	= Se refiere a una especie no descrita
spp	= Se refiere a varias especies no descritas
Sig	= Significancia
Sc	= Suma de cuadrado
RDTO/Ha	= Rendimiento por hectárea
TRICH	= <i>Trichoderma</i> spp.
T. 2	= <i>Trichoderma</i> nativo 2
T	= Testigo
Ufc	= Unidades formadores de conidias
$\bar{X}$	= Promedio general



## RESUMEN

El cultivo de haba (*Vicia faba* L.) es importante económicamente para los productores de Puno y es una buena fuente de alimentación y de comercio para la población andina; sin embargo, el rendimiento es bajo debido a las plagas y enfermedades que afectan la producción de granos; entre las enfermedades es muy importante la “mancha chocolate” *Botrytis fabae*, existiendo gran interés científico en su control biológico; por tal motivo se realizó el presente trabajo de investigación con el objetivo de determinar la influencia de especies de *Trichoderma* spp. en su bio-control y mejora del rendimiento del cultivo. La investigación se desarrolló en el distrito de Chucuito-Puno, durante los meses de noviembre a mayo 2017 - 2018, el experimento se condujo con un diseño de Bloques Completos al Azar en parcelas divididas con un arreglo factorial 3X4 con tres repeticiones. Se realizaron cuatro aplicaciones foliares, a partir de los primeros síntomas de la enfermedad en las plantas. En Laboratorio, se determinó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) con tres evaluaciones de severidad, realizando pruebas de antibiosis y micoparasitismo *in vitro*, con la producción de metabolitos solubles inhibitorios por los antagonistas y enfrentamiento dual del patógeno, permitiéndose evaluar la inhibición del crecimiento micelial del patógeno y el porcentaje de colonización del hongo antagónico respectivamente. Se determinó que la cepa *Trichoderma* nativa obtuvo mayor inhibición micelial del patógeno (50.96%), seguido de *T. harzianum* y *T. viride* con 43.59 y 40.39 % respectivamente. Se encontró también que las tres cepas de *Trichoderma* spp. resultaron ser micoparasitos agresivos, que colonizaron completamente al patógeno. En el ensayo de campo, los tratamientos con aplicaciones de *Trichoderma* nativo presentaron los valores más altos en la evaluación de características morfológicas; pero, los tratamientos con concentraciones ( $1 \times 10^8$  ufc y  $1 \times 10^7$  ufc) fueron menos afectados por mancha chocolate con valores de AUDPC de 32.44 y 41.22 respectivamente, frente al testigo T (AUDPC = 166.56). Se obtuvo el mayor rendimiento con la dosis  $1 \times 10^7$  ufc de 8,956 kg/ha, en cambio con la dosis  $1 \times 10^8$  ufc, solamente 8,489 kg/ha.

**PALABRAS CLAVE:** Haba, *Botrytis fabae*, *Trichoderma*, Biocontrol y concentración.



## ABSTRACT

The cultivation of broad bean (*Vicia faba* L.) is economically important for the producers of Puno and is a good source of food and commerce for the Andean population; however, yield is low due to pests and diseases that affect grain production; among the diseases the “chocolate stain” *Botrytis fabae* is very important, there is great scientific interest in its biological control; for this reason, the present research work was carried out in order to determine the influence of *Trichoderma* spp. in its bio-control and improvement of crop performance. The research was developed in the district of Chucuito-Puno, During the months of November to May 2017 - 2018, the experiment was conducted with a Random Complete Blocks design in divided plots with a 3X4 factorial arrangement with three repetitions. Four foliar applications were made, from the first symptoms of the disease in plants. In the laboratory, the area under the disease progress curve (AUDPC) was determined with three severity evaluations, conducting *in vitro* antibiosis and mycoparasitism tests, with the production of soluble inhibitory metabolites by antagonists and dual control of the pathogen, allowing to evaluate the inhibition of mycelial growth of the pathogen and the percentage of colonization of the antagonistic fungus respectively. It was determined that the native *Trichoderma* strain obtained greater mycelial inhibition of the pathogen (50.96%), followed by *T. harzianum* and *T. viride* with 43.59 and 40.39% respectively. It was also found that the three strains of *Trichoderma* spp. turned out to be aggressive mycoparasites, that completely colonized the pathogen. In the field trial, the treatments with native *Trichoderma* applications presented the highest values in the evaluation of morphological characteristics; but, the treatments with concentrations ( $1 \times 10^8$  ufc and  $1 \times 10^7$  ufc) were less affected by chocolate stain with AUDPC values of 32.44 and 41.22 respectively, versus witness T (AUDPC = 166.56). The highest yield was obtained with the  $1 \times 10^7$  ufc dose of 8.956kg / ha, in contrast with the  $1 \times 10^8$  ufc dose, only 8.489kg / ha.

**KEY WORDS:** Bean, *Botrytis fabae*, *Trichoderma*, Biocontrol and concentration.





# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad el cultivo de haba (*Vicia faba* L.) es un importante alimento de contenido proteínico, además su producción es económica para los productores de la región Puno y una de las fuentes de comercio, de la población andina rural (anillo circunlacustre) (Hanada et al., 2008; INIA, 2013); sin embargo, existen limitantes en la producción, tal es el caso de las enfermedades fitopatógenas, que limitan su producción. Siendo la más importante la mancha chocolate (*Botrytis fabae* Sard), que representa una disminución considerable en el rendimiento y como consecuencia de ello el poco interés en su producción por parte de los pequeños productores (Peralta, Cevallos, Vásquez, & Pinzón, 1995), otro de los factores que impide el aprovechamiento de este cultivo es el alto costo del control de la enfermedad, asociada a condiciones y épocas de alta precipitación. Según Ajuquejay (2013), afirma que puede disminuir la producción hasta en un 60%. Y también puede afectar toda la parcela en cualquier estado de desarrollo del cultivo (desde emergencia hasta maduración). *Botrytis fabae*, se considera como patógeno potencial del cultivo de haba que produce la enfermedad “mancha chocolate”. Este patógeno puede reducir hasta dos tercios de los rendimientos del cultivo (Mamani, 2007). En la actualidad, para el control de esta enfermedad existen diferentes tipos de agroquímicos, que son usados frecuentemente como Bravo 500, Benomyl y Carbendazin (Basantes, 2015; Deverall & Wood, 1961; Elad, Williamson, Tudzynski, & Denle 2007). Sin embargo, en la región Puno el uso de estos productos es limitado debido el tipo de producción orgánica que se realiza en la zona.

Manejando la microflora existente en contacto con las plantas es posible controlar a los fitopatógenos; pudiendo sacar ventajas de las interacciones benéficas para la planta favoreciendo su crecimiento y resistencia a patógenos. También es posible utilizar las interacciones antagónicas de forma de eliminar a los patógenos e impedir que estos puedan atacar a la planta y desarrollar la enfermedad. A esto se ha denominado Control Biológico (Mondino, 2002; Pal & McSpadden Gardener, 2006).

Por lo citado se observa la necesidad de contar con un tipo de control efectivo (control biológico), no tóxico para la salud y el medio ambiente. Una de estas alternativas es la utilización de microorganismos tales como hongos antagónicos, *Trichoderma* spp.,



siendo un hongo potencial biocontrolador de varias enfermedades de plantas a su vez reduce resistencia a factores bióticos y abióticos (Chiriboga, Gómez, & Garcés, 2015; Serrano & Galindo, 2007).

Con estos antecedentes, se fortalecerá el control de esta enfermedad, reduciendo las aplicaciones de productos de origen químico y la producción de este cultivo será posible a escala mayor, obteniendo de esta manera un mejor rendimiento y posibilidades para exportaciones considerables, ya que en la parte del altiplano de Puno su producción es de alta potencialidad.

Los objetivos planteados para el presente trabajo de investigación fueron los siguientes:

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la influencia de especies de *Trichoderma* spp. para el control de *Botrytis fabae* y mejorar el rendimiento del cultivo de haba, en el distrito de Chucuito-Puno.

### **1.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Determinar la capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. sobre el hongo fitopatógeno *Botrytis fabae* en condiciones *In vitro*.
- Determinar el efecto de concentraciones de conidios ( $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^6$ ) de especies de *Trichoderma* spp. en el control de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) del cultivo de haba, en el distrito de Chucuito-Puno.
- Determinar el efecto de concentraciones de conidios ( $1 \times 10^8$ ,  $1 \times 10^7$  y  $1 \times 10^6$ ) de especies de *Trichoderma* spp. en el rendimiento del cultivo de haba, en el distrito de Chucuito-Puno.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. ANTECEDENTES

Jimenez (2006) menciona que *Trichoderma* spp. se presenta como antagonista de *Botrytis cinérea*, *Rhizoctonia solani* y *Alternaria solani* *In vitro* como biocontrolador en plantas de tomate. Señala que el agregado al suelo de cepas de *Trichoderma* spp., reducen significativamente al fitopatógeno disminuyendo la supervivencia y mejorando el crecimiento de las plantas, la producción de enzimas degradativas está directamente vinculada con el efecto antagonista; también señala que la aplicación de *Trichoderma* sp., como varias especies de este mismo género resultan ser eficaces en el control de *Botrytis* sp., en plantas de *Leucadendron*, presentando una disminución considerable en la presencia de esta enfermedad.

Guadarrama, Lopez and Laguna (2006) investigaron para disminuir el número de aplicaciones de fungicidas en el cultivo de haba mediante la utilización de 10 genotipos tolerantes a *Botrytis fabae* S., se realizaron tres y seis aplicaciones con clorotalonil y Benomyl, siendo los genotipos S-215, San Isidro y Diamante presentaron porcentaje de daño y tasas de infección más bajas y los rendimientos en vaina fresca (9.34, 9.15 y 8.85 t/ha) y grano seco más altos (1.82, 2.08 y 1.77 t/ha) respectivamente en comparación con el genotipo R-40, el rendimiento en vaina y grano seco total más bajos (5.9292, 0.79417 t/ha). Se encontró un alto porcentaje de la inhibición de la actividad relativa de la acetilcolinesterasa en los programas con tres aplicaciones 37% y para el programa con seis aplicaciones con un 41% de la actividad relativa de la acetilcolinesterasa, en el testigo y el Programa con *Trichoderma harzianum* también se detectó la presencia mínima de carbamatos y un alto porcentaje de inhibición con un 54% considerándose biocontrolador.

Espinal, Huanca, Terrazas, and Turba (2010) evaluaron la actividad biocontroladora de *Trichoderma inhamatum*, frente a *Botrytis fabae*. El antagonismo se evaluó por el método de enfrentamiento dual, donde se observó micoparasitismo y antibiosis. Evaluó la influencia de parámetros físicos, químicos y biológicos sobre el cultivo en batch de *T. inhamatum* y la capacidad de estos sobre el control de *B. fabae*. En el co-cultivo con espora de *T. inhamatum* ( $10^6$  prop/ml) con *B. fabae* ( $10^2$  prop/ml), la inhibición fue 51.21%. Al emplear biomasa de *B. fabae* (500 mg) con *T. inhamatum* ( $10^6$ prop/ml) la



inhibición fue 55.11%. La aplicación del fermento de *T. inhamatum*, sobre las plantas de haba presento significancia ( $p \leq 0.05$ ).

Merchan, Ferrucho and Alvarez (2014) determinaron que *T. harzianum* y *T. lignorum* se obtuvo una protección superior a la que brinda el Iprodione en el manejo de *B. cinerea* en fresa, no obstante, se presentó un gran porcentaje de pérdida de flores, la cual pudo deberse a variables externas como la deficiencia de boro ya que no hubo aplicación de este elemento. En las variables de calidad de los frutos de fresa, estos presentaron incrementos significativos en la masa y en el color, lo que aumenta la calidad de la fresa. Al aumentar el índice de severidad se afectó la calidad del fruto. La aplicación de *T. lignorum* es más económica que la de *T. harzianum* para el control *B. cinerea* en fresa, por lo cual se recomienda la aplicación, ya que este hongo benéfico propició la obtención de frutos de buena calidad.

Minchez (2015) determinó las concentraciones de *Trichoderma harzianum* ( $1.428571429 * 10^{12}$  conidios/ha,  $1.428571429 * 10^{11}$  conidios/ha  $3.571428571 * 10^{12}$  conidios/ha), que proporcionan un mejor biocontrol de *Botrytis fabae* S. en el cultivo de haba, midiendo el nivel de daño ocasionado por la enfermedad antes mencionada, obteniendo así el rendimiento del cultivo de haba que se expresó en cada uno de los tratamientos. El tratamiento que presento mejores resultados con relación al rendimiento fue el tratamiento uno ( $1.428571429 * 10^{12}$  conidios/ha); con respecto al control de la incidencia y severidad ocasionada por *Botrytis fabae* S. así mismo presento un resultado más horizontal y eficiente con respecto a los demás tratamientos.

Así, se demuestra la gran importancia de estos hongos benéficos, para las zonas andinas, como son; Ilave, Juli, Yunguyo, ya que el problema fitosanitario del cultivo del haba, se encuentra en toda la zona circunlacustre del lago Titicaca- Puno. Los resultados que se obtuvieron son aplicables en campo, para el control y prevención de la incidencia de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) así como se deben tomar en cuenta las recomendaciones del trabajo de investigación (INIA, 2013).

## 2.2. CULTIVO DE HABA

### 2.2.1. Importancia económica y distribución geográfica

El haba (*Vicia faba* L.) es la séptima legumbre de grano en importancia en el mundo y la típica leguminosa de doble utilización (tanto para alimentación humana como animal), constituyendo en muchos países la mayor fuente de proteína en alimentación humana. En



China, con 1'613,75.00 toneladas de la producción mundial (SUNAT, 2014). Además, su empleo en rotaciones, constante desde la agricultura romana, se debe tanto a su excelente papel en la fijación de nitrógeno atmosférico, estimado en 100 - 120 Kg N ha (cantidad que por supuesto puede variar enormemente, de acuerdo con las condiciones de cultivo) como a la buena estructura física que deja en el suelo.

### **2.2.2. Origen y distribución del cultivo de haba**

El haba es de origen asiático y Afganistán se considera como el principal centro de origen, aunque algunos autores mencionan que posiblemente el haba es de origen africano, posiblemente de Etiopia, cultivándose desde hace unos cuatro mil años. El cultivo de haba fue introducido a América y Guatemala por los conquistadores españoles y se ha desarrollado únicamente en pocos países de América que poseen altiplano con zonas frías como México, República Dominicana, Brasil, Perú, Paraguay, Colombia y Bolivia (Aldana, 2010) .

### **2.2.3. Adaptación en el altiplano del cultivo de haba**

Zona agroecológica circunlacustre del altiplano entre los 3836 a 3870 msnm. Precipitación de 616 a 800 mm/año y temperatura media máxima de 15°C (INIA, 2013).

### **2.2.4. Ubicación taxonómica del cultivo de haba**

La especie *Vicia faba* L. taxonómicamente, es la más aislada del género *Vicia*. De acuerdo a Gunn (1978), el haba difiere de otra especies del mismo género *Vicia* únicamente en dos características morfológicas, la falta de zarcillos y el aspecto del hilo de la semilla. Según Ajquejay (2013) se tiene la siguiente posición taxonómicamente:

Reino:        Plantae  
Sub reino:    Phanerogamae  
Orden:        Fabales  
Familia:      Fabaceae  
Tribu:        Papilonoideae  
Género:       *Vicia*  
Especie:      *Vicia faba* L.



### 2.2.5. Valor nutritivo del cultivo de haba

Según (MACA, 2005) el haba en relación a otras especies de leguminosas de grano es considerada de alta calidad nutricional, por su elevado contenido proteico y por la cantidad de grasa que presenta es rica en lisina, favor que permite el complementar la proteína contenida en aquellos alimentos carentes de este aminoácido, como los cereales; adicionalmente es una fuente de vitaminas del complejo B, ya que contiene tiamina, niacina y fogatas. El haba es un alimento de alto valor energético y muy rico en proteínas (23,4%), tanto que sustituye perfectamente a la proteína de la carne (12.4%), con la ventaja de que no posee colesterol.

Asimismo posee calcio 90 mg/100g y hierro 3,6 mg/100g mayor que otros productos (lenteja, trigo, arroz y maíz). El grano de haba contiene una importante cantidad de aminoácidos esenciales, como Cistina, Metionina, Lisina, Triptofano, entre otros, los que son importantes para la alimentación humana (MACA, 2005). En la familia campesina boliviana, este cultivo es importante por su elevado contenido proteico para la alimentación (24%); además el follaje es un suplemento en la alimentación de ganado; paralelamente tiene muchas cualidades como abono verde en las parcelas dentro de su sistema productivo (Cardona, 2000).

### 2.2.6. Variedades y cultivares del cultivo de haba

Crespo (1990) menciona la clasificación según Cubero (1983), como la más simple y reconoce solo cuatro variedades botánicas; faba, equina, minor y paucijuga.

De acuerdo MACA (2005) en Bolivia existe una diferenciación en la denominación de los cultivares, según la zonas de cultivo, los granos grandes se denominan habillas, estos corresponden a la variedad botánica *Vicia faba* var. *Major* y los granos medianos (cultivados principalmente en los valles interandinos) pertenecen a la variedad botánica *V. faba* var. *Equina* y se reconocen los siguientes ecotipos.

- **Ecotipos de haba para valle:** Las más conocidas son: Pandoja, Rosal, Caramarca y haba de Camargo. Desarrollan entre 6 a 15 vainas por planta con 1 a 3 granos por cada vaina, los granos secos son pequeños y pesan desde 0.8 a 1.4 g, tienen por lo general color blanco-cremoso.
- **Ecotipos de haba para zonas altas:** conocidas como "habillas", son cultivadas principalmente para consumo como grano seco, cuya calidad es apreciada. En este



grupo tenemos a la Gigante de Copacabana, Usnayo, Original, Waca Jabasa y Haba Grande.

#### **2.2.6.1. Variedades más cultivadas en el Perú**

FAO (2018) reporta que en el Perú no existe una clasificación racional sobre variedades de haba, se denominan a estos de acuerdo a las diferentes formas que tiene o al lugar de procedencia o al color de semillas, usualmente o especialmente en la sierra se utiliza una mezcla de variedades, dentro de las más importantes están:

##### **2.2.6.1.1. Gigante de Copacabana:**

Sus granos pesan por encima 1,8 gramos y alcanzan la madurez en grano seco entre los 6 a 8 meses después de la siembra; las plantas alcanzan entre 1,5 a 2 m de altura, formando abundante follaje con 6 a 10 ramas por planta. Las habillas rinden entre 1 a 2,5 Tn/ha.

En los últimos años ha cobrado importancia, el cultivo de algunos cultivares regionales como la “**Gigante de Copacabana**”, por sus características de granos de Calibre grande, que son adecuadas para la exportación a los mercados internacionales, sin embargo susceptible a *Botrytis* (Coca, 2004)

Según MACA (2005) es un ecotipo de haba de alta calidad (calibre) que se producen en la isla del Sol de la provincia Manco Capac del departamento de La Paz, se caracterizan por producir granos de calibres grandes (7-9 granos de onzas (onza). Otra variable de calidad que posee el haba seca de la isla del sol es su textura, la cual se caracteriza por ser más suave que el haba proveniente de otros lugares.

##### **2.2.6.1.2. Blanca de Yunguyo:**

Tiene las semillas de color verde intenso, puede medir 2cm de largo x 1.5cm de ancho, el tallo es hueco, cuadrangular, glabras, de color verde grisáceo, hojas compuestas con peciolos anchos de altura que puede variar según el lugar de cultivo y llega a medir hasta un metro de altura.

##### **2.2.6.1.3. Morada compuesta:**

Contiene semillas de color morado claro con una altura que puede llegar hasta el un metro de altura, los tallos son de coloración rojiza

- Para la sierra norte tenemos las variedades: “**Mediano plumizo**”.
- Para la sierra centro tenemos las variedades: **pacae “Rojo de mantaro”, pacae “Blanco de mantaro”**.



- Existen otras variedades cuales son: “**Mayu**”, “**Usnayu**”, “**Cheje**”, “**Wila**”, “**Jawara**”, “**Q'ello**”, “**Qalqa**”, “**Blanca Anta**”, “**Sinco**”, “**Sinave**”, “**Pacae**” “**Blanco Mantaro**”, “**Criollo**”.

#### **2.2.6.2. Variedades cultivadas en Puno**

MACA (2005) indica que los cultivos de Haba que conduce el departamento de Puno, no se emplean variedades definidas, al contrario las semillas empleadas corresponden a una mezcla de muchas variedades o cultivares conocidas localmente con diferentes denominaciones, las cuales principalmente provienen de la coloración de la testa o cáscara y se tienen las siguientes más importantes:

- En Yunguyo: “**Blanca de yunguyo**”, “**Gigante de Copacabana**”, “**Muyu-Muyu**”, “**Osnayo**”, “**Cheje**”, “**Ucchukulu**”, “**Wila**”, “**Jawasa**”.
- En el distrito de Puno: “**Quello**”, “**Quepa**”.
- En distrito de Mañazo: “**Verde Kulli**”, “**Waca**”, “**Llaullaco**”.
- En distrito de Vilquechico: “**Chojña Jawasa**”.
- En distrito de Azangaro: “**Puka**”, “**Muru**”, “**Morado**”, “**Alga**”, “**Yurac de Capachica**”, “**Roja de Azangaro**”.
- En distrito de Cuyo Cuyo: “**Yana**”, “**Quello**”, “**Yurac**”, “**Wallaco**”, “**Puka**”, “**Chajoe**”.
- En distrito de Chucuito: “**Wila Janco**”, “**Chojña**” y “**Gigante de Copacabana**”

#### **2.2.7. Morfología del cultivo de haba**

##### **2.2.7.1. Raíz**

Es pivotante, profunda y penetrante, las raíces laterales muy desarrolladas, abundantes y fuertes, por su parte JICA (2006) indica que su sistema radicular presenta nódulos que permiten la fijación del nitrógeno atmosférico; el sistema radicular es vigoroso, que puede alcanzar hasta una profundidad de 1 m, pero lo normal es que su profundidad sea de 1 m.

##### **2.2.7.2. Tallo**

Según Crespo (1996) es de color variable desde el verde al verde rojizo, erecto, de forma cuadrangular, hueco, sin vellosidades. Se ramifica en el cuello o la base, dependiente del cultivar, de la densidad de siembra, de la fertilidad del suelo y de las condiciones ecológicas, el número de ramificaciones puede variar de 4 a 8 ramas. Por su parte JICA





(2006) indica que su tallo puede llegar hasta una altura de 1.5 m, es de coloración verde, fuerte, anguloso y hueco, según su ahijamiento de la planta varía el número de ramas.

### **2.2.7.3. Hojas**

Son de color verde lisas, alternas, compuestas de primordios, paripinadas con dos a cuatro pares de folíolos glabros opuestos o alternados. Generalmente son anchas, elípticas o lineales, enteras o dentadas en el ápice y desprovistas de pubescencia (Crespo, 1996). Son alternas, compuestas, con folíolos anchos ovales redondeados, de color verde (JICA, 2006).

### **2.2.7.4. Flores**

Para Crespo (1996) se originan en las axilas de las hojas y son de color blanco ligeramente violáceo, con manchas negras sobre las alas; se agrupan en racimos cortos de 2 a 12 flores. La corola es dialipétala con cinco pétalos desiguales. La quilla o carga ligeramente coloreada, el cáliz glabro, de color pálido. La flor tiene 10 estambres, 9 de ellos soldados y sus filamentos forman un tubo que encierra el pistilo, el décimo estambre permanece libre (diadelfo).

### **2.2.7.5. Fruto**

Es una vaina o legumbre alargada que se encuentra en disposición diversa y en número de uno a cinco por nudo, en estado tierno es carnosa de color verde. En la madurez comercial los frutos se vuelven coriáceos, negros y pubescentes. La longitud de vainas varía de 5 a 30 cm; siendo éstas rectas, algo curvadas, erguidas o pendientes, según el cultivar (Crespo, 1996).

### **2.2.7.6. Semilla**

Según Crespo (1996) son de forma diferente, según la variedad botánica a la que pertenece, así tenemos en la variedad *V. faba var. minor*, granos por tamaño pequeño cilíndricos; mientras que en *V. faba var. major* los granos son grandes aplastados, ovales, de superficie lisa; su longitud puede llegar a 4 cm, su color varía desde los tonos oscuros hasta los claros, como el verde, rojo, amarillo-crema, blanco y grisáceo. El número de semillas por vaina varía de 2 a 10 de acuerdo al cultivar.

## **2.2.8. Fenología del cultivo de haba**

Las fases fenológicas de haba (*Vicia faba L.*) son: emergencia, primera hoja compuesta, segunda hoja compuesta, macollamiento, formación de botones florales, inicio de

floración en el tallo principal, formación de vainas, maduración de vaina y madurez fisiológica (Mattos, 2000).

### 2.2.8.1. Etapas de crecimiento de la planta de haba

Aldana, (2010) menciona que el crecimiento del cultivo de haba en sus primeras fases es muy lento. La preemergencia y emergencia que se llevan a cabo dentro del suelo son extremadamente lentas. Esto es producto de las condiciones de siembra, en donde aún no se ha establecido el invierno y la semilla aún no ha entrado en contacto con suficiente humedad, aunado a esto, lo grueso de la cáscara de la semilla de haba y la cantidad de tierra que el agricultor le pone encima al momento de sembrarla, provocando con esto que la semilla tarde en germinar. En la Tabla 1 se observa las etapas de crecimiento del cultivo de haba donde principalmente se dividen en vegetativa y reproductiva.

**Tabla 1.** Fenología del Haba

FASES	
V0	Germinación
V1	Emergencia
V2	Formación de las primeras hojas
ZV3	Formación de tallos
V4	Elongación de tallos
R5	Formación de flores
R6	Formación de vainas
R7	Formación de granos
R8	Llenado de grano
R9	Maduración, ennegrecimiento de vainas y secado
R10	Desvainado

Fuente: Según Aldana (2010)

Las primeras fases de desarrollo vegetativo del haba las hace subterráneamente. Durante estas fases, el crecimiento de los tallos de la planta es muy lento. El crecimiento de hojas y tallos es lineal y tienen una mayor velocidad conforme la planta va adquiriendo una mayor altura; en este periodo finaliza la fase vegetativa e inicia la fase reproductiva, durante esta fase, se inician la formación de flores en las partes más bajas de los tallos y los tallos en formación o macollos. La fase reproductiva está asociada a la susceptibilidad



de enfermedades. Durante la formación de vainas, llenado de vainas y granos que se da en los meses de septiembre y octubre es cuando la planta de haba presenta su máxima susceptibilidad a las enfermedades. Esta fase coincide con los periodos de mayor precipitación en la Región.

#### **2.2.8.2. Fases de desarrollo de la planta de haba**

##### **Fase V0: Germinación**

Aldana (2010) menciona que la germinación se inicia cuando la semilla entra en contacto con la humedad del suelo y se inicia el proceso de germinación, o el día del primer riego, o de la primera lluvia si se siembra en un suelo seco. Aquí la semilla absorbe agua inicialmente y ocurre en ella los fenómenos de división celular y las reacciones bioquímicas que liberan los nutrimentos de los cotiledones. Posteriormente emerge la radícula convirtiéndose en raíz primaria. La raíz del haba es del tipo pivotante.

##### **Fase V1: Emergencia**

Aldana (2010) menciona que la emergencia se inicia cuando las primeras hojas del haba aparecen al nivel del suelo. Se considera que las plantas están en esta fase cuando el 50% de las plantas presentan sus primeras hojas al nivel del suelo.

Luego aparece otro grupo de hojas del tallo principal que comienzan a desplegarse y abrirse camino desde las partes más bajas del suelo. Le sigue otro grupo de hojas que empiezan a separarse y abrirse desde abajo hasta desplegarse totalmente.

##### **Fase V2: Formación de las primeras hojas**

Aldana (2010) menciona que la formación de las primeras hojas en haba se realiza desde la semilla. Dentro de toda semilla de haba ya está formada la nueva plántula que dará origen al cultivo. En haba las primeras hojas se van formando desde las partes más bajas del suelo. Estas hojas, empiezan a desplegarse al nivel del suelo. La Fase V2 se da cuando el 50% de las plantas presentan las primeras hojas a nivel del suelo. Las hojas del haba son compuestas por dos o tres pares de folíolos de consistencia carnosa de color verde grisáceo. Estas son alternas pinnadas, nacidas sobre un largo pecíolo que es acuminado.

##### **Fase V3: Formación de tallos (Amacollamiento)**

Aldana (2010) menciona que la formación de tallos en haba se da en un corto rizoma, llamado “**Corona**” que sostiene varios tallos o cañas que crecen a una altura aproximada



de un metro, o casi dos metros de altura en algunas variedades y algunos suelos de alta fertilidad. El número de tallos por planta varía de acuerdo a la variedad de haba sembrada, a la fertilidad ya la profundidad del suelo, o al sistema topológico de siembra. A mayor distancia entre plantas y surcos se favorece una mayor formación de macollos. El número promedio de macollos o tallos es de cuatro a ocho tallos por planta. Siembras de haba con maíz, tienen menos tallos que siembras de haba en monocultivo. Las habas al igual que muchos cultivos que forman otros tallos, tienen un tallo principal y varios tallos secundarios llamados macollos. La estructura del tallo principal y los macollos es exactamente la misma. El tallo principal nace del embrión, mientras que los macollos nacen en la corona directamente del tallo principal o de otros macollos. Los tallos de haba son erectos y cuadrangulares. Los tallos están formados de nudos y entrenudos.

Posterior a la etapa de amacollamiento sigue la etapa de alargamiento de tallos en donde se desarrollan los entrenudos haciéndose estos más largos. En los nudos del tallo principal y los macollos es donde se forman en racimo las flores y posteriormente las vainas y los granos de haba.

#### **Fase V4: Elongación de tallos**

Aldana, (2010) menciona que la fase de elongación de tallos en haba se da a partir de cada nudo y la formación de nudos y entrenudos. Los meristemos que se encuentran en los nudos son los encargados de la elongación de los entrenudos y el crecimiento de los tallos.

#### **Fase R5: Formación de flores**

Aldana, (2010) menciona que la formación de racimos de flores en haba se da en los nudos desde casi la base del tallo, normalmente en el quinto nudo y llegan hasta el décimo o doceavo nudo de los tallos de la planta. Las flores de haba son compuestas y nacen en racimos auxiliares teniendo estos una estructura típica de las papilionáceas. Los cinco sépalos se combinan en un solo cáliz campanulado. La corola es irregular y está compuesta de cinco sépalos, el estandarte, dos alas y dos pétalos que están unidos para formar la quilla. Esta quilla favorece el mecanismo de auto polinización y protege al haba de la polinización cruzada. La flor tiene diez estambres incluyendo uno superior que está físicamente libre. Los otros nueve estambres están soldados por su base en un tubo. Esta estructura de la flor de haba es típica de las papilionáceas.



Las flores de haba son olorosas y pueden variar en número hasta diez. Estos racimos nacen en las axilas de las hojas y tienen de 3 a 4 centímetros de longitud. Estas flores son amariposadas y zigomorfas de color blanco o violáceo, con una mancha púrpura o negra sobre las alas. La floración progresa desde la parte baja, hacia la parte alta de los macollos o tallos y dura entre 15 a 30 días. Los estigmas son receptivos desde pocos días antes que la flor se abra, hasta que el pétalo estándar pierda su turgencia lo cual puede ocurrir en un periodo de cinco días. El polen es una estructura muy pequeña que forma una pieza de consistencia suave antes de que las flores se abran. Su número y su viabilidad difieren entre genotipos y el ambiente. A temperaturas mayores de 30° C la viabilidad del polen es limitada, mientras que a temperaturas de 15° C la viabilidad del polen aumenta y puede sobrevivir por varios días. Se ha determinado que la fertilización del haba ocurre entre 24 horas después de la polinización.

Muchas de las flores de haba no llegan a formar vainas y granos. Esto es producto de la competencia morfo fisiológica de la planta que por sobrevivencia no llega a formar todas las vainas y granos potencialmente puestos en la planta. Muchas flores y pequeñas vainas se quedan sin desarrollar completamente al final del ciclo de siembra.

#### **Fase R6: Formación de vainas**

Aldana (2010) señala que muchas de las flores de haba no llegan a formar las vainas y granos, producto de la competencia morfo agronómica. La vaina de haba es compacta lineal, la cual es dehiscente abriéndose en dos valvas. La vaina es flexible, verde y muy variable en longitud con un número también variable que puede llegar de ocho a diez semillas. La longitud de la vaina de haba puede variar de 5 a 20 centímetros según la variedad. Su interior es blanco aterciopelado y se vuelve duro, coráceo y arrugado entre las semillas cuando estas están maduras.

#### **Fase R7: Formación de granos**

Aldana (2010) menciona que las semillas que son entre dos a diez varían con la variedad en color, forma y tamaño. Los colores de la semilla de haba seca pueden ser: blanco, amarillo y lila o morado. Al haba grande blanca se le llama sal por. Las semillas son aplanadas, de superficie lisa, verdes cuando son tiernas. Las semillas poseen dos cotiledones largos y pueden pesar de 200 a 2,000 miligramos cada una. Su capacidad germinativa es de hasta diez años y germinan normalmente en diez días después de la siembra, dependiendo de las condiciones de humedad del terreno.



### **Fase R8: Llenado de granos**

Aldana (2010) menciona que el llenado de los granos es la Fase R8 y se inicia cuando el 50% de las plantas empieza a llenar la primera vaina. En esta Fase R8 comienza el crecimiento activo de las semillas. Vistas por las suturas que unen las dos valvas de las vainas, estas presentan abultamientos que corresponden a las semillas de haba en crecimiento. En esta fase las vainas se van alargando conforme transcurren los días después de la floración. El peso de los granos aumenta marcadamente conforme las vainas van alcanzando su tamaño y peso máximo. Los granos alcanzan su peso máximo entre 35 a 45 días después de la floración. Al final de esta etapa, los granos de haba pierden su color verde para comenzar a adquirir las características del color y la pigmentación de la semilla de la variedad de haba sembrada, blanca, amarilla o morada. En Guatemala existe un gran número de variedades criollas que usan los agricultores que las diferencian únicamente por el color de la semilla.

### **Fase R9: Maduración, Ennegrecimiento y secado de las vainas**

Aldana (2010) menciona que la Fase R9 se considera como de las últimas escalas de desarrollo de la planta de haba, ya que en ella ocurre la maduración, ennegrecimiento de las vainas y secado del grano. Esta etapa se caracteriza porque en ella las plantas inician la descoloración y secado de las vainas en un 50% de la población. Estos cambios en la coloración de las vainas indican el inicio de la maduración de la planta de haba. Las vainas pierden su pigmentación y se tornan negras y se inicia la caída de las hojas y todas las partes de la planta se secan. El contenido de agua de las semillas baja hasta alcanzar el 15% de humedad, momento en el cual las semillas adquieren su coloración típica. Este color puede cambiar durante el almacenamiento según la variedad. En algunos países como Bolivia, los agricultores acostumbran poner las semillas de haba en sacos negros para que la luz no la oxide ni cambie el color a rojo o café oscuro.

### **Fase R10: Desenvainado**

Aldana (2010) menciona que la fase R10 Desenvainado, se considera como la última fase del crecimiento del cultivo de haba y consiste en separar las vainas negras de la planta. Estas vainas se ponen a secar hasta que pierden totalmente la humedad. Luego se extraen las semillas de las vainas y se ventean para eliminar los últimos restos de vainas y basura.

## **2.2.9. Condiciones ecológicas para el cultivo de haba**

### **2.2.9.1. Clima**

FAO (2018) indica que el cultivo de haba se adapta bien a climas con temperaturas frescas pero uniformes. La temperatura media óptima oscila entre 11,5 °C y 16 °C durante el ciclo de cultivo. Tolerancia de temperaturas de hasta -4 °C, a excepción de la fase de floración.

Una fluctuación térmica diaria de más de 10 °C puede inhibir la floración. El rango de temperatura óptima para esta fase es de 19,9 °C a 25,4 °C. La temperatura ideal para las siguientes fases, como formación de vainas y madurez fisiológica, es de 16 °C. Esta especie crece en regiones con precipitaciones de 200 a 2 600 mm/año o 530 mm a 1 600 mm bien distribuidos en el ciclo del cultivo. Sin embargo, el nivel óptimo es de alrededor de los 1 000 mm. Es tolerante a la sequía, no obstante, el agua es un factor clave en el rendimiento del haba. El estado reproductivo es el más sensible al daño por estrés hídrico, por verse afectados: la tasa de aparición, expansión y senescencia de las hojas; largo del entrenudo y altura de planta; crecimiento de las raíces; periodo de floración; producción de materia seca; absorción de nutrientes; y viabilidad de flores. El grado de reducción de la producción depende del tiempo y el grado del estrés (FAO, 2018).

### **2.2.9.2. Suelo**

Prefiere suelos con buen drenaje, de textura media, como los francos, franco-arenosos y franco-arcillosos. Estos deben tener una profundidad mínima de 25 cm a 35 cm. Es tolerante a suelos ácidos y ligeramente tolerante a la salinidad. El rango de acidez de los suelos va de pH 4,2 a 8,6 y el óptimo es alrededor del neutro (FAO, 2018).

## **2.3. ENFERMEDADES DEL CULTIVO DE HABA**

### **2.3.1. Mancha chocolate (*Botrytis fabae* S.)**

#### **2.3.1.1. Agente causal**

La enfermedad es causada por el hongo *Botrytis fabae*, considerada como una de las principales enfermedades del cultivo de haba; en épocas con bastantes lluvias la enfermedad puede afectar a toda la parcela y en cualquier estado de desarrollo de la planta (desde la emergencia hasta la maduración). La presencia de esta enfermedad se ve favorecida por una alta humedad ambiental, suelos pobres o deficientes en fósforo, calcio y potasio (Coca, 2004).

Esta enfermedad es causada por el hongo *Botrytis fabae* Sard como se muestra en la Figura 1, es considerada como una de las principales enfermedades del cultivo de haba

(Peralta et al., 1995). La enfermedad está asociada a condiciones y épocas de alta precipitación. Puede afectar toda la parcela en cualquier estado de desarrollo del haba (desde emergencia hasta maduración). Esta enfermedad provoca manchas de color café chocolate en los tallos, flores y vainas, cuando la planta está infectada aparecen puntos marrones en las hojas, los tallos, las vainas y las flores del haba. Los puntos aumentan y se unen transformándose en lesiones necróticas. Esta enfermedad causa una reducción en el vigor de la planta y disminuye la producción de la cosecha (Aldana, 2010).



**Figura 1.** Mancha chocolate (*Botrytis fabae*).  
Laboratorio de Sanidad Vegetal UNA-PUNO.

#### **2.3.1.2. Ubicación taxonómica**

Según Agrios (2005) y Elad et al. (2007) la clasificación taxonómica de *Botrytis fabae* es la siguiente:

Dominio: Eucariota

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Orden: Helotiales

Género: *Botrytis*

Especie: *Botrytis fabae*

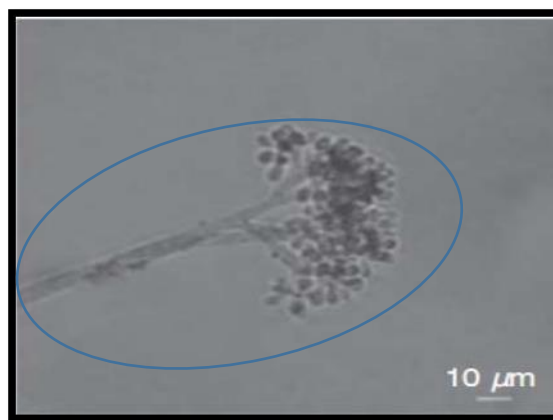


### 2.3.1.3. Descripción y morfología

Este hongo se caracteriza por presentar conidias unicelulares y hialinas, las cuales, son producidas sobre conidióforos coloreados y diseminados por el viento. El hongo presenta como estructura de resistencia esclerotes o micelio, los cuales se encuentran sobre restos de tejidos enfermos que persisten en el suelo (Agrios, 2005).

Las conidias de *Botrytis fabae* presentan un tamaño de 14-29 X 11-20  $\mu\text{m}$ , (Figura 2 y 3), siendo estas más largas (Davidson, Pande, Bretag, Lindbeck, & Kishore, 2007; Mirzaei, Mohammadi, Shams, & Safaie, 2008; Morante, 2007),

En relación a las características morfológicas del conidióforo (Morante, 2007), indica que *Botrytis fabae* presenta un conidióforo hialino, con septaciones cercanas al ápice.



**Figura 2.** Conidióforo de *Botrytis fabae* (Mirzaei et al., 2008).



**Figura 3.** Conidias de *Botrytis fabae* (Mirzaei et al., 2008).

#### 2.3.1.4. Ciclo biológico

El ciclo estacional de *Botrytis* comienza con la germinación de esclerocios que han permanecido en restos de cultivos y plantas hospederas durante el período invernal. Los esclerocios producen micelio, el cual puede esporular originando conidias que son dispersadas por el viento o transportadas por vectores. La infección del hospedero ocurre a partir de la germinación de las conidias que se han depositado sobre la superficie del mismo, desarrollándose inicialmente un micelio superficial, pero que luego puede invadir tejidos susceptibles. Bajo condiciones favorables el hongo produce abundante micelio y gran número de conidias, las cuales pueden causar infecciones posteriores y propagar el patógeno hacia otras plantas.

Bajo condiciones limitantes o desfavorables al crecimiento, el patógeno produce esclerocios, que son las estructuras de resistencia para sobrevivir durante períodos adversos. *Botrytis* también puede invernar en forma de micelio en restos de plantas o rastrojos de cultivos. Al producirse condiciones climáticas favorables, se reanuda el crecimiento del micelio o germinan los esclerocios, reiniciándose el ciclo como se observa en la Figura 4 (Agrios, 2005; Coley, Verhoeff, & Jarvis, 1980).

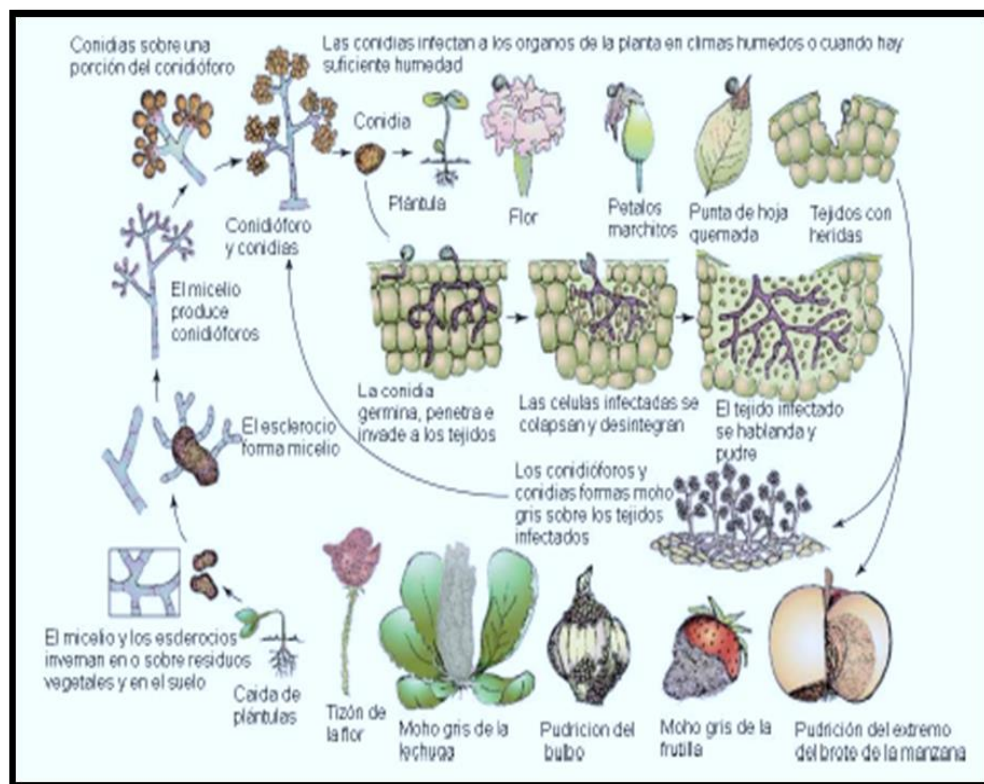


Figura 4. Ciclo de *Botrytis* spp. (Agrios, 2005).



#### **2.3.1.5. Etiología**

La enfermedad que causa la mancha chocolate es *Botrytis fabae* S, este hongo produce abundante micelio gris, conidióforos largos y ramificados que portan racimos de conidias ovoides, unicelulares, hialinas, produciéndose a menudo esclerotios de color negro (Coca, 2004).

#### **2.3.1.6. Sintomatología**

En la fase inicial del desarrollo del cultivo, la enfermedad se puede presentar en forma de manchas características de color chocolate sobre las hojas (fase no agresiva), posteriormente alcanza a los tallos, flores y vainas. En la fase agresiva de la enfermedad (floración, formación y maduración de vainas), las partes afectadas se ven como manchas necrosadas con abundante formación de una felpa de color gris marrón sobre la misma (Coca, 2004) .

#### **2.3.2. Mancha concentrica (*Alternaria alternata*)**

Aldana (2010) menciona que esta enfermedad es causada por el hongo *Alternaria alternata*. Es considerada como otra de las principales enfermedades del cultivo de haba (Peralta et al., 1995). Esta enfermedad produce manchas negras circulares en alternos que se extienden hasta los bordes de la hoja.

Esta enfermedad provoca la muerte descendente por la caída de hojas y la defoliación. Esta mancha aparece cuando hay mucha humedad en el suelo. Cuando las condiciones son adecuadas con mucha precipitación y sin periodos secos, y sin el uso de una variedad tolerante, la enfermedad avanza quemando todas las plantas en la parcela (Aldana, 2010).

#### **2.3.3. Roya (*Uromyces fabae*)**

Aldana (2010) menciona también que esta enfermedad es causada por el hongo *Puccinia spp Uromyces spp*. Es considerada como una de las tres principales enfermedades del cultivo de haba. Esta enfermedad está asociada a condiciones y épocas de poca o ninguna precipitación o largos periodos de canícula. Es una enfermedad que ataca las hojas y tallos, y las pústulas aparecen como pequeños bultos, semejantes a cráteres de volcán de color rojo, castaño, naranja o amarillento. El daño que causa principalmente es una decoloración de color amarillento en la parte superior de la hoja. En ataques muy severos las hojas muy afectadas se secan y caen. Las partes infectadas no se curan, pero con los tratamientos se protegen los nuevos brotes de hojas, flores y frutos. El mejor método de control de la roya es el genético con variedades tolerantes o resistentes.



## 2.4. PLAGAS DEL CULTIVO DE HABA

### 2.4.1. Pulgones (*Aphis craccivora*, *Myzus sp.*).

Son insectos que se alimentan de la savia de la planta, para lo cual utilizan su aparato bucal para succionar el jugo. El pulgón negro o cenizo es el más agresivo, debido a que ha tomado resistencia frente a la aplicación de insecticidas de mayor toxicidad (Quispe, 2011).

Existen diferentes tipos de pulgones, pero los más comunes son el pulgón negro y el pulgón verde. Los insectos miden de 0.5 a 6 mm. Sus patas son largas y finas. Tiene dos antenas y su cuerpo tiene forma de pera, son de color ocre amarillento, o negro. Algunos de ellos poseen alas (Aldana, 2010).

Aldana (2010) también considera que los pulgones se agrupan en las hojas, flores y los brotes tiernos. Se alimenta succionando la savia de las hojas tiernas. El pulgón causa dos tipos de daño en las habas:

#### 2.4.1.1. Daño directo

El daño directo causado por el pulgón en haba es a través de succionar la savia, debilitando las hojas y produciendo plantas débiles. Los pulgones segregan una sustancia melosa que está asociado a un hongo negro, llamado “Fumagina”. Este hongo forma una capa oscura en las hojas, dificultando principalmente la fotosíntesis.

#### 2.4.1.2. Daño indirecto

El daño indirecto causado por el pulgón en haba es a través de la transmisión de virus. Y evitando la formación de vainas al producir el aborto de las flores.

Como enemigos naturales de los pulgones se cita a los predadores del Orden Coleoptera: *Hipodamia convergens*, *Coleomegilla maculata*, *Cydoneda sanguínea*, *Eriopis connexa*, *Harmonia axyridis*, del Orden Diptera (Familia Syrphidae); larvas de *Allograpta spp.* y *Baccha sp.* y el Orden Neuroptera (Familia Chrysopidae): *Chrisoperla sp.* *Hemerobius micronicus* y *Synpherobius sp.* Y a los parasitoides del Orden Hymenoptera (Familia Braconidae): *Aphidius matricariae* y *Praon volucre* (Bravo, 2010; Sanchez, 1994).

### 2.4.2. Gusano de tierra (*Agrotis sp.* y *Copitarsia sp.*)

Son varias las especies de la Familia Noctuidae del Orden Lepidóptera que al estado larval se alimentan masticando y cortando plantas recién germinadas a la altura del cuello como gusanos de tierra primero luego dañando hojas tiernas y brotes antes de la aparición de



las flores. Los daños se observan claramente en las primeras horas de la mañana debido a que la actividad de las larvas es mayor durante la noche, ya que en el día los gusanos cortadores permanecen escondidos debajo de la superficie del suelo y cerca de las plántulas (García, 2013).

En Puno, se reporta a *Copitarsia turbata* y *Agrotys ypsilon* atacando directamente vainas (Bravo, 2010), también son frecuentes *Agrotis malefida* Guenee, *Agrotis subterranea* Fabricius, *Agrotis sp.*, *Feltia experta* Walker, *Feltia sp.*, *Agrotis bilitura* Walker y *Peridroma saucia* Hubner. Entre los gusanos de tierra con hábitos variables se cita a *Copitarsia sp.*, la que es considerada como de importancia secundaria; encontrándose tanto en costa, sierra y selva (Sanchez & Vergara, 2003).

Como enemigos naturales de los gusanos de tierra se cita a los predadores del Orden Coleoptera (Familia Carabidae): *Megacephala carolina chilensis*, *Calosoma abbreviatum*, *Calosoma rufipennis*, *Blennius sp.*, *Pterostichus sp.*; Orden Hymenoptera (Familia Sphecidae) y aves insectívoras (Sanchez & Sarmiento, 2000).

Además se encuentran los los parasitoides del Orden Diptera (Familia Tachinidae): *Gonia peruviana*, *Archytas marmoratus*, *Incamiya sp.* Y al Orden Hymenoptera (Familia Ichneumonidae); *Enicospilus sp.*, (Familia Braconidae); *Apanteles elegans*, *Meterorus chilensis* (Sanchez & Sarmiento, 2000).

#### **2.4.3. Mosca minadora (*Liriomyza sp.* y *Melanagromyza sp.*)**

En Puno, la mas frecuente es la especie *Melanagromyza linni*, son pequeñas mosquitas brillantes que pueden dañar el cultivo, en sus diferentes estadios, cuando son adultos (moscas) y cuando son larvas (gusanos); el daño es visible cuando se observa el envés de las hojas, donde se puede evidenciar la formación de galerías en la epidermis y pequeños puntos blancos. El principal daño lo ocasionan en las hojas, al producir líneas blancas y serpenteantes, si el ataque es de gran intensidad puede causar su caída. A la altura del cuello de la planta se observa un orificio producido por la larva, ennegrecimiento de las hojas y en ataques severos causa la muerte de la planta (Sanchez & Vergara, 2003).

### **2.5. CONTROLADORES BIOLÓGICOS**

El control biológico es el uso de organismos (o de sus metabolitos o subproductos) que son enemigos naturales de una plaga o patógeno, con el fin de reducir o eliminar sus efectos dañinos en las plantas o sus productos. La razón principal por la cual muchos productos agrícolas no son destruidos completamente por las plagas y las enfermedades



es la presencia natural de agentes de control biológico: organismos capaces de antagonizar con las plagas o patógenos, reduciendo sus efectos nocivos (Serrano & Galindo, 2007).

### **2.5.1. *Trichoderma* spp. en el control biológico de enfermedades de plantas**

#### **2.5.1.1. Características generales de *Trichoderma* spp.**

*Trichoderma* es un hongo comúnmente del suelo y se reproduce asexualmente, es filamentoso, anamórfico (Pandya, Sabalpara, & Chawda, 2011), heterótrofo, aerobio, con una pared celular compuesta de quitina, de rápido crecimiento que puede utilizar una gran variedad de sustratos complejos como celulosa, quitina, pectina y almidón como fuente de carbono. Muchas cepas crecen eficientemente en medios sólidos o líquidos y en un amplio rango de temperaturas, además son relativamente tolerantes a humedades bajas y tienden a crecer en suelo ácido, *Trichoderma* crece en los medios de cultivo con un desarrollo difuso que cubre toda la superficie del agar como un césped amarillo o amarillo verdoso, la superficie de la colonia es granular o plumosa. En las características microscópicas. Las conidias son esféricas y mantenidas en racimos compactos mediante una ligera secreción mucilaginosa (G. Harman, Howell, Viterbo, Chet, & Torito, 2009).

La población de *Trichoderma* decrece especialmente cuando la humedad del ambiente desciende por largos periodos de tiempo. Otros estudios han determinado que el pH, la concentración de CO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub>, sales y el contenido de materia orgánica son factores físicos y químicos determinantes para la variación de la poblacional de *Trichoderma*, además de la presencia o ausencia de otros microorganismos en el ambiente

Entre los principales microorganismos empleados en el control biológico se tienen a los miembros de la familia Hypocreaceae, principalmente a los del género *Trichoderma* (Agrios, 2005).

#### **2.5.1.2. Clasificación taxonómica**

*Trichoderma*, se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera. (NCBI, 2010).

Reino: Fungi

Filum: Ascomycota

Subfilum: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes





Subclase: Hypocreomycetidae

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Trichoderma*

Además, el género *Trichoderma*, agrupa 149 especies reportadas hasta el momento según la base de datos UBIO, entre las que se encuentran *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*.

#### **2.5.1.3. ESPECIE *Trichoderma harzianum***

Entre los hongos micoparásitos más comunes destacan *Trichoderma* spp., principalmente *Trichoderma harzianum*, que se ha demostrado parasita el micelio de *Rhizoctonia* y *Sclerotium*, inhibe el crecimiento de muchos otros hongos, como *Pythium*, *Botrytis fabae* *Fusarium* y *Fomes*, y reduce la magnitud de las enfermedades causadas por la mayoría de esos patógenos (Agríos, 2005).

Es un hongo parasitario de esporulación asexual, por conidios globosos u ovoides de 3 a 6  $\mu\text{m}$ , de coloración verde oscura y apariencia granular; posee conidiosporas de estructura piramidal y fialides de aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  de longitud (FAO, 2018).

Se ha comprobado que es eficaz en el control de patógenos como: *Armilaria*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Botrytis* y *Fusarium*. Sus mecanismos de acción son: competencia por nutrientes, micoparasitismo, antibiosis y generación de defensas en la planta (Infante, Martínez, González, & Reyes, 2008)

#### **2.5.1.4. ESPECIE *Trichoderma viride***

Es un hongo utilizado como biofungicida por sus múltiples propiedades siendo altamente efectivo para suprimir enfermedades causadas por hongos patógenos. *Trichoderma viride* ataca a otros hongos y además estimula el crecimiento de la planta y de las raíces. Cuando se aplica durante la siembra, coloniza las semillas multiplicándose sobre la superficie de manera que les proporciona una protección contra enfermedades que se encuentran en el suelo (Benitez, 2004)

Es un hongo de esporulación verde oliva amarillenta, que puede generar un pigmento amarillento difusible en el medio; a nivel microscópico, posee hifas hialinas, de pared rugosa, ramificadas, septadas con conidióforos ramificados piramidales; cuyas fialidas



están agrupadas de 2 a 4. Sus conidios poseen pared rugosa de forma globosa, a veces elipsoidales, de 3,6 – 4,0 x 4,0-4,8  $\mu\text{m}$  (G. Harman, 2001).

#### **2.5.1.5. Condiciones de crecimiento**

Dentro de los factores que afectan el crecimiento de *Trichoderma* se encuentran los de tipo físico y de tipo nutricional como:

##### **2.5.1.5.1. Fototrofia**

La mayoría de especies del género *Trichoderma* son fotosensibles, puesto que presentan una mayor esporulación al ser expuestas a la luz. Sin embargo, cuando se someten a periodos alternados de luz y oscuridad, se favorece la colonización del hongo sobre diferentes sustratos sólidos (Domsch, Anderson, & Yersoon, 1980).

##### **2.5.1.5.2. Esporulación**

*Trichoderma* esporula fácilmente sobre muchos sustratos naturales y artificiales en un patrón concéntrico circular en respuesta a la alternación de luz diurna y oscuridad, donde los conidios se producen durante el periodo de luz. La exposición de los cultivos en agar durante 20 a 30 segundos a la luz es suficiente para inducir la esporulación. La mayor foto inducción de la conidiogénesis se obtiene con la exposición a la luz del día por 3 minutos o cerca de la radiación ultravioleta Tipo A (366nm) de 10 a 30 segundos. Además, el número total de conidios producidos es inversamente proporcional a la concentración de la fuente de carbono (Fonseca, 1998).

##### **2.5.1.5.3. Germinación**

Para su aprovechamiento el hongo emplea enzimas como amilasas,  $\alpha$ -glucosidasas, endo y exocelulasas que realizan la hidrólisis de los azúcares simples para dar inicio a la germinación en los diferentes medios de cultivo; mientras que para iniciar el proceso de infección, se debe tener en cuenta la composición química de la pared celular de los conidios (Astudillo & Blanco, 1996).

##### **2.5.1.5.4. Salinidad**

*Trichoderma* se ve inhibido en su crecimiento en altas concentraciones de cloruro de sodio (80 g/l aproximadamente), aunque tolera una concentración de 60g/l de cloruro de sodio, estas condiciones pueden ocasionar mutaciones perjudicando el proceso de conidiogénesis, al disminuir notablemente la producción de esporas (Moore, 1996).





#### **2.5.1.5.5. Potencial de hidrogeno**

*Trichoderma* tiene un rango de pH relativamente amplio para su crecimiento. Presenta crecimiento a valores de pH comprendidas entre 2,0 y 9,0 con un pH óptimo que se encuentra entre 4,0 y 7,0. A pH ácido, la asimilación de nutrientes como glucosa ejerce una influencia importante sobre el crecimiento del hongo y su posterior esporulación. Además, procesos como la germinación, se ven afectados por la escasez de nutrientes y por niveles de pH por encima de 9,0 (Domsch et al., 1980)

#### **2.5.1.5.6. Temperatura**

El rango de temperatura para el crecimiento de *Trichoderma* se encuentra entre los 10°C a los 40°C, considerándose un óptima de 25°C (Alexopoulos, Mims, & Blackwell, 1996).

#### **2.5.1.5.7. Humedad**

El contenido de humedad que favorece el crecimiento saprófito de *Trichoderma* se encuentra entre 70% y el 80%.

#### **2.5.1.6. Agentes de biocontrol**

Características del hongo *Trichoderma* sp es un habitante natural del suelo y puede vivir como saprófito o como parásito de otros hongos. Es ampliamente conocido por su conducta antagonista y se ha utilizado en numerosos experimentos de bio-control (Molina, 2006)

Molina (2006) menciona en su investigación, que es considerado un modelo con el cual estudiar el control biológico debido a que es fácil de aislar y cultivar en medios artificiales, crece rápidamente sobre muchos sustratos, afecta a un amplio rango de patógenos de plantas, actúa como parásito de otros hongos, compite también por el alimento, espacio, produce antibióticos y un complejo sistema de enzimas con propiedades antifungales y antibacteriales.

#### **2.5.1.7. Mecanismos de acción**

La importancia de *Trichoderma* en el control biológico de hongos fitopatógenos radica en que presenta los tres mecanismos de antagonismo conocidos como: parasitismo, antibiosis y competencia (Molina, 2006).

Infante et al. (2008) definen, así mismo, tiene el conocimiento profundo de los mecanismos de acción que pueden presentar los diferentes aislamientos de *Trichoderma*.



Este conocimiento es vital desde el punto de vista práctico, debido a que permite una adecuada y mejor selección de aislamientos con mayor potencialidad para el control de diferentes fitopatógenos. Mientras más modos de acción estén presentes en un aislamiento, mayor será la eficacia del mismo en el control del fitopatógeno, y por ende, menor el daño que puede causarle al cultivo.

*Trichoderma* como hongo antagonista puede actuar por competencia de nutrientes y espacio, producción de metabolitos secundarios anti fúngicos; generación de enzimas hidrolíticas, micoparasitismo, y producción de sustancias promotoras de crecimiento (G. Harman et al., 2009).

#### **2.5.1.7.1. Parasitismo**

Este término, así como hiperparasitismo, micoparasitismo y parasitismo directo, se usan para referirse a un hongo parasitando a otro. Este mecanismo abarca diferentes interacciones y consiste en que el hongo antagonista enrolla y penetra el micelio del patógeno y las hifas crecen y se desarrollan dentro de las hifas huésped, provocando la pérdida de protoplasma, dejando solo células vacías; durante este proceso el parásito forma diferentes estructuras como abrazaderas, ganchos o apresorios que le permiten adherirse y provocar lisis y huecos en las células del patógeno. Desde 1932 se reportó a *Trichoderma* sp. como micoparasito de *R. solani*, y a partir de entonces se ha observado su parasitismo en numerosos hongos fitopatógenos, Liu y Baker (1980) citados por (Díaz, 1994),

Por los resultados que se han obtenido hasta el momento, se ha llegado a la conclusión que la producción del factor inhibidor en *Trichoderma* depende más del aislamiento que de la propia especie. Aspecto este, que reafirma una vez más la búsqueda constante de nuevos aislamientos de este antagonista (Díaz, 1994).

#### **2.5.1.7.2. Antibiosis**

Consiste en la producción y liberación de sustancias químicas por parte de los antagonistas hacia su medio ambiente, ejerciendo un efecto adverso sobre otros microorganismos. Estas sustancias pueden ser volátiles o no volátiles e incluyen antibióticos y enzimas que afectan o inhiben el crecimiento, desarrollo o reproducción de patógenos de plantas, *Trichoderma* sp. produce sustancias tales como: Trichordermina, Dermadina, Sequisterpeno, Suzukacillina, Alamethicina, Trichotoxina y Acetaldehído, todas con propiedades antifungosas y antibacteriales; así como las enzimas B-1,3



glucanasa, quitinasa y celulasa los cuales facilitan la habilidad del antagonista para atacar un amplio rango de patógenos ejerciendo su efecto sobre las paredes celulares (Molina, 2006).

#### **2.5.1.7.3. Competencia**

Este mecanismo se presenta cuando existe demanda de dos o más microorganismos por un mismo recurso. Consiste en el efecto adverso que ejerce un organismo sobre otro, debido al uso o eliminación de algunos recursos del ambiente, como nutrientes, oxígeno y espacio. La competencia entre los microorganismos es uno de los factores más importantes en la determinación de la densidad de población de un organismo en la naturaleza. La presencia de *Trichoderma harzianum* en suelos cultivados y no cultivados en todo el mundo demuestra que es un excelente competidor por espacio y recursos alimenticios (Molina, 2006).

#### **2.5.1.8. Estimulante de las defensas de la planta**

El hongo *Trichoderma harzianum* induce a la planta por medio de sustancias por él secretadas a producir fitoalexinas a las cuales son sensibles algunos patógenos. Las fitoalexinas son producidas en forma natural por la planta como respuestas a heridas, tal es el caso de la cumarina que actúa como una defensa de la planta contra animales. Otros productos son los formados cuando se produce la invasión de raíces u otros órganos por hongos como el orquinol, la trifolirina o la isocumarina, las que hipotéticamente actúan en forma comparable a los anticuerpos en los animales (Romo, 2000).

#### **2.5.1.9. Comparación del control químico y el control biológico**

G. Harman et al. (2009) indica la principal ventaja del control biológico sobre el control químico está en la ausencia de residuos químicos sobre las partes comestibles de los cultivos, así mismo aminora el daño al medio ambiente por la falta de químicos persistentes.

A pesar de que no se reflejan diferencias significativas entre el control químico y biológico al contrarrestar un patógeno y disminuir a la enfermedad, hace falta evaluar las ventajas que conlleva el uso del control biológico sobre el control químico, estas pueden ser:

2. No dejan residuos de químicos sintéticos en el suelo.
3. El hongo biocontrolador puede colonizar el suelo, induciendo la producción y la actividad de enzimas proteolíticas.



4. Por ser un habitante natural del suelo, el registro comercial del producto puede ser más fácil que un producto químico.
5. El producto químico ha brindado buenos resultados en el control del hongo, pero no de sus cuerpos de resistencia.

#### **2.5.1.10. Producto comercial formulado con *Trichoderma* spp.**

##### **2.5.1.10.1. Producto biológico comercial**

Para el presente trabajo de investigación se adquirió dos especies reconocidas: el *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* por la SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria) PERU. Y también se proporcionó una especie aislada en el Laboratorio de Sanidad vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno.

##### **2.5.1.10.2. Propiedades físico-biológicas**

Medio: *Oriza sativa* y *Hordeum vulgare*

Color: verde, no inflamable, no corrosivo, no explosivo y ligeramente toxico.

Parasito de patógenos (hongos), produce resistencia a la planta contra patógenos, destruyen las estructuras del patógeno, vive en simbiosis con microorganismos fijadores.

##### **2.5.1.10.3. Instrucciones de uso y manejo**

**Según (Gómez, Soberanis, Tenorio, & Torres, 2013):**

- a) Preparar el agua para aplicar el hongo antagonista. Medir la dureza y acidez del agua, si los valores sobrepasan a 130 ppm y pH 7, respectivamente utilizar ablandadores para disminuir la dureza del agua y por consiguiente para el pH. Emplear un corrector de acidez.
- b) Colocar 100 ml de aceite agrícola vegetal, en cada una de las bolsas y agregar 1 litro de agua preparada. Frotar con la mano para desprender las esporas del arroz.
- c) Verter el agua en un recipiente (balde) con la ayuda de un colador, nuevamente colocar medio litro de agua en la bolsa y verter.
- d) Una vez más agregar medio litro de agua en la bolsa y verter. Repetir este proceso hasta separar por completo las esporas de arroz. Aproximadamente con 2.5 litros de agua, se logra separar las esporas del arroz. A esta solución podemos llamarle caldo de antagonistas para fines prácticos.



- e) Colocar los 2.5 litros de caldo de antagonista en una botella o balde y dejarlo a temperatura ambiente, en un lugar sombreado por un periodo de 6 horas como mínimo hasta 16 horas como máximo, tiempo suficiente para hidratar las esporas secas de los hongos.
- f) Repetir ítem, para cada una de las bolsas. Agitar la mezcla y verterla en el cilindro.
- g) Llenar el equipo de aspersión y seguir agitando cada vez que se repita esta acción.
- h) Dirigir la aspersión mojando bien la planta.
- i) El arroz que queda después del lavado, echarlo debajo de las plantas, debido a que aún conservan esporas adheridas, servirán para eliminar enfermedades radiculares.
- j) En casos de no contar con cilindros de 200 litros se sugieren las siguientes unidades por mochilas:
  - En mochilas de 15 litros, primero agregar 375 mililitros del caldo preparado y completar con agua los 20 litros.
  - En mochilas de 20 litros, primero agregar 500 mililitros del caldo preparado y complementar con agua los 20 litros.

#### **2.5.1.10.4. Precauciones**

Los hongos antagonistas no son tóxicos para los seres humanos, animales o plantas, pero algunos son muy polvorientos por lo que podrían causar alergias a personas muy sensibles. Para su preparación y aplicación se deben tener ciertas precauciones (Gómez et al., 2013):

- Preparar la solución bajo sombra, nunca a pleno sol.
- Para realizar el lavado del arroz, usar guantes y mascarilla y anteojos si se dispone.
- Para las aplicaciones, es recomendable usar mascarilla, guantes, usar sombrero y anteojos para protegerse los ojos.
- Evitar todo lo contacto innecesario con el producto, no ingerirlo, tampoco inhalarlo.
- No fumar o comer durante la manipulación del producto biológico.
- Lavarse y cambiar de ropa después del trabajo.

#### **2.5.1.10.5. Principales ventajas agrícolas de *Trichoderma***

- Control eficaz de enfermedades de plantas
- Posee un amplio rango de acción



- Se propaga rápidamente en el suelo, aumentando sus poblaciones y ejerciendo control duradero sobre hongos fitopatógenos.
- Ayuda a descomponer la materia orgánica haciendo que los nutrientes se conviertan en formas disponibles para las plantas, teniendo un efecto indirecto en la nutrición el cultivo.
- Estimula el crecimiento de los cultivos, ya que poseen metabolitos que promueven los procesos de desarrollo de las plantas.
- Se aplica al compostaje o materia orgánica en descomposición para acelerar el proceso de maduración de estos materiales, los que contendrán el hongo cumpliendo su función de biofungicida.
- Favorece la proliferación de organismos benéficos en el suelo, como otros hongos antagonistas.
- No necesita de plazo de seguridad para recolección de la cosecha.
- Preserva el medio ambiente al disminuir es uso de fungicidas.
- Previene enfermedades dando protección a la raíz y al follaje.
- Mejora la nutrición y la absorción de agua al promover el crecimiento de raíces y pelos absorbentes.
- Tiene acción como biodegradante de productos tóxicos
- Mayor seguridad en relación a los productos químicos
- No se acumulan en la cadena alimenticia
- Su persistencia y multiplicación evitan aplicaciones repetitivas
- Raramente desarrollan resistencia (Gómez et al., 2013).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

El presente trabajo de investigación se desarrolló, en el distrito de Chucuito, de la provincia de Puno, en el Departamento de Puno en los meses de noviembre a mayo del 2018 y en el Mega Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional del Altiplano Puno.

##### 3.1.1. Ubicación geográfica

En la Figura 5 se observa la ubicación geográfica del distrito de Chucuito que está ubicada al Sur del Departamento de Puno, en la vertiente oriental de la cordillera de los andes. Con su Capital Chucuito que se ubica entre la coordenada  $14^{\circ}04'07''$  de latitud sur y  $70^{\circ}25'53''$ , ubicándose además su capital a 3 623 msnm.

##### Limite

Por el Este: con el Lago Titicaca.

Por el Oeste: con el distrito de Laraqueri.

Por el Norte: Puno.

Por el Sur: con el distrito de Platería



**Figura 5.** Mapa de ubicación del trabajo de investigación en el distrito de Chucuito.



### 3.1.2. Ubicación política

Departamento : Puno

Provincia : Puno

Distrito : Chucuito

## 3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

### 3.2.1. Material genético vegetal

Semillas de haba de la variedad Blanca Gigante de Copacabana, producida en las campañas 2016 – 2017 provenientes de la zona de YUNGUYO.

### 3.2.2. Material patógeno de *Botrytis fabae* Sard.

El patógeno *Botrytis fabae* ocasiona la enfermedad “Mancha chocolate” los síntomas se manifiesta por el haz de la hoja, y se caracteriza por la formación de pequeñas manchas de color marrón rojizo, estas lesiones por lo general son circulares o algo irregulares cuando dos o más manchas se fusionan.

### 3.2.3. Material genético biocontrolador

#### 2.5.1.11. Cepas de *Trichoderma* spp

Se utilizaron las cepas de *Trichoderma* spp que fueron proporcionados por SENASA Puno (*Trichodermas* comerciales *Harzianum* y *viride*), y se utilizó un aislamiento nativo (*Trichoderma* T2) aislado en trabajo previo por el laboratorio de fitopatología de la Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica, estos hongos fueron colectados a partir de hojas, tallos y rizosfera de una planta, y actualmente se encuentran conservados a -10°C en una solución de glicerol al 2% como se observa en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Procedencia de cepas de *Trichoderma* spp.

N°	CEPA	TIPO	Órgano	Planta	Región
1	<i>T. Harzianum</i>	Comercial	Hojas	Algodón	Ica
2	<i>T. viride</i>	Comercial	Hojas	Algodón	Ica
3	T.n(2)	Nativo	Hojas	Quinua	Puno

**T.n (2) = *Trichoderma* nativo (2) aislado de hojas de quinua.**

### 3.2.4. MATERIALES E INSUMOS

#### 2.5.1.12. Equipos de laboratorio

➤ Microscopio





- Estereoscopio
- Horno microonda
- Autoclave
- Cámara de flujo laminar
- Baño María
- Agitador

#### **2.5.1.13. Materiales de laboratorio**

- Placas Petri
- Matraz (50, 100 ml)
- Vaso precipitado (250, 500 y 1000 ml)
- Vagueta (50 ml)
- Balanza analítica
- Papel aluminio
- Algodón
- Alcohol (70%)
- Equipo de disección
- Mecheros
- Botellas de vidrio (500ml)
- Wincha métrica (150 cm)
- Libreta de campo
- Lápiz, lapicero
- Papel bond
- Cinta adhesiva
- Cámara fotográfica
- Tinta de azul de Lactofenol



#### 2.5.1.14. Insumos

- Sustrato de arroz
- Sustrato de cebada
- Bicarbonato de sodio
- Bolsas de plástico (8 x 12)
- Agua destilada

### 3.3. METODOLOGÍA

Descripción de métodos por objetivos específicos:

#### 3.3.1. CAPACIDAD ANTAGONICA DE *Trichoderma* spp. HACIA *Botrytis fabae* EN CONDICIONES *IN VITRO*.

Para determinar la capacidad antagónica se trabajó en el Laboratorio de Sanidad vegetal de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, donde se realizó dos pruebas de antagonismo (micoparasitismo y antibiosis). Y se siguieron los siguientes pasos:

##### 3.3.1.1. Recolección de muestras de hojas de haba con *Botrytis fabae*.

Se recolectaron muestras de hojas de haba con síntomas de “mancha chocolate” del mismo campo de investigación del distrito de Chucuito. Una vez que se obtuvo el material se transportó en bolsas plásticas; luego el material se trasladó al laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional de Puno, para su respectivo análisis. Estas muestras de hojas enfermas se colocaron en cámara húmeda por 48 horas para luego realizar el aislamiento directo del patógeno.

##### 3.3.1.2. Identificación, aislamiento e incremento de *Botrytis fabae*

El aislamiento se realizó a partir de hojas de haba infectadas con *Botrytis fabae* (Mancha chocolate), obtenidas de las plantas enfermas del cultivo de haba. Primeramente, se obtuvo trozos de hojas, se colocaron a una solución de hipoclorito de sodio al 2% por 5 min, luego en alcohol de 70% por 30 segundos, luego se realizó tres enjuagues con agua destilada estéril, los trozos de hojas se colocaron sobre el papel absorbente estéril para su secado. Una vez secas, se realizó cortes de diferentes tamaños con un bisturí estéril en las secciones que presenta la enfermedad. Posteriormente fueron sembrados en placas Petri en medio de cultivo PSA (Papa Sacarosa Agar) e incubada a 25°C por 7 días.



Sin antes realizar la identificación de este hongo *Botrytis fabae*, utilizando las láminas porta y cubre objetos así mismo la cinta adhesiva transparente y tinta de azul de Lactofenol (Arias & Piñeros, 2008; Lopez, Hernandez, & Colin, 2013). Así también usamos las claves taxonómicas en las que se tomó en cuenta tanto las características macroscópicas como microscópicas y en especial las estructuras reproductivas, utilizando como referencia la literatura (Alexopoulos et al., 1996).

Y para el incremento del inoculo de *Botrytis fabae* se preparó medio de cultivo a base de semillas de haba HSA (Haba Sacarosa Agar) a continuación se explica el procedimiento:

Para 1 litro de preparación, en un recipiente se incorporó 250 g. de semillas de haba triturada en un mortero hasta punto de puré, y luego se dejó hervir con 500 ml de agua destilada por 30 min, en otro recipiente se procedió a diluir 19 g de agar con 500 ml de agua destilada luego se mezcló el caldo de semillas de haba triturada, agar diluido y 10 g de sacarosa y se procedió a distribuirlos en matraz. Posteriormente se autoclavó a una temperatura de 120°C y a 15 lbs. de presión por espacio de 20 min y finalmente se plaqueó el medio en placas Petri aplicando antes el cloranfenicol, esto se utiliza para prevenir la contaminación del medio de cultivo.

### **3.3.1.3. Pruebas de Antagonismo *In vitro***

Para determinar la capacidad antagonista de los hongos *Trichoderma spp.*, sobre el hongo fitopatógeno *Botrytis fabae* se aplicó un diseño completamente al azar, con tres repeticiones para cada uno de los tratamientos. La unidad experimental correspondió a la técnica de cultivos duales en placas Petri usando el medio de cultivo Papa Dextrosa Agra (PDA).

Primeramente, las placas se dividieron en dos secciones para realizar esta prueba, en tres placas Petri con PDA se sembró a 5mm del extremo de la caja Petri el hongo fitopatógeno *Botrytis fabae* de 7 días de crecimiento y se incubó a 28°C durante tres días para que este inicie su crecimiento micelial (Condori, 2016). Transcurrido este periodo de tiempo se observó un buen desarrollo del hongo, se sembró al lado opuesto, a una distancia de 7 cm, un disco de 5 mm de diámetro de un cultivo de aislamiento de *Trichoderma spp.* de 5 días de crecimiento de esta manera se dejó a las cepas, también como testigo se sembró de manera individual al hongo *Botrytis fabae*, todas las placas Petri se incubaron a una temperatura de 28°C durante una semana hasta la toma de datos. Se efectuaron

mediciones cada 24 horas para constar el crecimiento de hongo patógeno y antagonista (Hoyos & Duque, 2008).

Para ambos casos en cada ensayo se evaluaron los criterios de porcentaje de inhibición del crecimiento micelial del patógeno (Royse & Ries, 1978). Después de sembrar el antagonista en las cajas, la actividad de los aislamientos de *Trichoderma* spp se clasificaron de acuerdo con el grado basado en una escala de 1 a 5 en la cual 1 es el 100% de micoparasitismo y 5 es 0% de micoparasitismo. Un aislamiento se considera antagonista contra el patógeno si el promedio es  $\geq 3$ . A un tratamiento que obtenga un promedio entre 2 y 3 no se le asigna clasificación según (Hoyos & Duque, 2008).

En la Tabla 3 y 4, se observa la descripción de las cepas de *Trichoderma* spp y la descripción del enfrentamiento dual de los tratamientos en *In vitro*.

**Tabla 3.** Cepas de *Trichoderma* spp para el control de *Botrytis fabae*.

Cepas del hongo antagonista	Tratamiento
<i>Trichoderma harzianum</i>	T1
<i>Trichoderma viride</i>	T2
<i>Trichoderma</i> nativo (2)	T3

**Tabla 4.** Descripción de los tratamientos en *In vitro*.

Tratamiento	Codigo	Descripción
1	T1B	<i>T. harzianum</i> comercial vs <i>Botrytis fabae</i>
2	T2B	<i>T. viride</i> comercial vs <i>Botrytis fabae</i>
3	T3B	<i>T. nativo</i> vs <i>Botrytis fabae</i>
4	T	<i>Botrytis fabae</i>

B: *Botrytis fabae*

#### - **Enfrentamiento dual**

Según la metodología de B. A.; Bailey et al. (2008) para esta prueba, se realizó la prueba de enfrentamiento dual, en una placa Petri con medio de cultivo PDA se colocó discos de patógeno (*Botrytis fabae*) de 5mm a un extremo de la placa e incubado durante tres días a 25°C. Posteriormente se extrajo un disco de 5mm de diámetro de inóculo de una colonia joven de cepas de hongos antagonistas y fue enfrentado por el patógeno en una placa Petri

(9 cm de diámetro) se realizó 3 repeticiones (placas Petri) por cada cepa de hongos antagonísticos, las placas fueron incubadas a 25°C. Por cada tratamiento (cepa de hongo antagonístico) al cabo de trece días de incubación, con la ayuda de un sacabocado de 5mm de diámetro se extrajo diez discos cerca al punto de inóculo del patógeno y fueron localizados en placas conteniendo medio PSA e incubados a 25°C y se observó el crecimiento del hongo antagonístico o el patógeno, se determinó el porcentaje de colonización del hongo antagonístico (Condori, 2016).

- **Reaislamiento de *Botrytis fabae***

Asimismo, se realizó el reaislamiento de placas colonizadas por *Botrytis fabae* y por cepas de hongos antagonísticos *Trichoderma* nativo, *T. harzianum* y *T. viride*. Para ver la capacidad antagonística de las cepas de *Trichoderma*. Como se observa en la Figura 6.



**Figura 6.** Reaislamiento de *Botrytis fabae* de cultivos colonizados por cepas de *Trichoderma*. Laboratorio de Sanidad Vegetal UNA-PUNO.

- **Antibiosis**

Para esta prueba se produjo metabolitos secundarios solubles inhibitorios de las tres cepas (*Trichoderma harzianum*, *viride* y nativo) (Guadarrama et al., 2006). Estos se sembraron en placas Petri conteniendo PSA e incubadas a 25 °C para promover la esporulación. A partir de colonias de 5 días de edad, se obtuvieron 4 discos de 5 mm de diámetro de medio de PSA más colonias del hongo antagonístico, estos discos fueron depositados en matraces de 100 ml con caldo de papa (60 ml). Los matraces fueron agitados 110 rpm durante 7 días en un agitador electrónico. Posteriormente, el micelio fue removido por filtración, luego se extrajo 15 ml del filtrado y se colocó en baño maría a 90 ° C por una hora. Después se agregó PSA (2% de azúcar) de igual volumen y se transfirieron en placas Petri

de 55 X 15 mm (Condori, 2016). Asimismo, en el centro de las placas se inocularon 5 mm de micelio del patógeno *Botrytis fabae* de una edad de crecimiento de 10 a 15 días respectivamente. Se realizó 3 repeticiones por filtrado y las placas fueron incubadas a temperaturas de 25 °C. para los controles se preparó solo con el filtrado del caldo correspondiente sin inocular los antagonistas (Figura 7). La inhibición del crecimiento micelial de *Botrytis fabae* se registró como entre la diferencia entre la media del crecimiento radial en la presencia y ausencia del filtrado fungal (Figura 8 y 9).



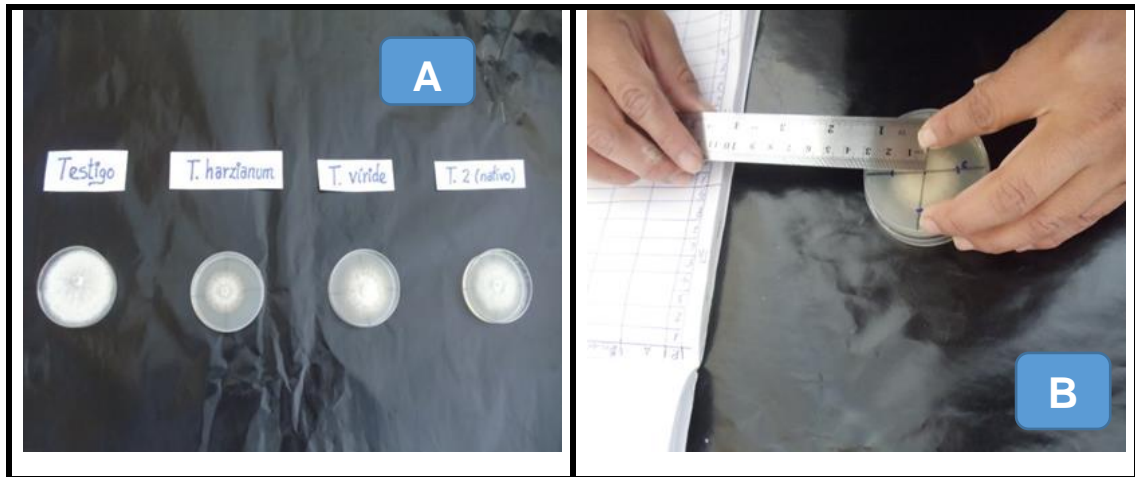




**Figura 7.** Prueba de antibiosis. **A)** Agitación a 110 rpm. **B)** Filtrado. **C)** Baño maría **D)** Baño maría de los metabolitos secundarios de los hongos antagonicos. **E)** Luego del Baño maría se transfirió de un tubo a otro tubo centrifuga y así plaquear. **F)** Plaqueado de los metabolitos secundarios con medio PSA. **G)** Siembra de *Botrytis fabae*. **H)** Sellado e incubados a temperatura a 25°C.



**Figura 8.** Capacidad antibiótica del *Trichoderma* spp. frente a *Botrytis fabae*.



**Figura 9.** Método de Evaluación. **A)** Comparación de la capacidad antibiótica entre las 3 especies *T. harzianum*, *T. viride* y *T. nativo* 2. **B)** Medición del crecimiento radial (cm) de *Botrytis fabae* en presencia de los controladores (Diámetro del disco = 0,5 cm).

Para calcular los porcentajes de inhibición micelial se empleó la fórmula utilizada por (Fakhrunnisa & Ghaffar, 2006).

$$I = \frac{C - T}{C} * 100$$

Donde:

I = Porcentaje de inhibición en el crecimiento del micelio (%)

C= Crecimiento radial del patógeno sobre el lado opuesto, evaluado en la caja Petri (cm)

T = Crecimiento radial del patógeno en enfrentamiento (cm).

### **3.3.2. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ESPECIES DE *Trichoderma* spp. Y MEJORA EN EL RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE HABA.**

Se trabajó en dos fases:

#### **a. Fase laboratorio:**

##### **3.3.2.2. Reactivación e identificación de cepas de *Trichoderma* spp.**

Las cepas seleccionados de *Trichoderma* spp., se reactivó en placas petri con papa, sacarosa, agar (PSA) e inoculadas por cinco días a 25 °C, a partir de estos cultivos fueron repicados a otras placas con medio de PSA para multiplicar las cepas de *Trichoderma*





spp., con la finalidad de inducir la producción de estructuras de reproducción y propagar en sustrato de arroz.

Para la identificación de estos hongos *Trichoderma* spp. se realizó el mismo procedimiento se usó las láminas porta y cubre objetos así mismo la cinta adhesiva transparente y tinta de azul de Lactofenol (Arias & Piñeros, 2008; Lopez et al., 2013). Así también usamos las claves taxonómicas en las que se tomó en cuenta tanto las características macroscópicas como microscópicas y en especial las estructuras reproductivas, utilizando como referencia la literatura (Alexopoulos et al., 1996).

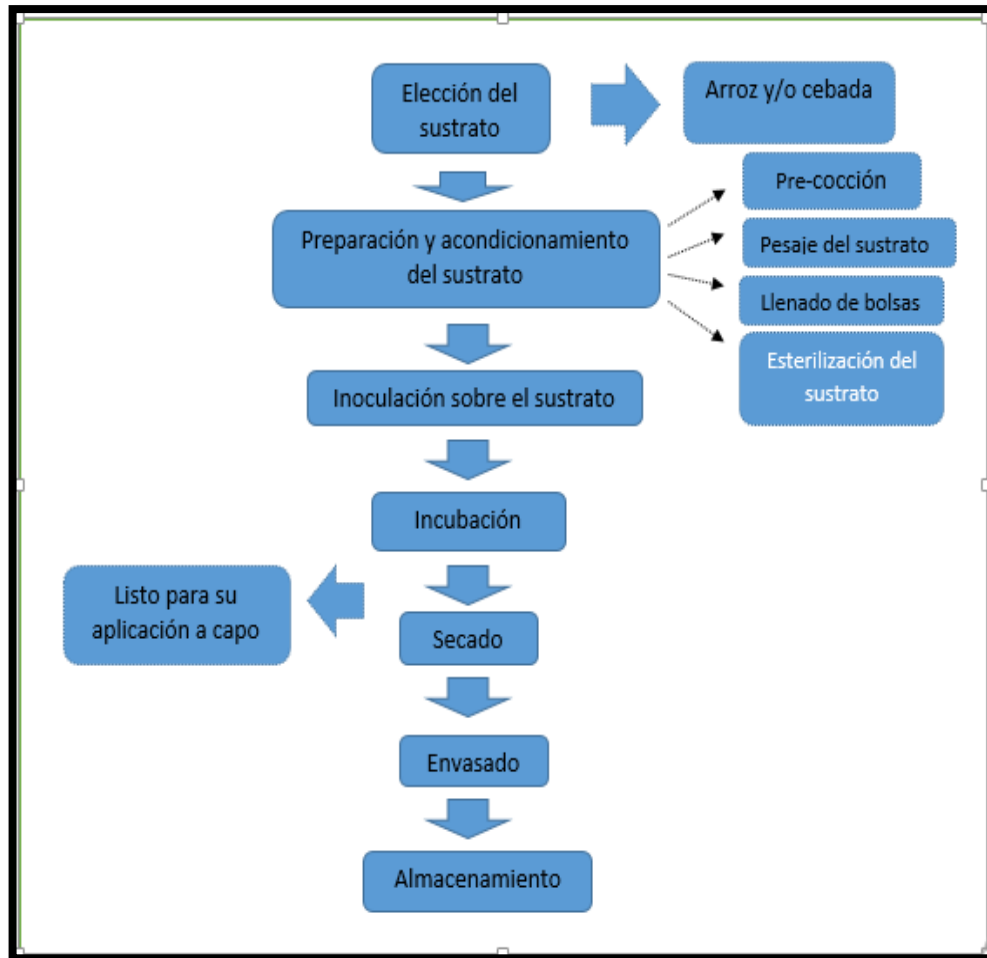
### **3.3.2.3. Producción de cepas de *Trichoderma* spp. en sustrato de cebada**

A partir de cultivos jóvenes se procedió a realizar repiques de cada cepa en medio PSA (Papa Sacarosa Agar) y fueron incubados a 25°C bajo luz artificial durante una semana, con la finalidad de inducir la producción de estructuras de reproducción, para luego infestar el sustrato de cebada (Leon, 2016).



**Figura 10.** Reactivación de cepas *Trichoderma* spp. **A)** Plaqueo con PSA. **B)** *Trichoderma* comercial adquirida por la SENASA. **C)** Siembra de cepas de *Trichoderma* sp en medio PSA. **D)** Sellada la placa para luego incubarla a una T° de 25°C por 7 días.

Previo a la infestación, se preparó bolsas de polipropileno de 6x12 pulgadas conteniendo 400g del sustrato, en donde se adicionó carbonato de calcio al 0,45% en 120ml de agua destilada estéril (ADE) por cada bolsa, con la finalidad de estimular la esporulación de las conidias; luego se esterilizó a 120 °C, a 15 lbs de presión durante 20 minutos; finalmente, se introdujo en el sustrato medio de cultivo PSA colonizado con *Trichoderma* spp ( la mitad de una placa Petri) y se dejó en incubación bajo luz durante 15 días a temperatura ambiente 17 °C. En la Figura 12 se muestra los resultados de esporulación de conidias en el sustrato de arroz.



**Figura 11.** Diagrama de proceso de producción de *Trichoderma* spp. (Sivila & Álvarez, 2013).



**Figura 12.** Producción de esporas de *Trichoderma* spp. en sustrato de cebada.



### - **Determinación de la producción de conidios**

Para determinar el número de conidios de *Trichoderma* presentes por cada gramo de sustrato, se prepararon diluciones seriadas de  $10^{-3}$ , para lo cual se pesó 1 gramo de sustrato de arroz colonizados con cepas de *Trichoderma* sp, seguidamente se realizó tres diluciones seriadas, se colocó en tubos de ensayo con 9ml de agua destilada estéril luego se agito para que se desprendan las conidias del arroz, enseguida se sacó con una jeringa de 5ml, 1ml de la suspensión de conidias para transferir a otro tubo de ensayo con 9ml de agua destilada estéril, y se observó con 1ml de líquido para su respectivo conteo en el hematocitómetro, se determina por conteo directo en cámara de Neubauer, se cuenta el número de los cuatro cuadrantes secundarios (CS) esquinados y el central de la cámara (CC) a partir del conteo se estandarizo la suspensión de conidias para realizar la aplicación foliar. Para ello se empleó la ecuación para conocer el número de conidios por ml. (Alvarez & Huayta, 2000).

Ecuación 1:

$$\text{Suma de las cinco celdas} \times 50\,000 = \frac{\text{conidios}}{\text{ml}}$$

Se determinó el número de conidios por gramo con (1)

$$\frac{CM \times V}{G} = GM$$

Donde:

CM: conidios por mililitro de solución

V : cantidad de mililitros empleados en la solución

G : cantidad de gramos empleados en la solución

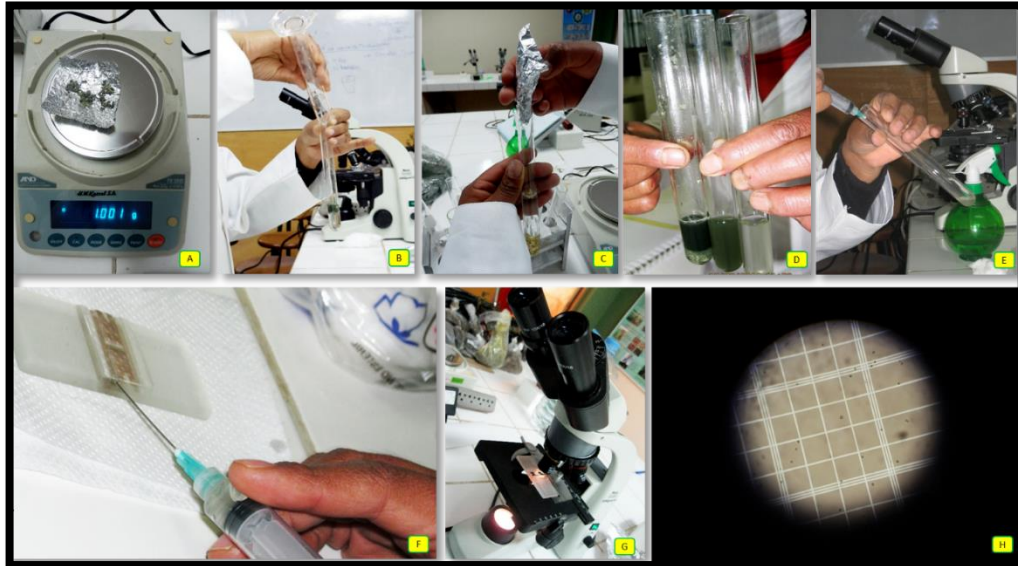
GM: conidios por gramo de muestra

### - **Determinación de la viabilidad de conidios**

En la determinación de la viabilidad de conidios, se determinó la cantidad de conidios vivos por ml de solución, a través de su germinación. Se empleó el método de diluciones seriadas. La tercera dilución, desde la solución madre, se sembró en portaobjetos preparados con medio de cultivo PDA. A las 24 horas se contaron los conidios germinados con un microscopio binocular a 40 X y la cámara de Neubauer. Se calculó el porcentaje de germinación de acuerdo al número de conidios que germinaron del total de

los conidios presentes, en los 5 cuadrantes contados de la cámara Neubauer (Alvarez & Huayta, 2000).

A partir de estos datos se estandarizó el inoculó a estas 3 concentraciones de  $1 \times 10^8$  ufc. ml-1,  $1 \times 10^7$  ufc. ml-1 y  $1 \times 10^6$  ufc. ml-1.



**Figura 13.** Conteo de conidias de *Trichoderma* spp. **A)** Peso de arroz de 1g. **B)** Tubo de ensayo con agua destilada de 9ml para el lavado de arroz colonizado con *Trichoderma* spp. **C)** Dilución madre de *Trichoderma* spp. **D)** Suspensión de conidias de *Trichoderma* spp. **E)** Suspensión de *Trichoderma* spp. para realizar el conteo de conidias **F)** Suspensión de conidias de *Trichoderma* spp. en el hematómetro **G)** y **H)** Conteo de conidias (Ortiz, 2016).

#### b. Fase campo

#### 3.3.2.4. CAPACIDAD DE BIOCONTROL DE ESPECIES DE *Trichoderma* spp. PARA MANCHA CHOCOLATE (*Botrytis fabae*) EN EL DISTRITO DE CHUCUITO

#### LABORES CULTURALES O AGRONÓMICAS

##### - Preparación del terreno

Primero se eliminó todo tipo de materia extraña del suelo, las cuales fueron: malezas, plásticos, piedras y restos de cosecha que anteriormente se realizó, entre otros. La preparación del terreno se realizó con dos pasadas de rastra en forma cruzada a una profundidad de 20 cm., con lo que el terreno quedó mullido y listo para realizar los surcos

lo cual se trabajó con un surcador (tractor). Y así mismo se realizó un muestreo de suelo en el campo experimental.

- **Análisis del suelo experimental**

Para la determinación de las características físicas y químicas del suelo del lugar de campo, se obtuvo 1kg de muestra de suelo a una profundidad de 20 cm a partir de submuestras de diferentes puntos de manera zigzag y posteriormente se llevó al laboratorio de “Suelo y Agua” del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) de la Estación Experimental Agraria Illpa - Salcedo – Puno.

Donde se realizó dos análisis de suelo: a) Análisis de suelo Inicial y b) Análisis de suelo Final, para luego comparar los dos resultados y además conocer si hubo o no incremento de porcentajes de N, P, K y materia orgánica, según al uso de estos microorganismos benéficos (*Trichoderma* spp.).

**Tabla 5.** Resultados del Análisis de suelo Inicial (I) de fertilidad de suelo del lugar de campo en el distrito de Chucuito.

<b>COD. USUARIO</b>	<b>Chucuito</b>	
<b>Cod. Lab.</b>	<b>310M4</b>	
ANALISIS MECANICO	Arena %	40
	Arcilla %	12
	Limo %	48
	Textura	F
N %		0.10
P (ppm)		9.09
K (ppm)		1400.40
Suelo: Agua 1:2:5	pH	6.75
	C.E. mmhos/cm	0.212
M.O.		1.93
Al (meq/100gr)		0.00
CO <sub>3</sub> Ca %		0.00

Nota: Fuente: Instituto Nacional de Innovación Agraria INIA. Laboratorio de Análisis. Estación Experimental: Agraria Illpa Puno. Anexo Salcedo.

- **Interpretación del análisis del suelo del cultivo de haba en Chucuito:**

De acuerdo a la tabla 3 de interpretación de suelos (Laboratorio de Análisis de Aguas y Suelos – INIA), se trata de un suelo de textura, "Franco (F)", posee un pH de 6.75 "Neutro"; en materia orgánica con 1.93 % "Medio"; el nitrógeno total con 0.10 % se clasifica como "medio" ; el fósforo con 9.03 ppm se clasifica como "medio; y el potasio con 1400.40 ppm se clasifica como "Alto; respecto a la conductividad eléctrica con 0.212 mmhos/cm se clasifica como "Muy ligeramente salino, sin presencia de aluminio y ausencia de carbonatos. En conclusión se considera que si es apto para la producción de haba, además tomamos en cuenta que en la anterior campaña se cosecho avena respetando la rotación de cultivos.

En la Tabla 6 se muestra los resultados del Análisis de suelo Final, esto se obtuvo después de la cosecha del cultivo.

**Tabla 6.** Resultados del Análisis de suelo Final (F) de fertilidad de suelo del lugar de campo en el distrito de Chucuito.

<b>COD. USUARIO</b>	<b>Chucuito</b>	
<b>Cod. Lab.</b>	<b>310M4</b>	
ANALISIS MECANICO	Arena %	40
	Arcilla %	12
	Limo %	48
	Textura	F
N %		0.16
P (ppm)		11.13
K (ppm)		1661.66
Suelo: Agua 1:2:5	pH	6.75
	C.E. mmhos/cm	0.212
M.O.		3.96
Al (meq/100gr)		0.00
CO <sub>3</sub> Ca %		0.00

Nota: Fuente: Instituto Nacional de Innovación Agraria INIA. Laboratorio de Análisis. Estación Experimental: Agraria Illpa Puno. Anexo Salcedo.





- **Interpretación del análisis del suelo del cultivo de haba en Chucuito:**

De acuerdo a esta tabla de interpretación de suelos (Laboratorio de Análisis de Aguas y Suelos – INIA), se trata de un suelo de textura, "Franco (F)", posee un pH de 6.75 "Neutro"; en materia orgánica con 3.96 % "Medio"; el nitrógeno total con 0.16 % se clasifica como "medio"; el fósforo con 11.13 ppm se clasifica como "medio"; y el potasio con 1661.66 ppm se clasifica como "Alto"; respecto a la conductividad eléctrica con 0.212 mmhos/cm se clasifica como "Muy ligeramente salino", sin presencia de aluminio y ausencia de carbonatos. Finalmente se comparó ambos análisis y se observa que la Tabla 6 en los porcentajes de N, P, K y en materia orgánica incrementaron comparado al primer análisis de suelo de la Tabla 5; esto quiere decir que el uso de estos microorganismos (*Trichoderma* spp.) son de gran beneficio para el suelo dando una buena fertilidad para su siguiente campaña agrícola.

- **Selección de la semilla**

Se seleccionó la semilla de haba de la variedad Blanca Gigante de Copacabana, que se adquirió de un proveedor de Yunguyo que está dedicado a la producción de haba, en un estado seco y sin problemas de daños por insectos y enfermedades.

- **Desinfección de semillas**

Se desinfecto las semillas de haba con Hipoclorito de sodio al 2% x 5 min, con el objetivo de que la semilla se colocara sin ningún problema patógeno, para luego ser trasladadas a la siembra en campo definitivo.

- **Siembra**

Se realizó la siembra de haba el 9 de noviembre del 2017, y se colocó la semilla en el fondo del surco en número de 2 a 3 semillas por golpe en forma manual, a una distancia de 50 cm entre planta y 70 cm entre surcos.

- **Aplicación de los tratamientos**

Se realizaron cuatro aplicaciones y tres evaluaciones de severidad de *B. fabae* con los diferentes tratamientos, los intervalos de tiempo fueron de 15 días, desde los primeros síntomas de la mancha chocolate en la planta, siendo la primera aplicación el 30 de diciembre del 2017 y la última el 3 de abril del 2018, a partir de la fase vegetativa de elongación de tallos.



Antes de aplicar el *Trichoderma* spp. se hizo primeramente los cálculos de acuerdo a los resultados de concentraciones obtenidas en el trabajo de investigación laboratorio para obtener el peso de sustrato con *Trichoderma* junto a la cantidad de agua sugerida por parcela (500 ml agua con esporas) y asimismo, se diluyo las concentraciones en agua, (mochila de 20 litros) asperjando en el follaje de la planta de haba, esto se aplicó en horarios de la tarde (4 a 5 pm), y en los testigos no se aplicaron ninguna dosis de *Trichoderma* spp. Se utilizó un adherente protectante, que fue aceite agrícola junto a la mezcla de agua y el sustrato de esporas de *Trichoderma*, para evitar la pérdida de la espóra por efectos de la luz o el desprendimiento de las esporas en tiempos de lluvia, cuidando siempre el horario de aplicación de dichas esporas ya que *Trichoderma* es fotosensible.

- **Descripción de los tratamientos**

Las dosis de *Trichoderma* spp. están expresadas en concentraciones de conidios.

**Tabla 7.** Distribución de los tratamientos de *Trichoderma* spp. para el control de *Botrytis fabae*.

TRATAMIENTOS	ESPECIE <i>Trichoderma</i> spp.	DOSIS
T1	<i>T. Harzianum</i>	$1 \times 10^8$ conidios/ cc
T2	<i>T. Harzianum</i>	$1 \times 10^7$ conidios/ cc
T3	<i>T. Harzianum</i>	$1 \times 10^6$ conidios/ cc
T5	Testigo	Sin concentración
T5	<i>T. viride</i>	$1 \times 10^8$ conidios/ cc
T6	<i>T. viride</i>	$1 \times 10^7$ conidios/ cc
T7	<i>T. viride</i>	$1 \times 10^6$ conidios/ cc
T10	Testigo	Sin concentración
T9	T. nativo	$1 \times 10^8$ conidios/ cc
T10	T. nativo	$1 \times 10^7$ conidios/ cc
T11	T. nativo	$1 \times 10^6$ conidios/ cc
T15	Testigo	Sin concentración

FUENTE: Elaboración propia.

- **Deshierbo y aporque**

Se realizó de forma manual, el 25 diciembre del 2017, utilizando algunas herramientas agrícolas como piquillo y azadón. Esta labor se efectuó a los 25 días después de la siembra, cuando el cultivo tenía aproximadamente 35 cm de altura. De igual modo se hizo el aporque el mismo día, evitando de esta manera la competencia entre nutrientes y luz solar, mejorando así las condiciones del experimento.



**Figura 14.** Deshierbo y aporque del cultivo de haba –Chucuito.

- **Riego**

No se realizó ningún tipo de riego ya que el cultivo se estableció en época de lluvias. A pesar de que hubo algunos días de sequía.

- **Cosecha**

Se realizó al finalizar la etapa fenológica de maduración fisiológica del cultivo el 18 de mayo del 2018.



*Figura 15. Cosecha y emparve del cultivo de haba-Chucuito.*



### **3.4. ANÁLISIS DE DATOS**

#### **3.4.1. MEDICIÓN DEL CRECIMIENTO MICELIAL Y ENFRENTAMIENTOS DUALES en *In vitro***

- Porcentaje de colonización (%) de los hongos antagonicos hacia el patógeno.
- Porcentaje de inhibición micelial (%) del patógeno *B. fabae* en presencia de los hongos antagonicos.

#### **3.4.2. PARAMETROS EVALUADOS EN CAMPO**

- **Altura de planta (cm)**

Con ayuda de una cinta métrica se medirá desde la base hasta el ápice estadio principal 8; Meier (2001)).

- **Numero de ramas**

Se contó el número de ramas al azar (10 plantas) de cada parcela experimental al momento de la cosecha (estadio principal 7; Meier (2001)).

- **Numero de granos por vaina**

Se contó el número de granos producidos por vaina al azar (10 plantas) de cada parcela experimental al momento de la cosecha (estadio principal 7; Meier (2001)).

- **Peso de vainas(g)**

Se pesaron las vainas procedentes de 10 plantas tomadas al azar por parcela experimental y luego se obtuvo el promedio, se empleó una balanza al momento de la cosecha.

- **Rendimiento (kg/ha)**

Las vainas fueron pesadas y luego transformadas a kg/ha con una balanza, cuando finalizo el ciclo fenológico de la planta (121 días) en el cultivo de haba, considerando las dosis correspondientes a cada tratamiento y repetición.

#### **3.4.3. SEVERIDAD DE LA MANCHA CHOCOLATE**

- **Evaluación de la severidad de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) del haba.**

Se realizaron tres evaluaciones de severidad de la enfermedad durante la campaña agrícola, la primera evaluación se realizó a los 90 días después de la siembra (dds) antes

de la primera aplicación de *Trichoderma* spp. debido a que el periodo de infección de *B. fabae* inicio tarde aproximadamente a los 80 dds y la segunda evaluación se realizó después de la tercera aplicación a los 115 días después de la siembra, y la tercera evaluación a los 135 días después de la última aplicación de *Trichoderma* spp. (Tabla 8).

**Tabla 8.** Número de evaluaciones de severidad del cultivo de haba (*Vicia faba*) Var. Blanca Gigante de Copacabana en el distrito de Chucuito.

Evaluaciones	Fase fenológica	Días después de la siembra
Primera	Floración- primeras flores abiertas.	90
Segunda	Floración- flores abiertas en 5 racimos de cada planta.	115
Tercera	Fructificación- 50% de las vainas (legumbres) han alcanzado su tamaño final.	135

Para cada evaluación, se escogió al azar 10 plantas de los tres surcos centrales por parcela y de cada planta se escogió 3 hojas al azar, una de cada tercio (superior, medio e inferior) en donde se evaluaron el porcentaje de área afectada de cada hoja usando una escala en base al porcentaje de área afectada por la enfermedad como se observa en la Figura 16. El promedio de las 3 lecturas equivale al valor de la severidad de cada planta. Para describir el desarrollo de la enfermedad a lo largo de la época del cultivo e identificar diferencias entre tratamientos se calculó el valor del área bajo la curva de progreso de la enfermedad, descrito originalmente en inglés como ‘area under disease progress curve’ (AUDPC) (Mohapatra, Mukherjee, Suriya, & Nayak, 2008), en base a mediciones de severidad. La fórmula general para el cálculo del AUDPC es:

$$AUDPC = \sum_i^{n-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} * (t_{i+1} - t_i)$$

Donde:

*n* = es el número de evaluaciones,

*y* = es la severidad

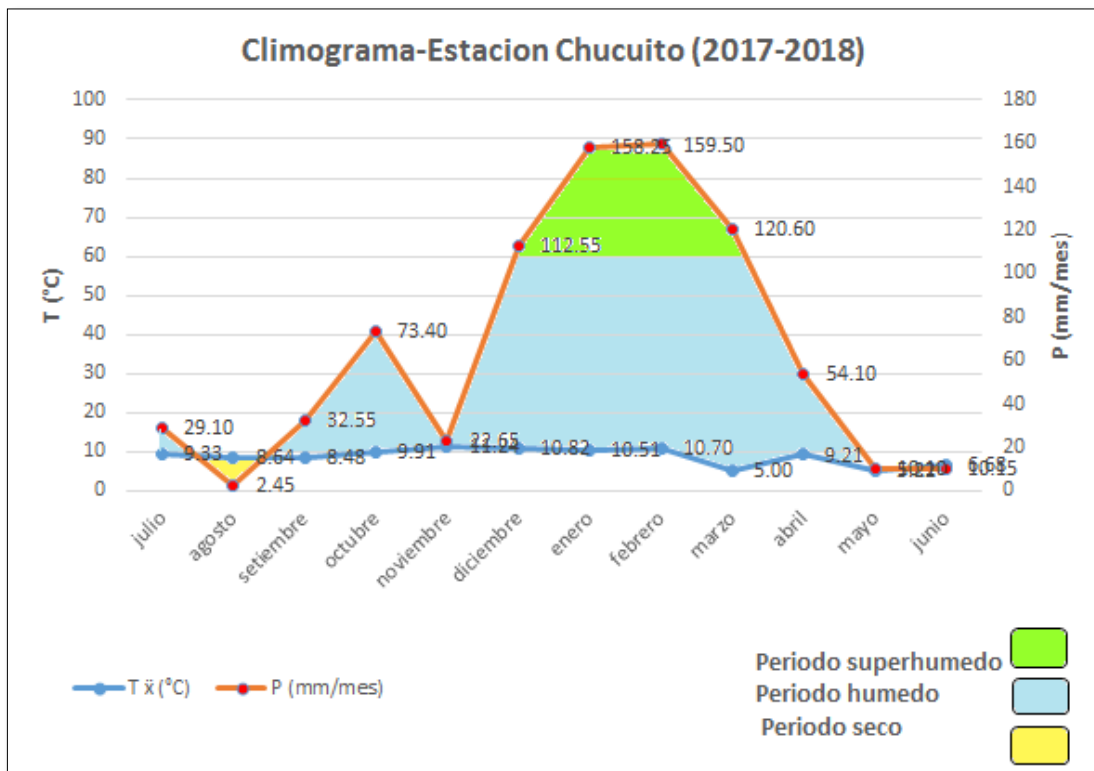
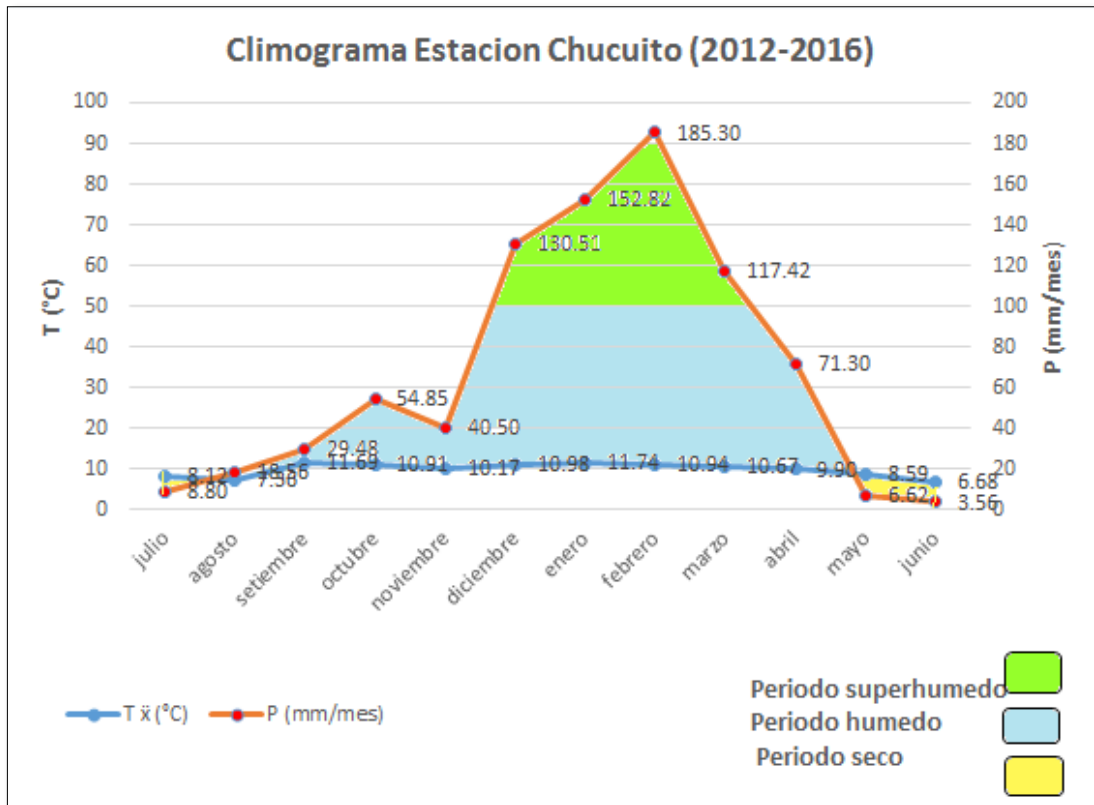
*t* = es el número de días después de la siembra en que se hace la evaluación.



**Figura 16.** Escala de crecimiento de severidad Herbas (2000) citado por Meneses (2000).

### **3.5. REGISTROS METEOROLÓGICOS DURANTE LA CAMPAÑA AGRÍCOLA**

Se consideraron datos de temperatura y precipitación los cuales fueron comparados con los últimos cinco años registrados por el Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI) de la estación Rincón Santa Cruz – Acora que es la más próxima al distrito de Chucuito (Anexo- Tabla 22, Figura17).



**Figura 17.** Promedio de precipitación (mm) y temperatura mensual (°C) del distrito de Chucuito.

Según la Figura 17, se han registrado periodos muy húmedos con precipitaciones mayores a 100 mm, comprendidos entre los meses de enero y febrero, a la vez periodos húmedos con precipitaciones menores a 100 mm entre los meses de agosto y noviembre. Asimismo, se puede observar la comparación de las precipitaciones registradas en los meses de enero y febrero del 2018 entre los registros históricos encontrándose un aumento en la precipitación lo cual es un factor influyente en el aumento de ciertas poblaciones de enfermedades como el *Botrytis* y el buen desarrollo del hongo *Trichoderma* spp.

Durante los meses abril y mayo las precipitaciones fueron menores a 100 mm, yendo al periodo seco, donde la enfermedad disminuye su desarrollo y entra a la etapa invernal en forma de micelio en restos de plantas o rastrojos de cultivos, de igual manera el *Trichoderma* mantiene su desarrollo hasta la cosecha del cultivo, teniéndose en cuenta que es un hongo comúnmente del suelo, sin embargo; las bajas temperaturas hacen que la densidad de la población del hongo antagónico disminuya, para ello, necesita condiciones favorables para aumentar su población.

### 3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

#### - *In vitro*

El diseño estadístico que se empleó para la prueba de control *In vitro* fue el diseño completamente al azar (DCA), se trabajó con 3 tratamientos y 3 repeticiones o placas, los datos se evaluaron en esta prueba en porcentaje de inhibición del crecimiento micelial radial que se categorizan en datos no paramétricos (no métricos), por lo cual, se tuvo que expresar en grados, para tal propósito se extrajo el arco seno de la raíz cuadrada de la proporción del porcentaje de inhibición, multiplicada por  $180/\pi$ , luego se analizaron utilizando el programa InfoStat/Profesional versión 1.1 (InfoStat, 2002)., realizando los análisis de varianza (ANVA), prueba de Tukey, a un nivel de significancia de 0,05.

#### - Área en campo

Los datos cuantitativos fueron analizados en un diseño de bloques completamente al azar en parcelas divididas con un arreglo factorial 3x4 igual 12.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \rho_k + (\alpha\rho)_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

**Siendo:**

$Y_{ijk}$  = Variable de respuesta medida en la  $ijk$  - ésima unidad experimental

$\mu$  = Media general





$\beta_j$  = Efecto del j - ésimo bloque

$\alpha_i$  = Efecto del i - ésimo nivel del factor A.

$(\alpha\beta)_{ij}$  = Efecto de la interacción del i-ésimo nivel del factor A con el j - ésimo bloque, que es utilizado como residuo de parcelas grandes y es representado por error(a)

$\rho_k$  = Efecto del k - ésimo nivel del factor B

$(\alpha\rho)_{ik}$  = Efecto debido a la interacción del i-ésimo nivel del factor A con el k - ésimo nivel del factor B.

$\epsilon_{ijk}$  = Error experimental asociado a  $Y_{ijk}$ , es utilizado como residuo a nivel de parcela pequeña, y es definido como: Error(b)

Asimismo los datos de Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) fueron transformados a raíz cuadrada, con dicha transformación se confirmó la normalidad y homogeneidad de varianzas como lo recomendado por Montgomery (2008).

En consecuencia estos datos fueron procesados en un software estadístico *InfoStat*, versión 1.1 (2002) (Di Rienzo *et al.*, 2008), se utilizó la prueba estadística de Fisher a través del análisis de varianza (ANDEVA) para determinar diferencias entre cepas de *Trichoderma* spp y concentraciones para el AUDPC y variables morfológicas cuantitativas. Del mismo modo, se aplicó la prueba de contraste de Tukey para identificar las diferencias de medias entre las cepas y dosis con un nivel de significancia de 0.05%.



## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. CAPACIDAD ANTAGÓNICA DE ESPECIES DE *Trichoderma* spp. HACIA *Botrytis fabae* IN VITRO.

##### 4.1.1. Prueba de Antagonismo

##### - Enfrentamiento Dual (Micoparasitismo)

Para analizar la capacidad antagónica de esta prueba del genero *Trichoderma* spp, hacia *Botrytis fabae*, se realizaron las observaciones macroscópicas en las placas Petri de los enfrentamientos duales el cual indica que hubo una invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno y se observó esporulación sobre ella (Figura 18).



**Figura 18.** Colonización de hongos antagónicos en placas precolonizadas por *Botrytis fabae*, cepas *T. harzianum*, *T. viride* y *T. nativo*. Laboratorio de Sanidad Vegetal UNA-PUNO.

Asimismo, en la Tabla 9, se puede observar el tiempo de inhibición total y el porcentaje de inhibición micelial de los antagonistas sobre el patógeno *Botrytis fabae* Porter (1923).

**Tabla 9.** Tiempo y porcentaje de inhibición micelial de hongos antagonistas sobre el patógeno *Botrytis fabae*

ANTAGONISTA/PATOGENO	TIEMPO DE INHIBICION	PORCENTAJE INHIBICION MICELIAL
<i>Trichoderma harzianum/ Botrytis fabae</i>	4 a 7 días	100
<i>Trichoderma viride/Botrytis fabae</i>	4 a 7 días	90
<i>Trichoderma nativo/Botrytis fabae</i>	4 a 7 días	100

Un resultado similar de micoparasitismo, reporta Vargas (2014) para las especies *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma koningiopsis* sobre hongos fitopatógenos que investiga, observando que los hongos antagonistas presentaron micoparasitismo agresivo en un tiempo de 4 a 6 días; de igual manera Condori (2016), confirma que el porcentaje de micoparasitismo sobre *Botrytis fabae* S. por hongos antagónicos nativos, de 17 cepas evaluadas, resultaron ser micoparásitos presentando valores comprendidos entre 73.33 a 100% de colonización del patógeno por las cepas de los géneros *Trichoderma* y *Clonostachys*, siendo que 15 cepas colonizaron completamente al patógeno y fueron consideradas como micoparásitos más agresivos, a tal punto que el patógeno no pudo recuperarse, a diferencia de las otras dos cepas TRI-1 (76.67 %) y TRCH-13 (73.33%).

#### **Porcentaje de micoparasitismo en 4 días**

Según la Tabla-Anexo 23 los resultados del análisis de varianza para el porcentaje de micoparasitismo en 4 días expuestos, el coeficiente de variación es de 10.14 %, lo que indica que los datos son confiables ya que están permitidos para este tipo de investigaciones. Asimismo, la Tabla 10 muestra que si existen diferencia significativa en el aislamiento de *Trichodermas* spp.

Según la prueba de comparación de medias de Tukey al 5%, para el porcentaje de micoparasitismo de *Trichoderma* spp sobre el patógeno *Botrytis fabae*, se encontró diferencia estadística significativa, entre las tres especies de *Trichoderma*, tal como se observa en la Figura 19 siguiente. De forma que *Trichoderma* nativa (T2) es más eficiente

(83.85%) que *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* (68.85 y 54.78 % respectivamente).

**Tabla 10.** Prueba de Tukey <math><0.05</math> porcentaje de Micoparasitismo en 4 días de las especies de *Trichoderma* spp. hacia *Botrytis fabae*..

Aislamientos	(%)	N	
T2	83.85	3	a
TH	68.85	3	b
TV	54.78	3	c

T2: *Trichoderma* nativo

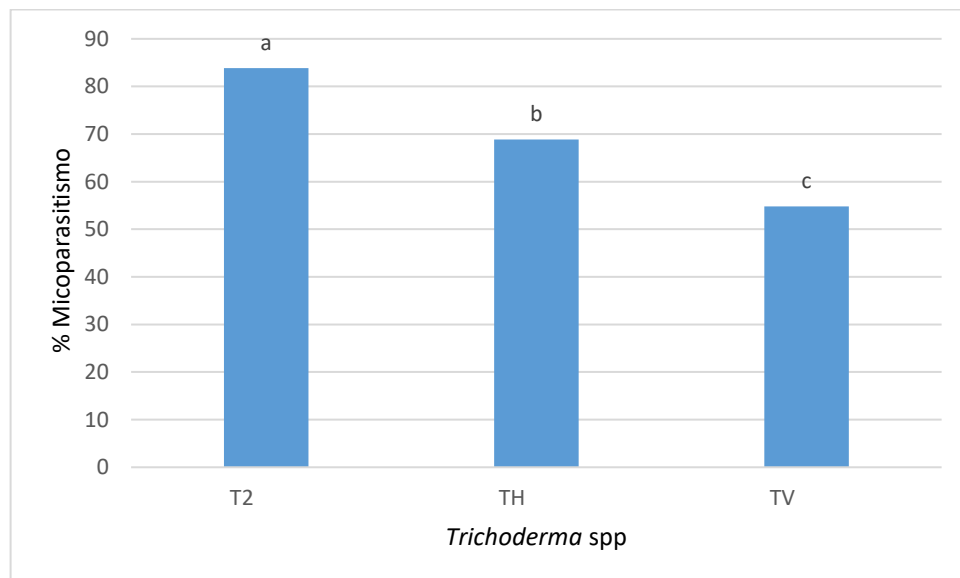
TH: *Trichoderma harzianum*

TV: *Trichoderma viride*

%: Porcentaje de Micoparasitismo

N: Numero de repeticiones

Letras distintas indican diferencias significativas( $p \leq 0.05$ )



%: Porcentaje de Micoparasitismo

T2: *Trichoderma* nativo

TH: *Trichoderma harzianum*

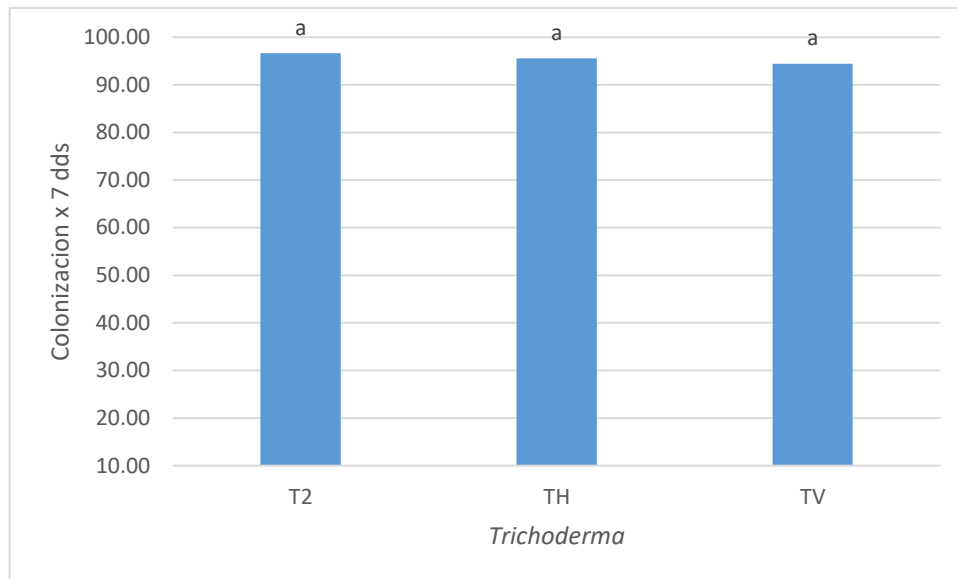
TV: *Trichoderma viride*

**Figura 19.** Porcentaje de Micoparasitismo en 4 días de las especies de *Trichoderma* spp. hacia *Botrytis fabae*.

### Porcentaje de Micoparasitismo en 7 días

Según la Tabla-Anexo 24 los resultados del análisis de varianza para el porcentaje de micoparasitismo a los 7 días expuestos, el coeficiente de variación es de 11.55 %, lo que indica que los datos son confiables ya que están permitidos para este tipo de investigaciones; sin embargo se encontró, que no existe diferencia significativa en el

aislamiento de *Trichodermas* spp. porque las tres especies tuvieron casi el mismo porcentaje de cubrimiento del antagonista de la superficie del medio de cultivo.



?: Porcentaje de Micoparasitismo

T2: *Trichoderma* nativo

TH: *Trichoderma harzianum*

TV: *Trichoderma viride*

**Figura 20.** Porcentaje de Micoparasitismo en 7 días de las especies de *Trichoderma* spp. hacia *Botrytis fabae*.

Entonces, el porcentaje de micoparasitismo que se muestra en la Figura 20 de los hongos *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* y *Trichoderma* nativo, sobre el fitopatógeno *Botrytis fabae*, todos presentaron una actividad antagónica de micoparasitismo agresivo según el tiempo de cobertura (4 a 7 días) con 96.6; 96.6 y 90.0 % respectivamente.

En el presente estudio, los resultados en el cultivo *in vitro* indicarían que las hifas de *Trichoderma* de las tres especies, hicieron contacto casi al mismo tiempo con las hifas de *Botrytis fabae*, así también se observó mayor agresividad por parte del hongo antagónico y menor resistencia del hongo fitopatógeno. Resultados similares encontraron Guigón et al. (2010), quienes mencionan que de las seis cepas evaluadas de *Trichoderma* spp., cinco corresponden a *T. asperellum* y la restante a *T. longibraquiatum*. Las cepas de *T. asperellum*, TC74, T341 y T359, desarrollaron la mayor tasa de crecimiento *In vitro* y mostraron la mayor capacidad antagónica *In vitro* contra los hongos fitopatógenos *Botrytis cinerea*, *R. solani*, *M. phaseolina* y *P. omnivora*. Asimismo, Chet, (1994) citado por Vargas (2014), menciona que el micoparasitismo puede ser un proceso complejo que involucran eventos secuenciales como el crecimiento quimiotrópico, en el cual dirigen su



crecimiento hacia un estímulo químico lo cual hay sucedido en el hongo *Trichoderma* el cual haya detectado a su hospedante desde una determinada distancia y al parecer podrían crecer de acuerdo a una gradiente química, el reconocimiento de los antagonistas pudo haber sido físico, como el tigmotropismo o químico como el quimiotropismo. En el mismo sentido son coincidentes nuestros resultados con los resultados que reporta Sucaticona (2018), que los hongos *Trichoderma* spp. y *Lecanicillium* spp. aislados de los dos sectores de la Provincia de Sandía si presentaron una actividad antagónica en cultivos *in vitro* frente al hongo fitopatógeno *Hemileia vastatrix* en donde se llegó a observar una competencia por espacio y nutriente así presentando los hongos antagonistas un diámetro de crecimiento entre 5.8 cm y 4.9 cm así existiendo diferencia significativa entre los hongos antagonistas y el patógeno, también presentaron un micoparasitismo agresivo según el tiempo de cobertura y alcanzaron en un 75% en el cubrimiento del micelio al fitopatógeno así mostrando una buena actividad antagónica.

#### - **Antibiosis**

En el análisis de varianza Tabla-Anexo 25 para el porcentaje de inhibición micelial de *Botrytis fabae* en presencia de metabolitos inhibitorios secundarios de las especies *Trichoderma* spp, muestra que si existen diferencia significativa entre las especies de *Trichoderma* spp. con un coeficiente de variación es de 5.53 %, muy confiable.

En la Tabla 11, según la prueba de Tukey ( $Pr < 0.05$ ), se observa el efecto de los metabolitos secundarios de las 3 cepas de hongos antagonistas en la inhibición micelial *Botrytis fabae* S., se determinó que si existen diferencias estadísticas significativas entre las cepas. Los metabolitos obtenidos del *Trichoderma* nativo tuvieron mayor efecto sobre *Botrytis fabae* S. con 54.6% de inhibición micelial en comparación de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* con 43.53 y 40.39% respectivamente.

**Tabla 11.** Prueba de Tukey ( $Pr < 0.05$ ) del porcentaje de inhibición micelial de *Botrytis fabae* en presencia de metabolitos inhibitorios de las especies *Trichoderma* spp.

Tratamientos	%	N	
T2	50.96	3	a
TH	43.59	3	b
TV	40.39	3	b

T2: *Trichoderma* nativo

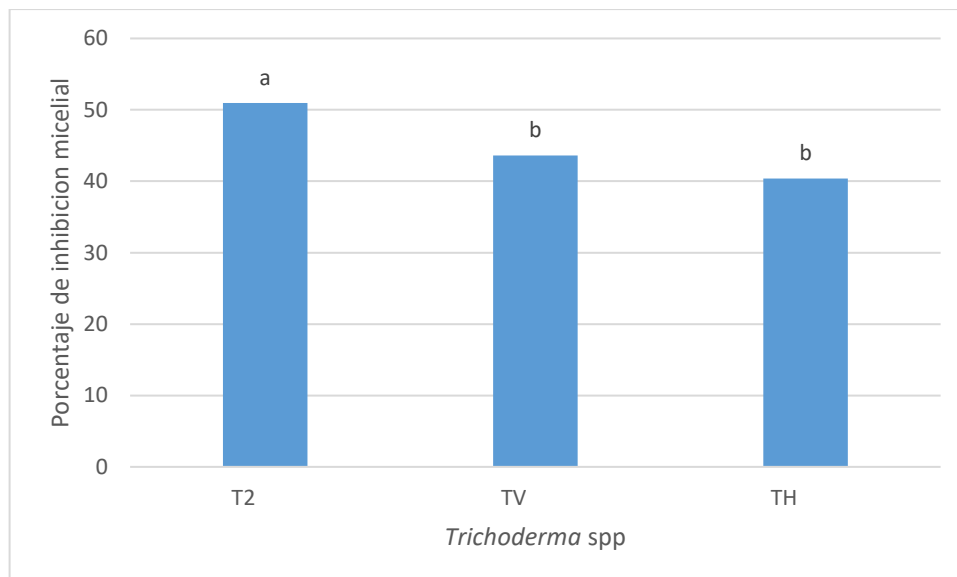
TH: *Trichoderma harzianum*

TV: *Trichoderma viride*

%; Porcentaje de Micoparasitismo

N: Numero de repeticiones

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).



**Figura 21.** Porcentaje de inhibición micelial de *Botrytis fabae* S. en presencia de metabolitos secundarios de cepas de hongos antagónicos.

Podemos mencionar que los resultados de la presente investigación son similares a los resultados obtenidos por Condori (2016), quien refiere que los metabolitos secundarios obtenidos del aislamiento *Trichoderma* sp (TRCH-12) obtuvo el valor más alto con 54.6% en la inhibición micelial de *B. fabae*, seguidos de *Trichoderma* sp (TRPL-9), con 33.71%; en comparación con las cepa *Trichoderma* sp (TRCH-11) tuvo menor efecto hacia el patógeno con 3.62% de inhibición micelial respectivamente.



Asimismo según Jiménez *et al.*, (2015) reportan que en su investigación sobre evaluación *in vitro* de la capacidad parasítica de dos cepas de *Lecanicillium lecanii* y *Trichoderma* spp. sobre *Hemileia vastatrix* observaron que las dos cepas de *Lecanicillium lecanii* y *Trichoderma* spp. que evaluaron inhibieron la germinación del hongo *Hemileia vastatrix* así mismo indican que ambos hongos presentaron diferentes capacidades inhibitorias según su origen geográfico. Asimismo, Ciancas (2006), obtuvo similares resultados al estudio, en donde evaluó la actividad antagónica de la cepa *Trichoderma inhamatum* (Bol 12 QD-1), mostrando una efectividad del 80 % y 61 % respectivamente hacia *B. cinerea*. Según, Espinal *et al.* (2010), indican la actividad biocontroladora de *Trichoderma inhamatum* frente a *Botrytis fabae* fue 51. 21 % de inhibición micelial del patógeno.

Miranda *et al.*, (2013), en estudios preliminares mostraron que el *Trichoderma* nativo aislado del cultivo de quinua y papa nativa de las zonas del Altiplano y Puna de Bolivia, mostraron la presencia de metabolitos secundarios (son compuestos orgánicos sintetizados por *Trichoderma*) generados por enfrentamientos duales de *Trichoderma-Trichoderma*, Dentro de los metabolitos secundarios (MS) sintetizados por *Trichoderma* spp., se encuentra la hormona auxínica ácido-3-indolacético (AIA) que actúa como inductora del crecimiento de la planta (Gravel *et al.*, 2007) y desarrolla una defensa para luego no dejar desarrollar al hongo fitopatógeno claramente menciona que tiene componentes positivos..

Además, B. A. Bailey *et al.* (2008) citado por Condori (2016), indican que cepas de *Trichoderma* inhibieron completamente el crecimiento de *Moniliophthora roreri* en la selección de antibiosis pero no tuvieron efecto en micoparasitar; sin embargo, en los resultados de Condori (2016) resultaron al contrario, porque todas las cepas micoparasitaron e inhibieron el crecimiento micelial de *B. fabae* siendo la cepa *Trichoderma* sp (TRCH-12) aislado en el distrito de Chucuito, quién presentó una alta actividad de antibiosis y micoparasitismo para *B. fabae*.

En general, las especies de *Trichoderma* antagonizan a los fitopatógenos por competencia, parasitismo, antibiosis ó por una combinación sinérgica de estos modos de acción; tal como lo señala Haggag *et al.*, 2001 citados por (Sucaticona, 2018). Además, Tovar (2008) logro evaluar la capacidad antagonista *in vitro* de seis aislamientos de *Trichoderma* frente al fitopatógeno *R. solani*. Donde el aislamiento nativo T235 mostro los mayores valores de crecimiento libre y porcentaje de inhibición micelial (PIM). De



esa forma en la presente investigación mencionamos que el *Trichoderma* nativo tiene una buena capacidad antagonista *in vitro* (B. A. Bailey et al., 2008).

Sin embargo, también existen estudios para el control de otros patógenos de importancia en la agricultura, siendo el estudio más impactante en especies tropicales, en *Theobroma cacao* L., la inoculación con endofitos redujo significativamente la necrosis foliar y la mortalidad causada por *Phytophthora palmivora* (Arnold et al., 2003). Igualmente, se encontraron hongos endófitos mostrando antagonismo *In vitro* mediante pruebas de antibiosis y micoparasitismo contra *Moniliophthora roreri* (moniliasis), *Phytophthora palmivora* (podrición parda) y *Moniliophthora perniciosa* (escoba de bruja), inhibieron significativamente el crecimiento micelial de los patógenos (Leon, Rojas, Rodríguez, Arévalo, & Márquez, 2010; Mejía et al., 2008)

#### **4.2.EFECTO DE CONCENTRACIONES DE CONIDIOS ( $1 \times 10^8$ , $1 \times 10^7$ y $1 \times 10^6$ ) DE ESPECIES DE *Trichoderma* spp. EN EL CONTROL DE LA MANCHA CHOCOLATE (*Botrytis fabae*) DEL CULTIVO DE HABA, EN EL DISTRITO DE CHUCUITO-PUNO.**

##### **4.2.1. Medición de la enfermedad (Severidad y Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC))**

El análisis de varianza del Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) de mancha chocolate del cultivo de haba (*Botrytis fabae*) tratadas con *Trichoderma* spp (Tabla-Anexo 26), no mostro una diferencia significativa al 5 % de probabilidad ( $Pr < 0.05$ ) para tratamientos entre cepas, sin embargo, en concentraciones (dosis) e interacciones cepas x dosis si mostro diferencia significativa, con un C.V. de 16.87% y un  $R^2$  de 0.87, indicando que los resultados obtenidos en el experimento son confiables.

En la Tabla 12, la comparación de medias mediante la prueba de contraste Tukey al 5% de probabilidad, si mostró diferencias significativas entre las concentraciones (dosis). Los valores de AUDPC fueron significativamente menores en todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* spp. con diferentes concentraciones que el testigo (D0), siendo el más afectado con el valor más alto de AUDPC (147.07). Asimismo, las concentraciones aplicadas con cepas D6 y D7 fueron los que presentaron los valores altos de AUDPC con 56.00 y 48.67 respectivamente; sin embargo, la concentración menos afectado fue el D8 con un valor menor de AUDPC de 41.33 (Figura 21).

**Tabla 12.** Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) del haba (*Vicia faba*) tratadas con cepas de *Trichoderma* spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito.

Dosis	prom 90 dds	prom 115 dds	prom 135 dds	AUDPC REAL	
D0	0.69	3.78	1.98	147.07	B
D6	0.34	1.36	0.84	56.00	A
D7	0.5	1.06	0.68	48.67	A
D8	0.25	0.91	0.89	41.33	A

dds: días después de la siembra

D0: sin concentración

D6:  $1 \times 10^6$  ufc

D7:  $1 \times 10^7$  ufc

D8:  $1 \times 10^8$  ufc

AUDPC: Área bajo la curva del progreso de la enfermedad.

Además la comparación de medias mediante la prueba de contraste Tukey al 5% de probabilidad, también mostró diferencias significativas entre la interacción de cepas x dosis. Los valores de AUDPC fueron significativamente menores en todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* spp con diferentes concentraciones que el testigo (D0), siendo el más afectado con el valor más alto de AUDPC (166.56). Asimismo, las interacciones aplicadas con *Trichoderma* nativo con D6 y *Trichoderma harzianum* D7 fueron los que presentaron los valores altos de AUDPC con 72.33 y 53.33 respectivamente; sin embargo, *Trichoderma* nativo con D8 fue el menos afectado con un valor menor de AUDPC de 32.44 (Tabla 13 y Figura 21).

También, los valores de severidad de la mancha chocolate del haba de todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* spp con concentraciones diferentes fueron inferiores al testigo hasta los 135 días después de la siembra (tercera evaluación), mientras que en la última evaluación hubo tratamientos que superaron al testigo (Figura 22).

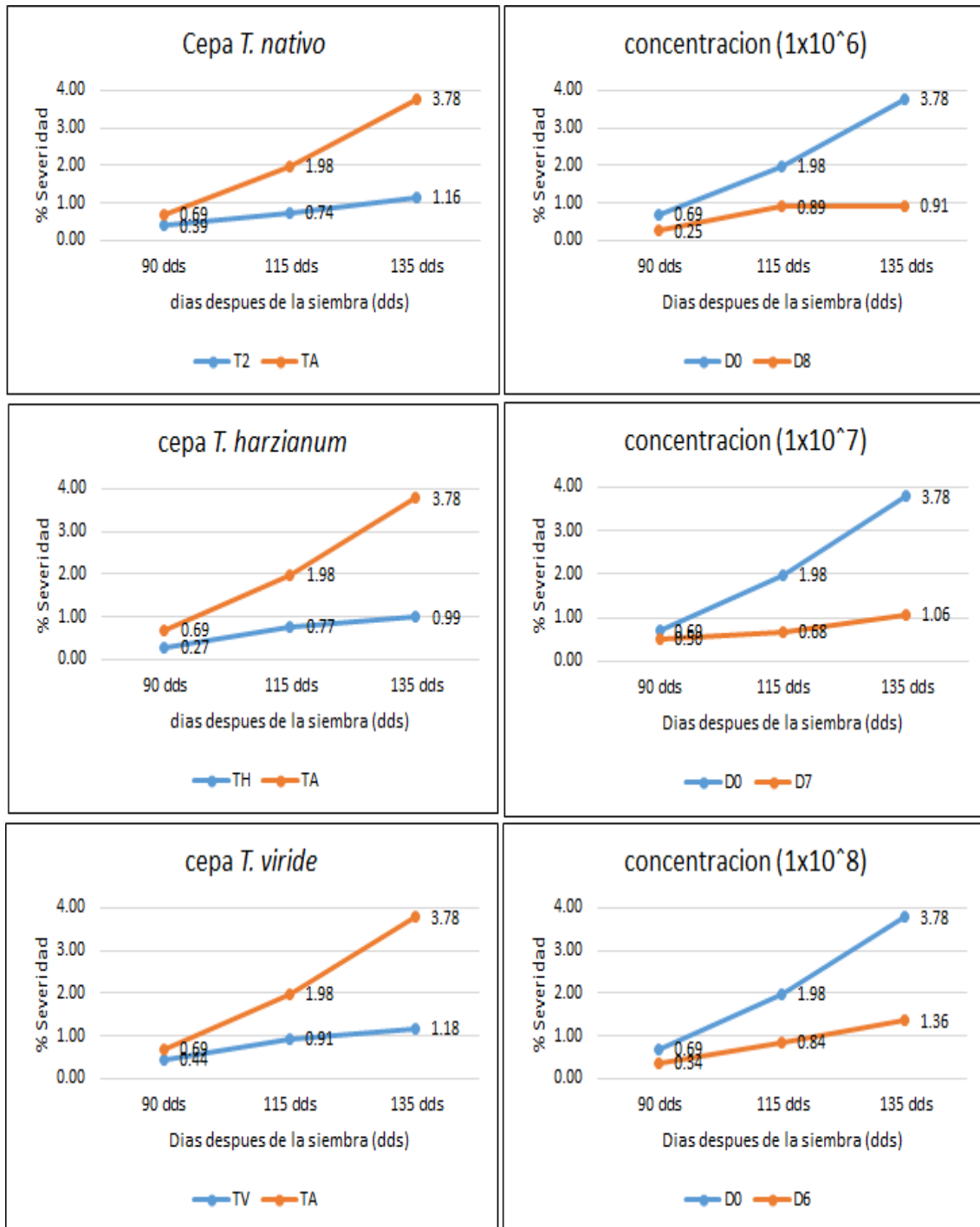
La primera evaluación se realizó 90 días después de la siembra (dds) debido a que el periodo de infección de *Botrytis fabae* inicio tarde aproximadamente a los 80 dds, donde se observó los primeros síntomas de la enfermedad con valores de severidad desde 0.18% hasta 0.9% (testigo). Dentro de los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* spp, el tratamiento *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma* nativo con una dosis de  $1 \times 10^8$  presento el valor más bajo de severidad (0.18%) en comparación al



tratamiento *Trichoderma viride* y *Trichoderma nativo* con una dosis  $1 \times 10^7$  que presento 0.69% de severidad.

En la segunda evaluación (115 dds) el porcentaje de severidad incremento en todos los tratamientos con valores desde 0.39% a 2.13% (Testigo), siendo el tratamiento *Trichoderma nativo* con una dosis de  $1 \times 10^7$  quien presento el valor más bajo de severidad (0.39%) en comparación al tratamiento *Trichoderma nativo*  $1 \times 10^6$  (3.5%) y *Trichoderma viride* con una dosis de  $1 \times 10^8$  (1.13) que presentaron el valor más alto de los tratamientos que recibieron el control.

En la tercera evaluación (135 dds) se observó un mayor incremento de severidad para todos los tratamientos con valores de severidad desde 0.67% hasta 4.45 % (testigo). De los tratamiento que recibieron el control, *Trichoderma nativo* con dosis de  $1 \times 10^8$  presento el valor más bajo (0.67%) en comparación al tratamiento que *Trichoderma nativo* con una dosis de  $1 \times 10^6$  (1.81%) con el valor más alto de severidad.



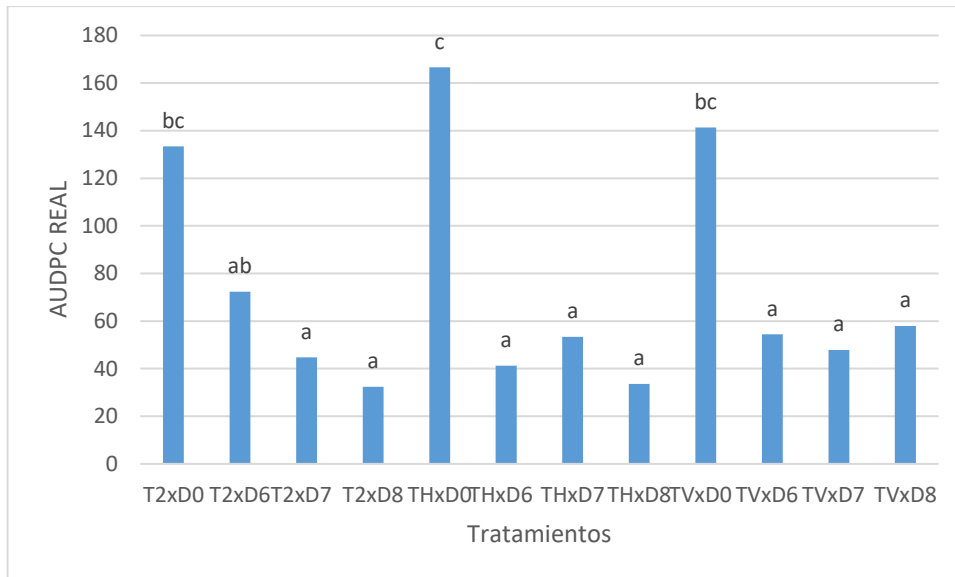
**Figura 22.** Curvas del progreso de la enfermedad de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) del haba (*Vicia faba*) tratadas con 3 cepas de *Trichoderma* spp. y diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito.

Las condiciones de precipitaciones altas en los meses de enero al marzo fueron favorables para el desarrollo de la enfermedad debido a que las esporas se hidratan y la esporulación aparece y gracias a la diseminación se contagian todas las plantas (Saravia et al ., 2014); puesto que, Kumar et al . (2006), mencionan que los factores determinantes para que el

crecimiento del patógeno y desarrollo de la enfermedad son temperaturas frescas (23 °C) y humedad relativa (mayor 90 %) lo cual si presentó en estos meses e hizo que la severidad sea un poco mayor y gracias a los tratamientos que recibieron el control se realizo de buena forma y la enfermedad dejo de desarrollar y con las llegadas de las heladas en los meses de abril y mayo se detuvo el incremento de la enfermedad de *Botrytis fabae*. Por eso, los incrementos de severidad desde la primera evaluación hasta la tercera evaluación se registraron en los meses de enero a marzo, se debió a que las condiciones ambientales fueron favorables para el desarrollo de la enfermedad, y se disemine y se desarrolle el patógeno. Sin embargo, *Trichoderma* también tuvo sus condiciones favorables durante estos meses según el climograma Figura (17) y Anexo-Tabla (22).y así los tratamientos aplicados en el campo dieron positivo y disminuyeron la severidad dando buenos resultados como se observa en la AUDPC de la Tabla 13.

**Tabla 13.** Porcentaje de severidad y área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) del cultivo de haba (*Vicia faba*) tratadas con cepas de *Trichoderma* spp con diferente concentraciones en el distrito de Chucuito.

Cepas	Dosis	prom 90 dds	prom 115 dds	prom 135 dds	AUDPC	
T2	D0	0.56	1.72	3.5	133.33	bc
T2	D6	0.33	1.13	1.81	72.33	ab
T2	D7	0.54	0.39	1.00	44.78	a
T2	D8	0.28	0.69	0.67	32.44	a
TH	D0	0.62	2.08	4.45	166.56	c
TH	D6	0.34	0.67	0.92	41.22	a
TH	D7	0.28	0.88	1.30	53.33	a
TH	D8	0.18	0.77	0.74	33.56	a
TV	D0	0.9	2.13	3.40	141.33	bc
TV	D6	0.36	0.73	1.33	54.44	a
TV	D7	0.69	0.78	0.88	47.89	a
TV	D8	0.29	1.22	1.33	58.00	a



T2: *Trichoderma* nativo

TH: *Trichoderma harzianum*

TV: *Trichoderma viride*

D0: Testigo

D8:  $1 \times 10^8$  ufc

D7:  $1 \times 10^7$  ufc

D6:  $1 \times 10^6$  ufc

dds: días después de la siembra.

AUDPC: Área bajo la curva del progreso de la enfermedad

Severidad: Porcentaje del área de la hoja infectada (%)

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )

**Figura 23.** Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) del cultivo de haba (*Vicia faba*) tratadas con cepas de *Trichoderma* spp con diferente concentraciones en el distrito de Chucuito.

El resultado del estudio de investigación muestra que *Trichoderma* nativo con una concentración de  $1 \times 10^8$  ufc ml<sup>-1</sup> tuvo un mejor control con relación a la severidad es decir que al mantener una concentración mayor se constató menor afección de *Botrytis fabae*. Próximo a los resultados de Minchez (2015) quien indica que el tratamiento  $3.571428571 \times 10^{12}$  conidios/ ha fue el que tuvo un mejor control respecto a la severidad, con un promedio de 42.36 % representando en 23 plantas afectadas en su totalidad por *Bortytis fabae*, y el tratamiento que mostro mayor severidad de la enfermedad fue el testigo absoluto con un 57.02%. Aclara también, que con la aplicación de productos biológicos al follaje en el cultivo de haba se ha obtenido diferencia estadística gracias a la colonización del hongo benéfico y Jiménez (2005), menciona que *Trichoderma harzianum* es una buena alternativa en el control de enfermedades foliares, ya que una vez aplicado, se estimula la colonización de la superficie de las plantas, por antagonistas



saprofitos capaces de multiplicarse y disminuir el inoculo de los patógenos, disminuyendo el efecto del patógeno.

También Hanada et al. (2008) citado por Leon (2016) menciona que el efecto directo de las cepas de *Trichoderma* spp sobre el patógeno se debió a las aplicaciones foliares que se realizaron a razón de  $1 \times 10^7$  ufc. ml<sup>-1</sup> que fue adecuada sobre el control de la enfermedad reduciendo la severidad. Es posible que estas cepas proliferaron y supervivieron en las plantas durante un período prolongado después de la aplicación, principalmente en tejidos que suelen ser propensos a infección por el patógeno objetivo, lo cual concuerda con los hallazgos de otros investigadores que aplicaron la cepa endófito *Trichoderma martiale* ALF 247 para el control de *Phytophthora palmivora* en concentraciones que oscilaban entre  $1 \times 10^4$  y  $5 \times 10^7$  conidios por mililitro, la severidad de la enfermedad disminuyó proporcionalmente y han demostrado que la cepa es un endofito que coloniza toda la planta después de la aplicación.

Del mismo modo Merchan et al. (2014) indican que la incidencia de la enfermedad *Botrytis cinérea* en el tratamiento testigo fue del 60%, mientras que para los tratamientos con *T. harzianum* y *T. lignorum* solo alcanzó un 33%, lo que indica un control mayor de los antagonistas en comparación con el químico sobre la enfermedad. En cuanto a la severidad, los tratamientos con *T. harzianum* y *T. lignorum* redujeron significativamente en un 32% el desarrollo del patógeno en la planta.

Asimismo, Tovar (2008) afirma los resultados presentados a través de su investigación sugiere que la utilización de especies de *Trichoderma* para el control de *R. solani* en esquejes de clavel es una estrategia promisoriosa para el manejo de las enfermedades en condiciones de invernadero. Esta afirmación esta soportada por el factor de que todos los aislamientos de *Trichoderma* spp. evaluados, a excepción de Tsp5 (nativo), redujeron la severidad de la enfermedad en plantas. Tales reducciones fueron evidentes debido al bajo número de plantas afectadas, por *R. solani* cuando se enfrentaron al hongo *Trichoderma* y a la baja aparición de signos y síntomas de la enfermedad sobre los esquejes de clavel evaluados.

Ahora bien, el conocimiento de estos nuevos hongos antagonico a base concentracion de esporas a partir del hongo *Trichoderma* spp ha permitido el desarrollo de estudios *in vivo* para inducción de respuesta en plantas e incremento en la producción de cultivos. Según Brunner y Zellinger, (2005) en estudios *in vivo*, demostraron los progresos del hongo de





biocontrol *Trichoderma atroviridae* para la inducción de respuestas de defensa en plantas de frijol, frente al patógeno foliar *B. Cinerea*, conteniendo  $1 \times 10^8$  esporas/ml tipo salvaje. Además Reeynoso y colaboradores (2006), demostraron en estudios de biocontrol bajo condiciones de cultivo, que la aplicación de diferentes concentraciones de inóculo de *T. harzianum* ( $10^2$  y  $10^6$ ), produjo un notable incremento en la cosecha de mani. Se encontró un incremento en el porcentaje de 45 a 76% en zonas naturalmente infestadas y de 57 y 95%, en suelos artificialmente infestados, cuando las semillas fueron tratadas con *T. harzianum*  $10^6$ .

En la aplicación de productos biológicos al follaje en el cultivo de haba se obtenido diferencia estadística gracias a la colonización del hongo benéfico y Jimenez (2006), menciona que *Trichoderma harzianum* es una buena alternativa en el control de enfermedades foliares, ya que una vez aplicado el biocontrol, se estimula la colonización de la superficie de las plantas, por antagonistas saprofitos capaces de multiplicarse y disminuir el inóculo de los patógenos, disminuyendo el efecto del patógeno.

#### **4.3. EFECTO DE CONCENTRACIONES DE CONIDIOS ( $1 \times 10^8$ , $1 \times 10^7$ y $1 \times 10^6$ ) DE ESPECIES DE *Trichoderma* spp. EN EL RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE HABA, EN EL DISTRITO DE CHUCUITO-PUNO.**

##### **4.3.1. Evaluación de características morfológicas de plantas de haba tratadas con cepas de *Trichoderma* spp. en diferentes concentraciones.**

Los análisis de varianza para las características morfológicas: altura de planta (AP), número de ramas (NR), número de vainas (NV), número de granos (NGS), peso seco de biomasa (PSB), peso de grano seco (PSGS) y rendimiento (RDT) de plantas de haba var. Blanca Gigante de Copacabana tratadas con 3 cepas de *Trichoderma* spp, mostraron significancia al 5% de probabilidad ( $Pr < 0.05$ ) para los tratamientos. Además, con coeficientes de variabilidad (CV) relativamente bajos de 3.76% (AP), 6.32% (NR), 9.52% (NV), 8.37% (NG), 19.00% (PSB) y 21.43% (PG), 21.43% (RDT); y valores de  $R^2$  de 0.83 (AP), 0.62 (NR), 0.53 (NV), 0.81 (NG), 0.57 (PBS) y 0.81 (PG) y 0.81 (RDT). Valores que indican que los resultados de los parámetros evaluados son confiables y el diseño experimental utilizado fue apropiado para controlar la variación existente y además los valores de  $R^2$  indican que el ajuste del modelo lineal usado es bueno. (Tablas 27, 28, 229, 30, 31, 32 y 33).



La comparación de medias con la prueba de Tukey al 5% de probabilidad, mostró diferencias significativas entre los tratamientos en todas las características morfológicas estudiadas (Tabla 14). Los valores de altura de planta, fueron significativamente mayores en todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* spp. con concentraciones diferentes con valores comprendidos entre 138.07 cm a 159.63 cm, a diferencia del testigo (T) que presentó el valor más bajo con 129.00 cm, siendo los tratamientos *Trichoderma nativo* con D8 y *Trichoderma Harzianum* con D8 los que tuvieron mayor efecto en el crecimiento de la planta con valores de 159.63 cm y 155.30 cm, respectivamente.

En cuanto a los valores de número de ramas, fueron significativamente mayores en los todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* spp con valores comprendidos entre 7.00 a 8.33 a diferencia del testigo (T) que presentó el valor más bajo con 6.30. Mientras que el tratamiento *Trichoderma nativo*, *Trichoderma harzianum* con D8 y *Trichoderma nativo* con D7 el que tuvo mayor efecto en la NR con 8.33 cm, .seguido de *Trichoderma viride* D7 con 7.90. Sin embargo, en el parámetro de número de vainas (NV), los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* spp no tuvieron significancia con valores comprendidos entre 23.00 a 29.60 a diferencia del testigo (T) que presentó el valor más bajo con 19.60, siendo el tratamiento *Tratamiento nativo* con D8 el que tuvo mayor efecto en la NV con 29.60 a comparación de los tratamientos *Trichoderma viride* con D6 y *Trichoderma harzianum* con D8 Y D7 que no tuvieron diferencias significativas entre ellos. Así mismo en el parámetro de números de granos seco (NGS), los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* spp. fueron significativamente mayores en todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* spp con valores comprendidos entre 41.47 a 69.33 a diferencia del testigo (T) que presentó el valor más bajo con 28.17 a comparación de los tratamientos *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma nativo* con D8 que tuvieron 69.33 y 67.90 respectivamente, seguido de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma nativo* con D7 que tuvieron igual de significancia.

Sin embargo, los valores de peso seco de biomasa, no tuvieron diferencias estadísticamente significativas, para los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* spp con valores comprendidos entre 28.67 g a 44.60 g a diferencia del testigo (T) que presentó el valor más bajo con 26.73 g, siendo el tratamiento *Trichoderma nativo* con D7 ( $1 \times 10^7$ ) y D8 ( $1 \times 10^8$ ) con mayor efecto en el PSB. Similar comportamiento



se observó en el parámetro rendimiento (RDT), en donde todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* spp fueron significativamente mayores al Testigo (3,000 kg.ha<sup>-1</sup>) con valores comprendidos entre 4,778 kg.ha<sup>-1</sup> a 8,956 kg.ha<sup>-1</sup>, siendo los tratamientos *Trichoderma harzianum* con D7 (1x10<sup>7</sup>) (8,956 kg.ha<sup>-1</sup>), *Trichoderma nativo* D8 (1x10<sup>8</sup>) y D7 (1x10<sup>7</sup>) con 8,489 kg.ha<sup>-1</sup> y 8,467 kg.ha<sup>-1</sup> con mayores rendimientos.

Mientras que, para el parámetro peso de semillas en granos seco de haba (kg/planta) de los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* spp fueron significativamente mayores al testigo (4.50 g.planta<sup>-1</sup>) con valores comprendidos entre 8.33 g.planta<sup>-1</sup> a 13.43 g.planta<sup>-1</sup>, siendo el tratamiento *Trichoderma harzianum* con D7 (1x10<sup>7</sup>), D8 (1x10<sup>8</sup>) y *Trichoderma nativo* con D8 quienes tuvieron mayor efecto en el PGS a comparación de los tratamientos *Trichoderma viride* que no tuvieron diferencias significativas con el testigo.

Según Espinal et al. (2010) los resultados que concluye en el análisis de la actividad controladora de *Trichoderma inhamatum* en plántulas de haba, fue una prueba con la que se pretendió establecer la capacidad biocontroladora de este hongo *in vivo*, comparando su actividad con diferentes tratamientos (Biosulfocal, Tricobio y esporas de *Trichoderma*) y variedades de haba (Gigante Copacabana e Isla del Sol). En lo concerniente a los resultados de peso de plántula, longitud de vaina, número de vaina, peso de vaina, número de grano verde, peso de grano verde y peso de grano seco, está claro el predominio de la actividad del fermento de *Trichoderma inhamatum* (BOL 12 QD), Otros resultados encontrados, establecen que la aplicación de esporas de *Trichoderma*, sobre las plántulas de haba, es un tratamiento eficaz en el control de la Mancha Chocolate, sin embargo, no debe dejarse de lado que estos son microorganismos ajenos al ecosistema del altiplano (Hanson & Howell, 2004; E. Harman, 2006; Yedidia et al., 2003). Respecto a la actividad de *T. inhamatum* BOL – 12 QD, sobre el porcentaje de severidad, este tratamiento se encuentra como segunda mejor alternativa, pero a diferencia del tratamiento con esporas de *Trichoderma* (Espinal et al., 2010).

Minchez, (2015) demostró un mejor rendimiento relacionado al nivel de daño que ocasionó *Botrytis fabae* en el cultivo del haba mediante la aplicación de *Trichoderma harzianum* con diferentes concentraciones; fue el tratamiento 1.428571429x10<sup>12</sup> conidios/ ha con 10,814.81 kg teniendo esto un aumento en la producción de 1066.13

kg/ha, según el estudio realizado por Soto, Osorio, Muñoz y Galindo, (2002) mencionan que puede haber un incremento en el peso de las plantas y un aumento en la floración de los cultivos chile pimiento y tomate al realizar aplicaciones de *Trichoderma harzianum* y entre otros especies. Siendo de esta manera el rendimiento del cultivo puede ser influenciado por la aplicación de ciertas concentraciones de *Trichoderma harzianum*, como se puede observar en el tratamiento  $1.428571429 \times 10^{12}$  y  $1.428571429 \times 10^{11}$  conidios/ ha existiendo un efecto biológico de los tratamientos sobre el cultivo que aumenta el rendimiento aunque haya aumento de severidad de *Botrytis fabae*, como lo menciona Agrobeta, (2014) mejorando los rendimientos del cultivo.

**Tabla 14.** Características morfológicas de plantas de haba (*Vicia faba.*) var. Blanca Gigante de Copacabana tratadas con cepas de *Trichoderma* spp. en el distrito de Chucuito, durante la campaña agrícola 2017 – 2018.

Trat.	Altura de planta (cm)	Numero de ramas	Numero de vainas	Numero de granos seco	Peso de Biomasa seca (g)	Peso de granos seco(kg)	Rdto/ha
THxD8	155.30 ab	8.23 a	29.00 a	69.33 a	37.97 a	12.10 ab	8,067ab
THxD7	149.07 abc	7.63 a	29.13 a	62.97 abc	36.63 a	13.43 a	8,956 <sup>a</sup>
THxD6	138.07 cde	7.00 a	25.03 a	48.40 abcde	28.67 a	8.70 abc	5,800 abc
THxD0	129.00 e	6.97 a	20.10 a	34.97 de	26.73 a	4.50 c	3,000 c
T2xD8	159.63 a	8.33 a	29.60 a	67.90 ab	43.90 a	12.73 ab	8,489 ab
T2xD7	142.70 bcde	8.07 a	28.43 a	58.97 abcd	44.60 a	12.70 ab	8,467 ab
T2xD6	146.43 abcd	7.07 a	23.00 a	41.47 cde	28.67 a	7.17 bc	4,778 bc
T2xD0	140.87 bcde	6.80 a	19.60 a	37.17 de	28.33 a	5.13 c	3,422 c
TVXD8	147.67 abcd	7.70 a	24.63 a	48.37 abcde	34.07 a	12.20 ab	8,133 ab
TVxD7	148.73 abc	7.90 a	24.97 a	43.87 bcde	33.43 a	8.70 abc	5,733 abc
TVxD6	151.93 abc	7.33 a	29.20 a	42.70 cde	34.53 a	8.33 abc	5,556 abc
TVxD0	132.53 de	6.30 a	20.63 a	28.17 e	31.63 a	5.13 c	3,422 c

- TH: *T. harzianum*

- TV: *T. viride*

- T2: *T. nativo*

- D8: Concentración  $1 \times 10^8$

- D7: Concentración  $1 \times 10^7$

- D6: Concentración  $1 \times 10^6$

- D0: Testigo

- Datos obtenidos a los 195 días después de la siembra. Letras distintas indican diferencias significativas( $p \leq 0.05$ ).

- **ALTURA DE PLANTA**

Según el análisis de varianza de altura de planta, para la fuente de variación de interacción de *Trichoderma*\*Dosis, si existe diferencia estadística significativa, siendo el coeficiente



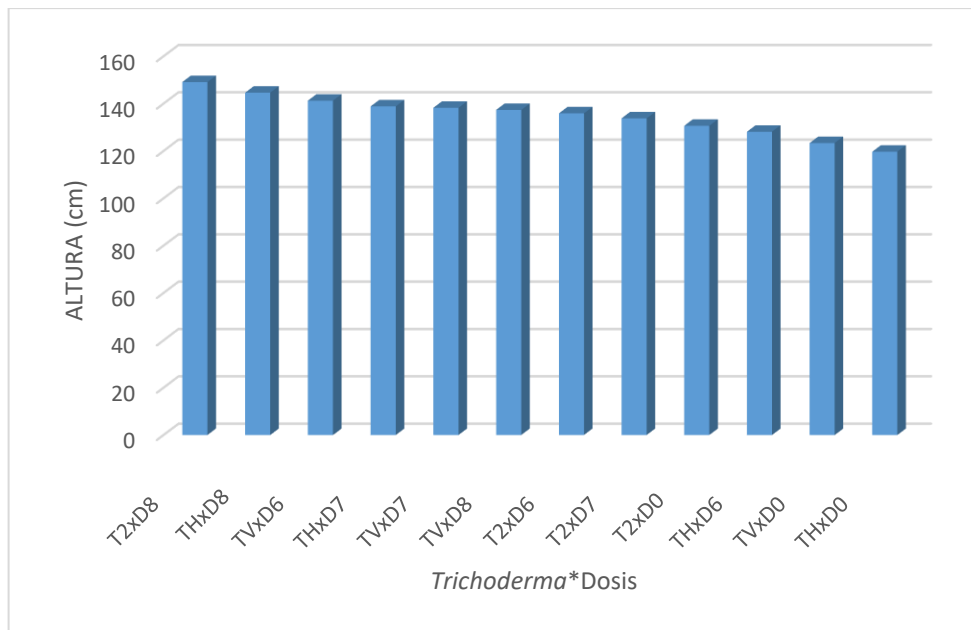
de variación 3.76 %; lo cual indica que hubo diferencias en altura de planta por efecto de las especies de *Trichoderma* spp. con diferentes concentraciones.

En la Tabla 15, se puede observar la prueba de Tukey para la interacción *Trichoderma* \* dosis, la que tuvo mayor altura de plantas en todas las evaluaciones fue *Trichoderma* nativo con una D8 ( $1 \times 10^8$  ufc) alcanzando la altura máxima de 149.11 cm en la última evaluación; mientras el Testigo (D0) tuvo menor altura de planta, alcanzando la altura máxima de 119.70 cm en la última evaluación.

**Tabla 15.** Prueba de Comparación de medias de Tukey para factor Interacción *Trichoderma* spp \* Dosis con significancia estadística.

TRICH	DOSIS	ALTURA	Significancia
T2	D8	149.11	a
TH	D8	144.63	a b
TV	D6	141.26	a b c
TH	D7	138.84	a b c
TV	D7	138.25	a b c d
TV	D8	137.34	a b c d
T2	D6	135.90	a b c d
T2	D7	133.78	b c d e
T2	D0	130.63	b c d e
TH	D6	128.12	c d e
TV	D0	123.36	d e
TH	D0	119.70	e

- TH: *T. harzianum*
- TV: *T. viride*
- T2: *T. nativo*
- D8: Concentración  $1 \times 10^8$
- D7: Concentración  $1 \times 10^7$
- D6: Concentración  $1 \times 10^6$
- D0: Testigo
- Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )



- TH: *T. harzianum*
- TV: *T. viride*
- T2: *T. nativo*
- D8: Concentración  $1 \times 10^8$
- D7: Concentración  $1 \times 10^7$
- D6: Concentración  $1 \times 10^6$
- D0: Testigo

**Figura 24,** Altura de planta según a la interacción de *Trichoderma*\*Dosis.

En la Figura 23, se puede observar que todos los tratamientos tuvieron una respuesta ascendente en crecimiento de planta. Pero, los tratamientos con interacción *Trichoderma* nativo con D8 ( $1 \times 10^8$  ufc) tuvo mayor respuesta en crecimiento de planta, alcanzando a la altura máxima de 149.11 cm, seguido del tratamiento *T. harzianum*\*D8, *T. viride*\*D6, *T. harzianum*\*D7 y así sucesivamente, con alturas de planta de 144.63, 141.26, 138.24 cm respectivamente. El tratamiento testigo solo tuvo 119.70 cm de altura de planta en la última evaluación.

Según Cubillos *et al.* (2008) el cual mencionan que al aplicar *Trichoderma Harzianum* como promotor de crecimiento vegetal de maracuyá (*Passiflora edulis*) Var. Flavicarpa Degener muestran resultados en longitud de tallo con 23.7cm a diferencia del testigo con 18.4cm, así mismo Erazo (2006) el cual menciona que al aplicar *T. Harzianum* este actúa primeramente como bioestimulante del crecimiento radicular, promueve el desarrollo de las raíces.

## - NUMERO DE GRANOS

Según el análisis de varianza en número de granos, para la fuente de variación de interacción de *Trichoderma*\*Dosis, si existe diferencia estadística significativa, siendo el coeficiente de variación 8.37%; lo cual indica que hubo diferencias en número de granos por efecto de las especies de *Trichoderma* spp. con diferentes concentraciones.

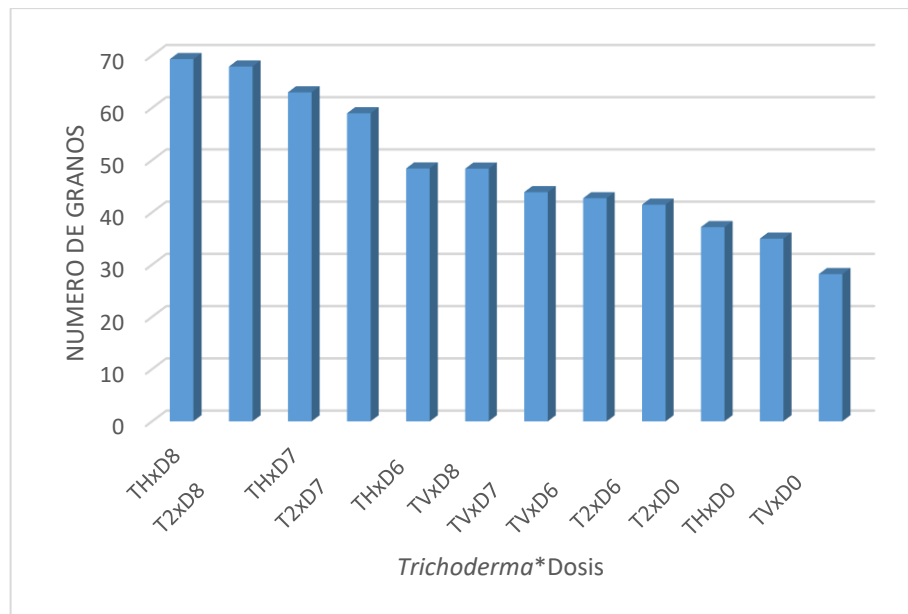
En la Tabla 16, se puede observar la prueba de Tukey para la interacción *Trichoderma* \* dosis, la que tuvo mayor número de granos en todas las evaluaciones fue *Trichoderma harzianum* con una D7 ( $1 \times 10^7$  ufc) alcanzando el número de granos máximo de 69.33; mientras el Testigo (D0) tuvo menor de granos, alcanzando a un numero de granos máximo de 28.17 en la última evaluación.

**Tabla 16.** Prueba de Comparación de medias de Tukey para factor Interacción *Trichoderma* spp \* Dosis con significancia estadística

TRICH	DOSIS	N° GRANOS	Significancia
TH	D8	69.33	a
T2	D8	67.90	a b
TH	D7	62.97	a b c
T2	D7	58.97	a b c d
TH	D6	48.40	a b c d e
TV	D8	48.37	a b c d e
TV	D7	43.87	b c d e
TV	D6	42.70	c d e
T2	D6	41.47	c d e
T2	D0	37.17	d e
TH	D0	34.97	d e
TV	D0	28.17	e

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p <= 0.05$ )





- TH: *T. harzianum*
- TV: *T. viride*
- T2: *T. nativo*
- D8: Concentración  $1 \times 10^8$
- D7: Concentración  $1 \times 10^7$
- D6: Concentración  $1 \times 10^6$
- D0: Testigo
- Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )

**Figura 25.** Numero de granos según a la interacción de *Trichoderma*\*Dosis.

En la Figura 24, se puede observar que todos los tratamientos tuvieron una respuesta en el en número de granos. Pero, los tratamientos de interacción *Trichoderma harzianum* con D8 ( $1 \times 10^8$  ufc) tuvo mayor respuesta en número de granos, alcanzando a un máximo de 69.33, seguido del tratamiento *T. nativo*\*D8, *T. harzianum*\*D7 y así sucesivamente, con numero de granos de 67.90, 62.97 respectivamente. El tratamiento testigo solo tuvo 28.17 de número de granos

#### - RENDIMIENTO

Según el análisis de varianza en rendimiento Kg/Ha, para la fuente de variación de interacción de *Trichoderma*\*Dosis, tambien existe diferencia estadística significativa, siendo el coeficiente de variación 21.43%; lo cual indica que hubo diferencias en rendimiento por efecto de las especies de *Trichoderma* spp. con diferentes concentraciones.

En la Tabla 19, se puede observar la prueba de Tukey para la interacción *Trichoderma* \* dosis, la que tuvo mayor rendimiento en todas las evaluaciones fue *Trichoderma harzianum* con una D7 ( $1 \times 10^7$  ufc) alcanzando un rendimiento máximo de 8 955.67

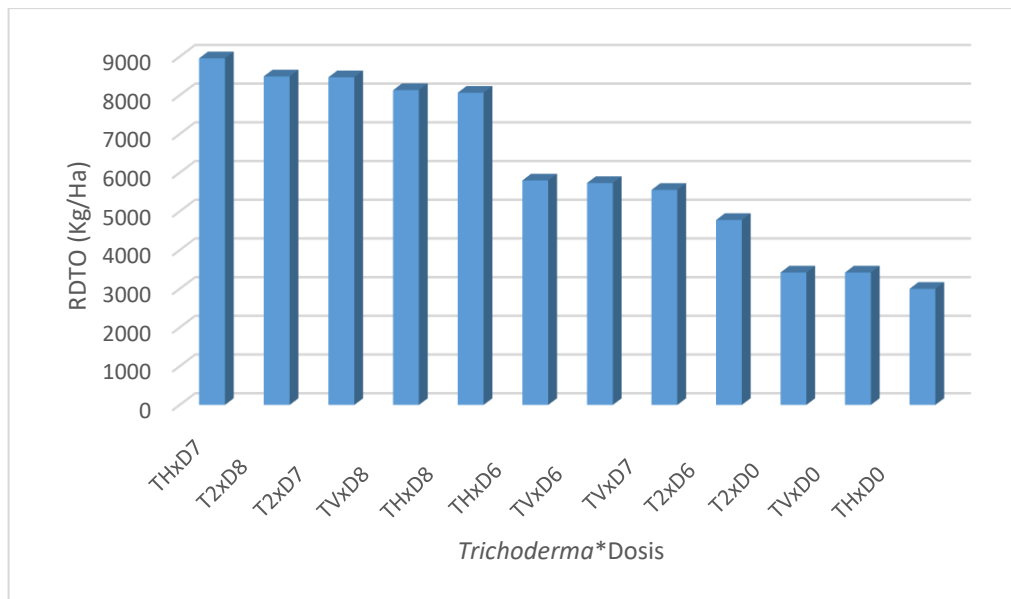


Kg/Ha; mientras el Testigo (D0) tuvo menor altura de planta, alcanzando un rendimiento máximo de 3000 Kg/Ha en la última evaluación.

**Tabla19.** Prueba de Comparación de medias de Tukey para factor Interacción *Trichoderma* spp \* Dosis con significancia estadística.

TRICH	DOSIS	RDTO	Significancia
TH	D7	8955.67	a
T2	D8	8489.00	a b
T2	D7	8466.67	a b
TV	D8	8133.33	a b
TH	D8	8066.67	a b
TH	D6	5800.00	a b c
TV	D7	5733.33	a b c
TV	D6	5555.67	a b c
T2	D6	4777.67	b c
T2	D0	3422.33	c
TV	D0	3422.33	c
TH	D0	3000.00	c

- TH: *T. harzianum*
- TV: *T. viride*
- T2: *T. nativo*
- D8: Concentración  $1 \times 10^8$
- D7: Concentración  $1 \times 10^7$
- D6: Concentración  $1 \times 10^6$
- D0: Testigo
- Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )



- TH: *T. harzianum*
- TV: *T. viride*
- T2: *T. nativo*
- D8: Concentración  $1 \times 10^8$
- D7: Concentración  $1 \times 10^7$
- D6: Concentración  $1 \times 10^6$
- D0: Testigo

**Figura 26.** Rendimiento (Kg/Ha) según a la interacción de *Trichoderma*\*Dosis.

En la Figura 25, se puede observar que todos los tratamientos tuvieron una respuesta en el rendimiento (Kg/Ha). Pero, los tratamientos con interacción *Trichoderma harzianum* con D7 ( $1 \times 10^7$  ufc) tuvo mayor respuesta en rendimiento, alcanzando a un máximo de 8955.67 (Kg/Ha), seguido del tratamiento *T. nativo*\*D8 y D6, *T. harzianum*\*D7 y así sucesivamente, con rendimientos de 8489, 8466 Kg/Ha respectivamente. El tratamiento testigo solo tuvo 3000 Kg/Ha de rendimiento.

Leon (2016) menciona según los tratamientos aplicados en campo T1, T2, T3, y T10 con una concentración de  $1 \times 10^7$  ufc presentaron los valores más altos en altura de planta (99.01, 101.52, 104.25 y 92.76 cm) y rendimiento (3127.30, 2866.57, 3029.12 y 3032.54 kg. ha<sup>-1</sup> respectivamente) en comparación al Testigo (T11) con 71.55 cm, 21.48 cm, 16.42 g. planta<sup>-1</sup>, 9.34 g. planta<sup>-1</sup> y 1141.27 kg. ha<sup>-1</sup> respectivamente. Esto quiere decir que los hongos antagonistas obtenidos de la misma planta actúan mucho mejor que hongos comerciales de otros lugares. También Ortiz (2016) afirma que se logró el mayor efecto en el crecimiento y rendimiento en plantas de quinua ambos métodos (semilla peletizada y via Drench suelo) con cepas de *Trichoderma* sp destacando la cepa T.E.7 tuvo mayor efecto en número de hojas con 115.60 hojas, diámetro de tallo con 9.87mm, longitud radicular 44.31 cm y rendimiento con 3893.70 kg/Ha. Superiores al testigo.



Asimismo, Minchez (2015) determinó que el mejor rendimiento en vaina que se obtuvo fue el tratamiento uno ya que en la aplicación de *Trichoderma harzianum* a ciertas concentraciones se presenta en un aumento del rendimiento por la ganancia de peso en cada una de las vainas y granos de haba y un mayor número de flores por planta, como se muestra en los rendimientos obtenidos en la evaluación, a pesar de la poca variabilidad estadística con un promedio de 10,814.81 kg/ha en relación a los demás tratamientos; y el que presentó menores rendimientos fue el tratamiento cinco con un promedio de 7,439.81 kg/ha, obteniendo una diferencia de 2,745 kg/ha, tomando en cuenta que al realizar las aplicaciones de *Trichoderma harzianum*, según Soto, Osorio, Muñoz, and Galindo (2002) mencionan que puede haber un incremento en el peso de las plantas y un aumento en la floración, por ende esto se transforma en un incremento en el rendimiento del cultivo.

Según, Agrobeta (2014) confirma que, se han realizado algunos estudios preliminares con *Trichoderma harzianum* y demás especies, para la estimulación del crecimiento sobre plantas de haba, donde los aislamientos seleccionados estimularon la germinación y presentaron un aumento en la altura de las plantas entre el 70 y 80%, y una ganancia en peso de un 60% aproximadamente, ello supone un incremento en los rendimientos de este cultivo. Un ensayo similar realizado sobre pasto Estrella demostró que la ganancia en peso seco con algunos aislamientos es cercana al 23%, en longitud de las raíces y de estolones este incremento fue de un 30%

E. Harman (2006) menciona que *Trichoderma* es capaz de colonizar la superficie de las raíces y causar cambios sustanciales en el metabolismo de los tejidos de las plantas promoviendo el crecimiento de las plantas, incrementando la disponibilidad de nutrientes y mejorando la producción de los cultivos.



## V. CONCLUSIONES

- *Trichoderma* spp. presentaron actividad antagónica en cultivos *IN VITRO* frente a *Botrytis fabae*. En la prueba de micoparasitismo, las tres cepas resultaron ser micoparasitos agresivos, colonizando al patógeno (100%). Y en la prueba de antibiosis, los metabolitos secundarios obtenidos del *Trichoderma* nativo se logró con un 50.96% de inhibición micelial de *B. fabae*, seguidos de *T. harzianum*, *T. viride* con 43.53y 40.39% respectivamente.
- Los valores de Área bajo la curva de progreso de la enfermedad (AUDPC) fueron significativamente menores en todos los tratamientos que recibieron aplicaciones de *Trichoderma* spp que el testigo (AUDPC = 166.56), siendo la mejor concentración  $1 \times 10^8$  ufc del *Trichoderma* nativo con un valor de AUDPC= 32.44.
- Los mejores rendimientos se obtuvieron con las concentraciones D7 ( $1 \times 10^7$  ufc) y D8 ( $1 \times 10^8$  ufc) con 8,956 kg/ha y 8,467 kg/ha respectivamente, a diferencia del testigo que obtuvo 3,000 kg/ha.



## VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios *In vitro* sobre la capacidad antagónica de hongos nativos de haba y su biocontrol frente a *Botrytis fabae*, *Alternaria alternata* y *Uromyces fabae*,
- Realizar estudios de identificación y caracterización de cepas nativas de *Trichoderma*
- Realizar estudios sobre la aplicación de *Trichoderma* sp. (nativos) en diferentes variedades de haba para así ver resultados de comparación en las características agronómicas y el biocontrol de distintas enfermedades.
- Realizar inoculaciones de cepas nativas de *Trichoderma* spp. de semillas y para evaluar el comportamiento de la planta en el cultivo de haba.



## VII. REFERENCIAS

- Agrios, G. (2005). Plant Pathology. In A. Press (Ed.), (5th Edicion ed., pp. 922). San Diego, Estados Unidos.
- Agrobeta. (2014). Fabricación y comercialización de abonos y fertilización ecológica, productos y ensayos. España. disponible en línea [www.agrobeta.com](http://www.agrobeta.com).
- Ajquejay, E. (2013). *Evaluacion del rendimiento de tres variedades del haba (Vicia faba), con calidad de grano para la exportacion*. La Joya Grande - Zaragoza, Chimaltenango -Guatemala.
- Aldana, L. (2010). Produccion comercial y de semilla de haba. In El Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (Ed.), *PROETTAPA* (Primera Edicion ed., pp. 49). Quetzaltenango, Guatemala: Compuimpresos S.A.
- Alexopoulos, C., Mims, C., & Blackwell, M. (1996). Introductory Mycology. *Edition willey-New York, Fourth edition*, 237.
- Alvarez, A., & Huayta, E. (2000). Medidas y errores 2° Edicion (pp. 199). La Paz – Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés.
- Arias, E., & Piñeros, A. (2008). Aislamiento e identificación de los hongos filamentosos de muestras de suelos de paramos de Guasca y Cruz Verde. *TESIS*, Pag. 1-204.
- Astudillo, M., & Blanco, C. (1996). *Establecimiento de los parametros de produccion semi-industrial del hongo Trichoderma harzianum utikizado en control biologico*. (Pregrado), Pontificia Universidad Javeriana. (7.11)
- Bailey, B. A., Bae, H., Sirem, M. D., Crozier, J., Thomas, S. E., Samuels, G. J., . . . Holmes, K. A. (2008). Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control*, Vol. 46, p. 24-35.
- Bailey, B. A., Bae, H., Strem, M. D., Crozier, J., Thomas, S. E., Samuels, G. J., ..., & Holmes, K. A. (2008). Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control*, 46(1), 24-35. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.1001.1003>.
- Basantes, E. (2015). Manejo de cultivos andinos del Ecuador. In I. científicas (Ed.), *Silvicultura y fisiología vegetal aplicada* (pp. 145). Ecuador.
- Benitez, T. e. a. (2004). Biocontrol Mechanisms of *Trichoderma* Strains. *International Microbiology*, 249-260.





- Bravo, R. Y. (2010). Manejo agroecológico de plagas andinas. ((1 ed) Puno, Perú: El Altiplano. ed.).
- Cardona, C. (2000). Estudio integral sobre el producto haba en el departamento de Potosí. *Universidad Mayor Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca Servicio Holandés de Cooperación y Desarrollo. Sucre-Bolivia.*, 94.
- Coca, M. (2004). Enfermedades foliares del haba (*Vicia faba*). En el altiplano de La Paz y su manejo. In U. M. d. S. A. F. d. Agronomía (Ed.). La paz, Bolivia.
- Coley, J., Verhoeff, K., & Jarvis, W. (1980). The biology of *Botrytis*. In A. Press (Ed.), (pp. 318). London, England.
- Condori, N. (2016). *Hongos antagonicos nativos de Vicia faba L. con capacidad biocontrol hacia Botrytis fabae*. (Pregrado), Universidad Nacional del Altiplano, Puno. (4030)
- Crespo, M. (1990). Investigaciones realizadas en el cultivo de haba *Vicia faba* L. en Bolivia. *PROCIANDINO*, 14.
- Crespo, M. (1996). Haba (*Vicia faba* L.) In Las leguminosas en la Agricultura Boliviana *Proyecto Rhizobiología Bolivia* (Vol. 176 - 190). Cochabamba – Bolivia.
- Cubero, J. (1983). Origen, evolución y mejora genética de las leguminosas de grano. In L. d. g. M. Prensa. (Ed.), *En: Cubero J., Moreno, M. (eds)*.
- Chiriboga, H., Gómez, G., & Garcés, K. (2015). TRICHODERMA SPP. PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES. In IICA (Ed.), *PROTOCOLOS PARA FORMULACIÓN Y APLICACIÓN DEL BIO-INSUMO*: (pp. 28). Paraguay.
- Davidson, J., Pande, S., Bretag, T., Lindbeck, K., & Kishore, G. (2007). Biology and management of *Botrytis spp.* in legume crops. *Springer* (pp. 295-318). USA.
- Deverall, B., & Wood, R. (1961). Infection of bean plants (*Vicia faba* L.) with *Botrytis cinerea* and *B. fabae* *Botany Department, Imperial College, London*, 49, 461-472.
- Díaz, J. (1994). Algunos aspectos biológicos de Trichoderma y su posible uso como biocontrol. . *Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria de La Habana*.
- Domsch, K., Anderson, W., & Yersoon, T. (1980). Compedium of soil fungi revision of the genus *nTrichoderma*. *Axademic Press-London*, 136-139.
- Elad, Y., Williamson, B., Tudzynski, P., & Denle , N. (2007). *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. *Springer*, 403.



- Espinal, C., Huanca, M., Terrazas, E., & Turba, G. (2010). Evaluación de la actividad biocontroladora de *Trichoderma inhamatum* cepa BOL 12 QD, frente a *Botrytis fabae*, causante de la mancha chocolate en cultivos de haba (*Vicia faba*). *BIOFARBO*, 1, 18.
- Fakhrunnisa, H., & Ghaffar, A. (2006). *In vitro* interaction of *fusarium spp.*, with other fungi. *Pakistan Journal of Botany*, 38, 17 - 22.
- FAO. (2018). *Nuestras legumbres pequeñas semillas, grandes soluciones*. Ciudad de Panamá: Marcelo Alborno Jover (Paraguay)
- Fonseca, A. (1998). *Preliminar sobre la dinamica ppoblacional del biocontrolador Trivhoderma spp. en el suelo*. (Tesis Pregrado), Pontificia Universidad.
- Garcia, G. (2013). Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades de en el cultivo de maiz blanco amilaceo *Guia tecnica* - (pp. 24). Quispicanchi- Cusco.
- Gómez, H., Soberanis, W., Tenorio, M., & Torres, E. (2013). Manual de producción y uso de hongos antagonistas. In SENASA (Ed.). Peru.
- Guadarrama, M., Lopez, M., & Laguna, A. (2006). Reduccion del uso de fungicidas en el control de *Botrytis fabae* mediante genotipos tolerantes de haba (*Vicia faba* L.).
- Guigón, C., Guerrero, V., Vargas, F., Carvajal, E., Ávila, G., Bravo, L., . . . Lorito, M. (2010). Identificación Molecular de Cepas Nativas de *Trichoderma spp.* su Tasa de Crecimiento *in vitro* y Antagonismo contra Hongos Fitopatogenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 87-96.
- Gunn, C. (1978). Genus *Vicia* with notes about tribe Vicieae (Fabaceae) in Mexico Central Aamericana. *Technical Bulletin N° 1601 USDA Washington. USA*, 36.
- Hanada, R. E., de Jorge Souza, T., Pomella, A. W. V., Hebbar, K. P., Pereira, J. O., Ismaiel, A., y , & Samuels, G. J. (2008). *Trichoderma martiale* sp. nov., a new endophyte from sapwood of *Theobroma cacao* with a potential for biological control. *Mycological Research*, 112(11),, 1335-1343. doi: <http://dx.doi.org/1310.1016/j.mycres.2008.1306.1022>.
- Hanson, E., & Howell, R. (2004). Elicitors of plant defense responses from biocontrol strains of *Trichoderma virens*: *Phytopathol. Nature Review Microbiology.*, 171–176.
- Harman, E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma spp*: *Phytopathol. Nature Review Microbiology.*, 190–194.
- Harman, G. (2001). *Trichoderma spp.* including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. inhamatum* and other sp Deuteomycetes Moniales (asexual classification system



- Biocontrol entomology. *Recuperado de* <https://biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/Trichodermaphp>(agosto,2016).
- Harman, G., Howell, C., Viterbo, A., Chet, I., & Torito, M. (2009). *Trichoderma* species opportunistic avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 1(2), 43-56. doi: 10:1038/nrmicro797
- Hoyos, L., & Duque, G. (2008). Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre aislamiento de *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp. *Rev. Colombiana de Ciencias Hortícolas*, vol. 2(No 01), pp76-86.
- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2008). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24, 11.
- INIA. (2013). INIA 423 - BLANCA GIGANTE YUNGUYO. In E. E. A. I. Puno (Ed.), (pp. 4). Puno.
- JICA. (2006). Manual de producción del Haba *Ed. JICA* (pp. 66). Achacachi – Bolivia.
- Jimenez, J. (2006). Efecto biocontrolador de la cepa *Trichoderma inhamatum* BOL 12 QD-1 sobre el patógeno *Botrytis fabae* causante de la mancha del chocolate en el cultivo de haba de la comunidad de Chirapaca., *Tesis Magister Scientiarum*.
- Leon, B. (2016). *Biocontrol del mildiu (Peronospora variabilis Gäum.) DE LA QUINUA (Chenopodium quinoa Willd.) con cepas de Trichoderma sp. con capacidad endofítica*. (128), Universidad Nacional del Altiplano, Puno.
- Leon, B., Rojas, M., Rodriguez, G., Arévalo, E., & Márquez, K. (2010). Antibiosis y micoparasitismo a los principales patógenos de cacao (*Theobroma cacao*) por hongos endófitos. *Paper presented at the XXI Congreso Peruano de Fitopatología. Tarapoto-Peru*.
- Lopez, L., Hernandez, M., & Colin, C. (2013). Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *Investigacion en discapacidad*, Pag. 10-18.
- MACA. (2005). Boletín técnico “cultivo de haba” Consultado el 13 de marzo de 2006 *Disponible en* [http:// www.agrobolivia.gov.bo](http://www.agrobolivia.gov.bo) La Paz- Bolivia.
- Mamani, F. (2007). Uso de *Trichoderma* sp para el control de enfermedades fungosas foliares en haba (*Vicia faba* L.) en el Altiplano Norte, La Paz. *Tesis de grado para obtener el Título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Mayor de San Andres, Facultad de Agronomía. La Paz – Bolivia.*, 86.



- Mattos, G. (2000). *Fisiología vegetal*. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz – Bolivia.
- Meier, U. (2001). Estadios de las plantas mono- y dicotiledóneas. . In C. F. d. I. B. p. A. y. Silvicultura. (Ed.), *BBCH Monografía*. (Vol. 149).
- Mejía, L. C., Rojas, E. I., Maynard, Z., Bael, S. V., Arnold, A. E., Hebbbar, P., & Herre, E. A. (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control*, 46(1), (doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.012>), 4-14.
- Merchan, B., Ferrucho, L., & Alvarez, G. (2014). Efecto de dos cepas de *Trichoderma* en el control de *Botrytis cinerea* y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria* sp.). *REVISTA COLOMBIANA DE CIENCIAS HORTÍCOLAS*, Vol. 8, pp. 44-56.
- Minchez, I. (2015). *Evaluación de Trichoderma harzianum para el control de Botrytis fabae en el cultivo de haba, San Marcos*. (pregrado), Universidad Rafael Landívar, Quetzaltenango.
- Mirzaei, S., Mohammadi, M., Shams, B., & Safaie, N. (2008). Identification of *Botrytis* spp. On Plants Grown in Iran. *Journal of Phytopathology*, 21–28.
- Mohapatra, N., Mukherjee, A., Suriya, R., & Nayak, P. (2008). Disease progress curves in the rice blast pathosystem compared with the logistic and gompertz models. *ARPJ Agric Biol Sci*, 3, 28-37.
- Molina, S. (2006). *Manejo de patógenos que provocan enfermedades de raíz Fusarium oxysporum Schl y Rhizoctonia solani Kuhn, aplicando el hongo antagonista Trichoderma harzianum en pascua Euphorbia pulcherrina Willd. ex klotzsch en finca del fuego san Juan Alotenango, Sacatepéquez*. (Tesis Ing. Agr. Guatemala), USAC, Guatemala.
- Mondino, P. (2002). control Biológico de enfermedades en plantas (pp. 5). Uruguay.
- Montgomery, D. C. (2008). Design and analysis of experiments. (7th ed.): John Wiley y Sons.
- Moore, E. (1996). fundamentakof the fungi. *Prentice hall New Jersey, Fourth Edition*, 574.
- Morante, M. (2007). *Manchas foliares del haba (Vicia faba L.)*. Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia.
- NCBI. (2010). National Center for Biotechnology Information. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Consultado el 07 de Julio de 2010.



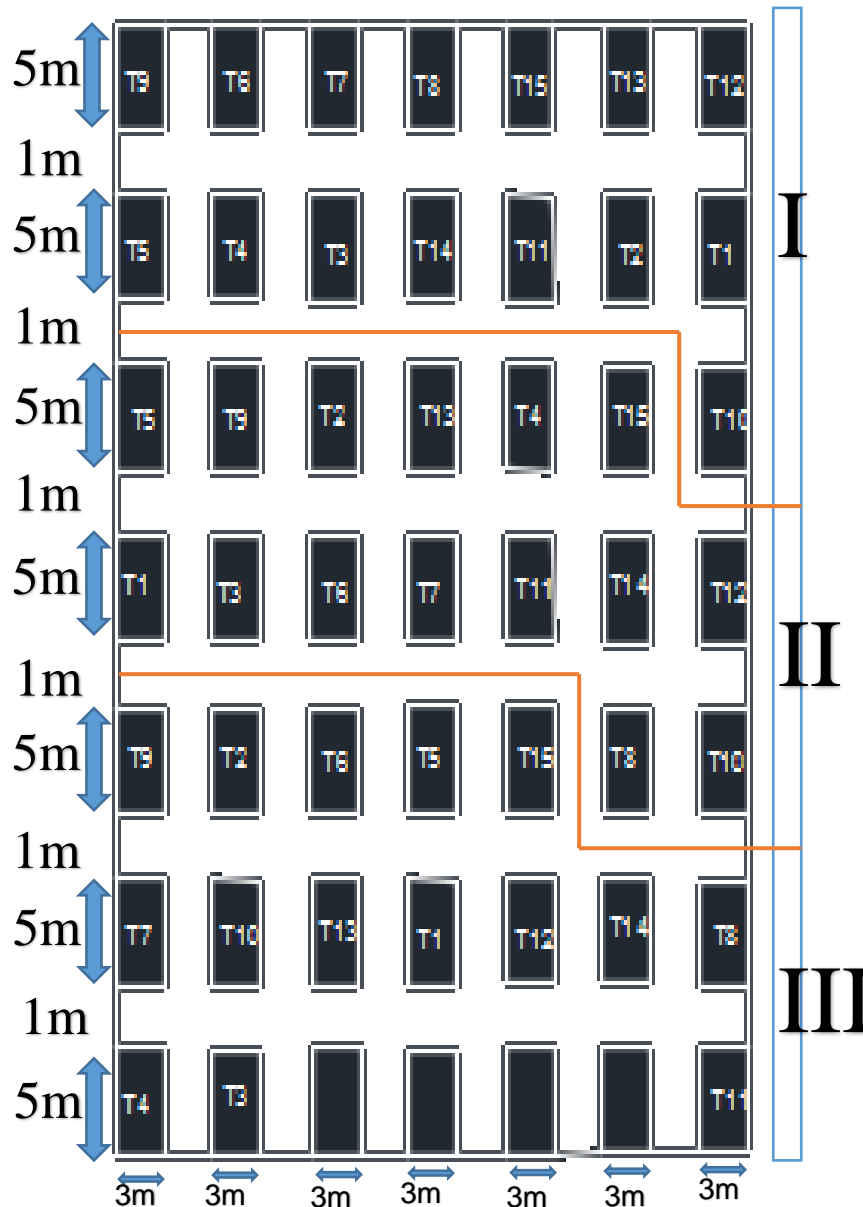
- Ortiz, N. (2016). *Biofertilización con Cepas de Trichoderma sp en el crecimiento y nutrición de quinua (Chenopodium quinoa Will) Var. Salcedo inia en condiciones de invernadero* (Pregrado), Universidad Nacional del Altiplano, Puno.
- Pal, K. K., & McSpadden Gardener, B. (2006). Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor*. doi: 10.1094/phi-a-2006-1117-02
- Pandya, J., Sabalpara, A., & Chawda, S. (2011). Trichoderma: a particular weapon for biological control of phytopathogens. *Journal of Agricultural Technology*, 7(5), 5.
- Peralta, E., Cevallos, E., Vásquez, J., & Pinzón, J. (1995). Guía para el cultivo de haba. In E. E. S. C. EC: INIAP, Programa de Leguminosas (Ed.), (pp. 17). Quito - Ecuador.
- Quispe, M. (2011). MANUAL DE MANEJO Y CONTROL INTEGRADO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES EN HABA (Vol. 24, pp. 24). Puno- Peru.
- Royse, D. J., & Ries, S. M. (1978). The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. *Rev. Ecology and Epidemiology*, Vol.68, Pag. 603-607.
- Sanchez, G. (1994). Ecología de Insectos. *Universidad Nacional Agraria La Molina- Departamento de Entomología y Fitopatología Lima- Peru*, 2° Ed., 264.
- Sanchez, G., & Sarmiento, J. (2000). Evaluación de insectos. *Universidad Nacional Agraria La Molina- Departamento de Entomología y Fitopatología Lima- Peru*, 2° Ed. , 117.
- Sanchez, G., & Vergara, C. (2003). Manuel de Practicas de Entomología Agrícola. 5° Ed., 172.
- Serrano, L., & Galindo, G. (2007). Control biológico de organismos fitopatógenos: un reto multidisciplinario *CIENCIA*, 77-89.
- Sivila, N., & Álvarez, S. (2013). *Producción Artesanal de Trichoderma.*, Universidad Nacional de Jujuy., Argentina.
- Soto, B., Osorio, A., Muñoz, M., & Galindo, R. (2002). El uso de *Trichoderma harzianum* como agente mejorador de plantas ornamentales. Mexico, p. 2.
- Sucaticona, F. (2018). ACTIVIDAD ANTAGÓNICA in vitro DE LOS HONGOS *Trichoderma spp* y *Lecanicillium spp*. FRENTE AL HONGO DE LA ROYA AMARILLA DEL CAFÉ (*Hemileia vastatrix*) EN CONDICIONES DE LABORATORIO. *Tesis- Licenciada de Biología*, 87.



- SUNAT. (2014). Boletín estadístico de Comercio Exterior Agrario. In SIEA (Ed.). Peru.
- Tovar, J. C. (2008). EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTAGONISTA *in vivo* DE AISLAMIENTOS DE *Trichoderma* spp FENTE AL HONGO FITOPATOGENO *Rhizoctonia solani*. *Tesis- Microbiologo Agricola y Veterano*, Bogota D.C. Pag. 81.
- Vargas, R. (2014). Antagonismo de *Trichoderma koningiopsis* y *Trichoderma harzianum* Sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* Y *Phoma terrestris in vitro*. *TESIS*, pp. 14-118.
- Yedidia, I., Shores, M., Kerem, Z., Benhamou, N., Kapulnik, Y., & Chet, I. (2003). Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae*, *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins: *Appl. Environ. Microbiol.*, 43-53.

## ANEXOS

**Figura 27.** Distribución de tratamientos, surcos, bloques según Diseño experimental de Bloque Completo al Azar en parcelas divididas con un arreglo factorial 3X4 con 3 repeticiones en el distrito de Chucuito de la provincia de Puno, durante la campaña agrícola 2017-2018.



Número de surcos por parcela: 5  
 Distancia entre surcos: 0,70 m  
 Longitud de surcos: 5 m  
 Ancho de parcela: 3 m  
 Distancia entre parcelas: 1 m  
 Área efectiva del experimento: 1107m<sup>2</sup>

Donde:	
T1	THxD8
T2	THxD7
T3	THxD6
T5	Testigo
T5	TVxD8
T6	TVxD7
T7	TVxD6
T10	Testigo
T9	T2xD8
T10	T2xD7
T11	T2xD6
T15	Testigo





**Tabla 17.** Primera evaluación de la severidad (%) a los 90 dds de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) del cultivo de haba (*Vicia faba*) en hojas de plantas de haba tratadas con cepas de *Trichoderma* spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito.

BLOQUE	TRATAMIENTO	HOJAS	P 1	P 2	P 3	P 4	5	P 6	P 7	P 8	P 9	P 10	Prom
I	12	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	12	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	12	3	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	2.00
I	13	1	0	0	0	1	1	0	3	0	0	1	0.60
I	13	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0.10
I	13	3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0.10
I	15	1	0	0	0	0	3	0	0	0	1	2	0.60
I	15	2	0	0	1	0	0	1	0	0	0	3	0.50
I	15	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.10
I	8	1	0	5	0	0	5	0	0	0	3	0	1.30
I	8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	8	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	7	1	0	2	0	2	3	0	0	2	3	0	1.20
I	7	2	0	0	2	0	0	0	1	1	0	0	0.40
I	7	3	0	2	1	2	0	2	0	0	0	1	0.80
I	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	6	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0.10
I	6	3	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0.50
I	9	1	0	2	0	0	0	1	0	1	4	2	1.00
I	9	2	0	2	0	0	0	0	5	0	0	0	0.70
I	9	3	0	2	2	0	1	0	0	0	0	0	0.50
I	5	1	0	0	0	1	0	3	0	0	5	0	0.90
I	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0.60
I	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	4	1	0	1	0	0	0	3	0	0	0	0	0.40
I	4	2	0	0	2	0	1	1	0	0	0	0	0.40
I	4	3	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0.40
I	3	1	0	0	2	1	10	0	2	0	0	0	1.50
I	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	3	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0.10
I	14	1	0	1	2	0	10	0	0	0	0	2	1.50
I	14	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.10
I	14	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	11	1	0	1	1	0	0	4	0	0	0	0	0.60
I	11	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	11	3	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0.30
I	2	1	0	0	2	0	2	3	0	0	0	0	0.70
I	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	1	1	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0.30



I	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	10	1	0	0	0	0	1	2	1	1	6	1	1.20
I	10	2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	4	0.60
I	10	3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0.10
II	15	1	0	0	0	0	2	2	1	1	1	0	0.70
II	15	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0.10
II	15	3	0	0	0	2	0	0	10	0	0	0	1.20
II	4	1	0	0	0	0	0	0	1	4	2	0	0.70
II	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0.20
II	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	13	1	0	2	0	0	2	0	1	0	0	1	0.60
II	13	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	13	3	0	0	0	0	0	0	2	1	2	0	0.50
II	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0.30
II	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	9	1	0	0	3	0	2	2	0	0	0	0	0.70
II	9	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0.10
II	9	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	5	1	0	0	1	0	2	1	2	1	0	1	0.80
II	5	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0.10
II	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0.10
II	1	1	0	0	3	0	0	0	2	2	0	0	0.70
II	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	1	3	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0.20
II	3	1	0	1	0	1	0	1	3	0	0	0	0.60
II	3	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0.10
II	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	6	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0.20
II	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	6	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0.10
II	7	1	0	0	0	0	3	0	0	0	1	5	0.90
II	7	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0.10
II	7	3	0	0	0	2	0	0	1	0	15	2	2.00
II	11	1	0	0	1	2	1	0	0	0	0	0	0.40
II	11	2	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0.40
II	11	3	0	0	1	0	4	0	0	0	0	0	0.50
II	14	1	0	5	0	0	0	1	0	0	0	0	0.60
II	14	2	0	4	0	0	0	0	0	0	1	0	0.50
II	14	3	0	0	2	4	4	0	0	1	0	0	1.10
II	12	1	0	0	0	3	0	3	1	2	0	0	0.90
II	12	2	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0.30
II	12	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	10	1	0	1	0	2	1	2	2	0	0	4	1.20



II	10	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	25	2.60
II	10	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	8	1	0	3	0	1	0	1	0	0	3	0	0.80
II	8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	8	3	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0.20
III	15	1	0	2	0	5	0	2	3	0	2	3	1.70
III	15	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0.10
III	15	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	5	1	0	0	2	0	0	10	0	1	0	3	1.60
III	5	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0.50
III	5	3	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	1.00
III	6	1	0	5	0	0	0	0	0	0	1	3	0.90
III	6	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0.20
III	6	3	0	0	3	0	0	2	1	0	0	0	0.60
III	2	1	0	0	3	0	0	5	0	0	0	0	0.80
III	2	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0.20
III	2	3	0	0	0	2	1	2	0	0	0	0	0.50
III	9	1	0	2	2	0	0	2	1	0	0	0	0.70
III	9	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0.20
III	9	3	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0.20
III	7	1	0	0	2	1	0	1	0	1	0	1	0.60
III	7	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0.20
III	7	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	10	1	0	2	2	4	3	0	0	1	0	1	1.30
III	10	2	0	2	0	3	3	0	0	0	0	0	0.80
III	10	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0.30
III	13	1	0	0	0	0	0	0	10	1	0	0	1.10
III	13	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	13	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0.40
III	12	1	0	1	3	0	2	0	0	4	0	6	1.60
III	12	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0.10
III	12	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	14	1	0	2	2	2	0	0	0	3	0	0	0.90
III	14	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	14	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	8	1	0	0	0	3	2	1	0	2	0	0	0.80
III	8	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0.10
III	8	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	11	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0.20
III	11	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0.10
III	11	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	3	1	0	2	0	0	1	0	0	1	0	2	0.60



III	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0.20
III	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	4	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0.30
III	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00

**Tabla 18.**Segunda evaluación de la severidad (%) a los 115 dds de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) del cultivo de haba (*Vicia faba*) en hojas de plantas de haba tratadas con cepas de *Trichoderma spp.* con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito.

BLOQ UE	TRATAMI ENTO	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 6	P 7	P 8	P 9	P 10	Pro m
I	12	0	1	0	4	0	0	0	2	5	0	1.20
I	12	0	0	0	4	3	0	0	0	1	2	1.00
I	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	13	0	0	0	0	2	1	2	0	0	0	0.50
I	13	0	0	3	1	0	0	0	0	10	3	1.70
I	13	4	0	0	0	0	7	0	0	0	0	1.10
I	15	1	3	0	0	5	3	4	0	5	0	2.10
I	15	0	3	0	3	0	0	0	2	2	0	1.00
I	15	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0.40
I	8	0	0	0	1	0	10	0	3	0	0	1.40
I	8	0	10	0	5	0	15	0	0	2	0	3.20
I	8	0	3	0	0	0	0	0	0	4	0	0.70
I	7	0	0	6	10	0	0	0	9	0	2	2.70
I	7	0	0	0	3	3	0	0	4	2	0	1.20
I	7	3	3	0	3	0	0	0	5	0	0	1.40
I	6	0	0	0	10	15	15	0	0	5	0	4.50
I	6	0	0	2	10	6	5	0	0	0	0	2.30
I	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	9	1	0	0	2	0	0	3	0	0	0	0.60
I	9	2	0	0	1	0	2	3	1	0	0	0.90
I	9	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0.30
I	5	0	2	0	0	4	0	6	0	10	2	2.40
I	5	3	0	0	0	4	0	0	0	3	0	1.00
I	5	5	0	10	0	0	0	0	0	0	0	1.50
I	4	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0.20
I	4	0	2	0	0	0	2	0	6	0	0	1.00
I	4	2	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0.80
I	3	0	0	0	0	0	5	0	2	0	0	0.70
I	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0.10
I	3	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0.30
I	14	5	0	0	1	0	0	0	2	12	0	2.00
I	14	3	0	0	0	0	0	0	0	15	0	1.80
I	14	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0.50



I	11	0	0	0	0	0	1	0	0	3	0	0.40
I	11	3	0	6	0	0	3	0	0	1	0	1.30
I	11	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0.30
I	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
I	2	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0.30
I	2	0	1	0	0	2	0	2	0	0	0	0.50
I	1	10	0	0	0	10	0	0	2	0	0	2.20
I	1	0	3	5	0	0	7	2	0	0	0	1.70
I	1	0	0	0	5	0	3	0	0	0	0	0.80
I	10	1	2	1	0	0	3	2	3	0	3	1.50
I	10	5	0	3	3	0	2	0	0	0	2	1.50
I	10	0	18	0	0	0	0	0	10	0	0	2.80
II	15	0	3	3	4	0	2	5	0	1	15	3.30
II	15	0	0	0	10	3	0	0	0	3	0	1.60
II	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	1.00
II	4	0	0	0	0	5	0	0	2	0	3	1.00
II	4	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0.30
II	4	0	2	0	3	0	0	0	0	0	0	0.50
II	13	10	0	1	1	0	0	2	0	2	0	1.60
II	13	0	2	4	0	0	0	0	0	1	0	0.70
II	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	2	0	0	6	0	1	2	2	0	10	0	2.10
II	2	0	6	0	1	0	2	0	0	0	0	0.90
II	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0.20
II	9	0	6	0	0	0	0	15	0	0	0	2.10
II	9	0	0	3	0	3	2	10	10	0	0	2.80
II	9	0	0	0	0	0	0	2	0	5	0	0.70
II	5	20	0	5	10	4	0	5	1	2	15	6.20
II	5	10	0	0	3	5	0	2	0	3	20	4.30
II	5	5	10	0	8	0	0	0	0	0	0	2.30
II	1	0	0	0	5	2	0	3	4	0	0	1.40
II	1	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0.30
II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	3	2	0	0	3	0	0	1	0	0	3	0.90
II	3	0	0	5	5	0	3	3	0	0	10	2.60
II	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	6	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0.20
II	6	3	0	2	0	5	0	0	0	0	0	1.00
II	6	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0.30
II	7	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0.20
II	7	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0.20
II	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	11	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	1.00
II	11	0	2	0	0	0	3	0	1	0	0	0.60
II	11	0	0	2	0	0	0	0	0	6	3	1.10



II	14	0	0	0	2	0	0	2	0	0	3	0.70
II	14	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0.30
II	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	12	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0.20
II	12	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0.30
II	10	3	0	0	0	0	1	0	10	10	1	2.50
II	10	1	0	2	0	6	2	0	3	0	0	1.40
II	10	0	0	0	2	3	0	0	0	0	0	0.50
II	8	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0.30
II	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	15	0	5	1	0	0	3	0	0	0	5	1.40
III	15	5	7	2	3	10	4	0	0	0	0	3.10
III	15	0	4	0	2	5	0	2	0	3	0	1.60
III	5	0	0	3	2	2	0	0	2	0	0	0.90
III	5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0.10
III	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	6	0	0	5	2	0	5	0	2	2	1	1.70
III	6	2	6	1	0	1	0	0	0	0	0	1.00
III	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	2	0	0	1	1	0	0	7	1	0	6	1.60
III	2	0	0	0	0	0	3	0	0	4	0	0.70
III	2	0	0	5	6	4	1	0	0	0	0	1.60
III	9	0	0	0	4	0	3	0	0	3	1	1.10
III	9	0	3	2	0	3	0	0	2	0	3	1.30
III	9	0	2	0	2	0	0	3	4	0	8	1.90
III	7	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0.40
III	7	0	0	1	0	0	0	2	3	0	0	0.60
III	7	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0.30
III	10	0	0	0	1	2	2	3	2	3	3	1.60
III	10	0	5	0	3	0	2	2	0	20	0	3.20
III	10	0	3	0	20	0	2	0	0	12	5	4.20
III	13	0	2	0	0	0	0	0	0	0	3	0.50
III	13	10	0	0	0	2	3	0	0	0	0	1.50
III	13	3	0	0	0	0	0	10	0	3	10	2.60
III	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0.30
III	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0.20
III	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	12	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0.40
III	12	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0.40
III	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	14	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0.40
III	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.10
III	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00



III	8	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0.30
III	8	0	1	0	1	0	0	0	3	2	0	0.70
III	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	11	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0.40
III	11	0	0	0	0	0	0	0	7	2	0	0.90
III	11	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0.20
III	3	0	0	5	2	0	0	0	0	0	0	0.70
III	3	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0.40
III	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0.30
III	4	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.20
III	4	2	0	0	3	0	0	2	0	0	0	0.70
III	4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0.10

**Tabla 19.** Tercera evaluación de la severidad (%) a los 135 dds de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) del cultivo de haba (*Vicia faba*) en hojas de plantas de haba tratadas con cepas de *Trichoderma spp.* con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito.

BLOQUE	TRATAMIENTO	P 1	P 2	P 3	P 4	P 5	P 6	P 7	P 8	P 9	P 10	Prom
I	12	2	1	0	0	1	0	2	4	2	2	1.40
I	12	2	2	0	0	4	2	0	0	1	0	1.10
I	12	3	0	0	0	4	3	1	0	1	3	1.50
I	13	5	7	1	2	0	0	0	0	0	0	1.50
I	13	5	5	0	3	0	0	5	1	0	2	2.10
I	13	10	0	0	10	2	4	0	2	5	8	4.10
I	15	25	5	5	0	0	0	2	0	0	6	4.30
I	15	2	0	10	0	0	0	0	2	0	0	1.40
I	15	0	1	5	5	2	4	10	3	0	2	3.20
I	8	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0.40
I	8	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0.60
I	8	15	0	0	0	0	4	3	6	0	0	2.80
I	7	0	0	0	0	3	0	0	0	0	2	0.50
I	7	0	0	1	0	1	10	0	0	2	0	1.40
I	7	0	5	0	0	0	2	0	0	7	0	1.40
I	6	0	10	0	0	0	20	0	0	5	0	3.50
I	6	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0.50
I	6	0	0	3	0	0	0	0	0	1	0	0.40
I	9	0	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0.60
I	9	0	0	10	2	25	0	0	0	2	6	4.50
I	9	0	0	6	2	0	2	0	1	3	0	1.40
I	5	4	0	0	1	3	20	0	0	0	0	2.80
I	5	4	0	3	0	15	0	0	7	10	5	4.40
I	5	0	10	2	4	0	10	0	3	15	0	4.40
I	4	0	1	0	5	0	7	0	3	0	0	1.60
I	4	0	3	25	0	1	0	0	1	0	0	3.00





I	4	4	0	0	0	0	0	0	1	10	0	1.50
I	3	0	0	0	0	2	0	3	10	0	3	1.80
I	3	0	0	0	0	0	0	10	3	0	2	1.50
I	3	0	0	0	4	1	0	0	0	0	0	0.50
I	14	0	0	0	0	0	20	0	2	0	3	2.50
I	14	0	0	0	0	3	3	0	3	0	0	0.90
I	14	4	0	0	0	4	0	0	5	0	0	1.30
I	11	0	0	2	0	1	4	0	4	1	4	1.60
I	11	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.20
I	11	0	0	2	0	2	2	0	1	0	0	0.70
I	2	2	3	0	0	2	2	3	2	0	0	1.40
I	2	0	0	0	0	0	3	2	1	5	0	1.10
I	2	0	1	0	0	1	0	1	0	2	0	0.50
I	1	0	0	0	0	2	1	5	0	2	0	1.00
I	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2	0.60
I	1	0	0	3	8	2	2	0	0	0	4	1.90
I	10	5	8	0	0	0	0	0	0	6	5	2.40
I	10	4	2	0	7	4	2	0	0	4	4	2.70
I	10	2	1	0	0	10	3	10	7	2	0	3.50
II	15	4	0	3	4	0	0	2	0	2	16	3.10
II	15	5	2	8	2	2	4	7	5	8	13	5.60
II	15	2	1	4	0	3	2	4	2	15	0	3.30
II	4	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0.30
II	4	0	0	0	2	0	2	3	0	2	0	0.90
II	4	0	0	0	0	2	0	0	1	1	0	0.40
II	13	0	3	0	0	0	2	10	0	0	2	1.70
II	13	0	2	2	0	0	3	0	0	0	0	0.70
II	13	0	0	3	4	0	0	0	0	2	2	1.10
II	2	0	4	0	0	1	5	2	0	1	0	1.30
II	2	0	0	1	0	4	3	0	0	0	0	0.80
II	2	3	0	0	0	2	4	1	0	1	0	1.10
II	9	0	5	3	5	0	4	0	0	0	0	1.70
II	9	0	1	5	5	0	2	3	4	6	2	2.80
II	9	3	0	2	0	5	0	3	3	3	0	1.90
II	5	6	5	0	0	0	1	0	50	0	2	6.40
II	5	1	0	3	0	1	4	2	25	10	10	5.60
II	5	4	3	2	10	4	0	0	15	5	8	5.10
II	1	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0.40
II	1	0	0	1	0	2	3	2	0	0	0	0.80
II	1	0	0	2	0	0	0	3	1	0	0	0.60
II	3	0	0	10	2	0	0	3	3	0	0	1.80
II	3	0	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0.60
II	3	0	3	4	4	0	0	0	0	0	0	1.10
II	6	0	0	0	0	10	0	0	5	0	5	2.00
II	6	0	2	1	2	0	0	0	2	3	0	1.00



II	6	0	0	0	0	0	5	0	0	4	0	0.90
II	7	0	0	0	1	0	0	0	10	0	0	1.10
II	7	0	2	0	0	0	0	0	0	0	3	0.50
II	7	0	0	0	0	0	4	0	2	15	2	2.30
II	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
II	11	0	0	0	0	0	2	3	0	0	0	0.50
II	11	3	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0.60
II	14	0	2	8	0	2	0	0	0	0	0	1.20
II	14	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0.20
II	14	0	2	0	0	1	0	0	0	7	0	1.00
II	12	0	0	4	2	4	0	1	0	2	3	1.60
II	12	0	0	2	0	1	0	3	1	0	0	0.70
II	12	0	2	0	2	0	7	2	0	0	0	1.30
II	10	4	0	2	0	12	1	0	2	0	40	6.10
II	10	2	3	25	0	0	2	2	4	0	0	3.80
II	10	1	4	4	3	5	2	2	0	5	5	3.10
II	8	0	0	0	3	0	0	3	0	3	0	0.90
II	8	0	4	0	1	0	4	2	1	2	0	1.40
II	8	0	6	10	3	0	7	1	0	2	0	2.90
III	15	5	4	7	5	4	3	4	2	2	2	3.80
III	15	4	0	0	0	2	0	0	0	3	0	0.90
III	15	2	1	25	2	4	10	2	5	0	8	5.90
III	5	0	5	4	14	4	5	10	5	4	1	5.20
III	5	0	10	3	12	0	3	12	0	2	2	4.40
III	5	5	0	1	0	5	2	0	0	0	4	1.70
III	6	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.20
III	6	10	1	0	0	1	0	2	3	0	4	2.10
III	6	0	0	3	0	2	5	0	0	0	4	1.40
III	2	0	6	0	0	7	0	0	0	0	0	1.30
III	2	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.60
III	2	1	0	0	6	0	0	20	0	4	5	3.60
III	9	7	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0.90
III	9	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0.60
III	9	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0.30
III	7	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.10
III	7	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3	0.50
III	7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.10
III	10	0	0	5	10	3	25	1	0	0	0	4.40
III	10	0	0	3	0	0	1	0	0	3	10	1.70
III	10	3	1	6	2	2	3	3	5	4	0	2.90
III	13	10	6	5	0	0	10	0	0	3	0	3.40
III	13	0	3	0	0	0	0	0	0	0	2	0.50
III	13	0	0	0	10	0	2	0	0	0	0	1.20
III	1	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0.70
III	1	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0.40



III	1	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0.30
III	12	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0.40
III	12	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.20
III	12	0	3	2	2	1	0	0	0	0	0	0.80
III	14	0	2	2	0	4	0	0	2	0	0	1.00
III	14	0	0	0	0	2	4	0	0	2	0	0.80
III	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00
III	8	0	2	0	0	3	0	2	0	0	0	0.70
III	8	0	0	0	1	3	4	0	0	5	1	1.40
III	8	1	0	1	0	0	1	0	0	4	2	0.90
III	11	2	3	5	1	0	2	0	2	0	0	1.50
III	11	0	1	0	0	0	0	0	2	1	0	0.40
III	11	0	0	2	0	0	0	0	3	0	0	0.50
III	3	0	0	0	0	1	0	0	0	2	2	0.50
III	3	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0.30
III	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0.20
III	4	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0.40
III	4	2	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0.60
III	4	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.70

dds: días después de la siembra.

Prom: Datos promedio de severidad de tres hojas.

**Tabla 20.** Medición del crecimiento radial (cm) de *Botrytis fabae* en presencia de los controladores biológicos (Diámetro del disco = 0,5 cm).

TRATAMIENTO	MATRIZ	PLACA	CRECIMIENTO				Promed
			A	B	C	D	
TH	1	1	1.5	1.4	1.5	1.7	1.53
		2	1.5	1.5	1.6	1.5	1.53
		3	1.7	1.8	1.7	1.7	1.73
	2	1	1.8	1.8	1.8	1.7	1.78
		2	1.5	1.5	1.5	1.6	1.53
		3	1.6	1.6	1.7	1.7	1.65
	3	1	1.7	1.6	1.6	1.6	1.63
		2	1.7	1.7	1.7	1.6	1.68
		3	1.8	1.7	1.9	1.8	1.80
TV	1	1	1.5	1.4	1.3	1.4	1.40
		2	1.8	1.8	1.5	1.6	1.68
		3	1.6	1.6	1.6	1.5	1.58
	2	1	1.7	1.8	1.8	1.7	1.75
		2	1.5	1.5	1.5	1.5	1.50
		3	1.3	1.2	1.5	1.3	1.33
	3	1	1.5	1.4	1.4	1.5	1.45
		2	1.8	1.7	1.8	1.7	1.75
		3	1.8	1.7	1.7	1.8	1.75
T2	1	1	1.4	1.3	1.2	1.4	1.33
		2	1.3	1.2	1.3	1.3	1.28
		3	1.4	1.6	1.5	1.5	1.50
	2	1	1.4	1.4	1.4	1.4	1.40
		2	1.5	1.5	1.5	1.3	1.45
		3	1.7	1.5	1.4	1.5	1.53
	3	1	1.2	1.5	1.3	1.2	1.30
		2	1.3	1.3	1.5	1.5	1.40
		3	1.5	1.6	1.5	1.4	1.50
T CONTROL PSA	1	1	2.5	2.7	2.8	2.7	2.68
		2	2.4	2.7	2.8	2.3	2.55
	2	1	2.4	2.5	2.4	2.5	2.45
		2	2.8	2.7	2.4	2.8	2.68
	3	1	2.4	2.4	2.6	2.4	2.45

**Tabla 21**, Evaluación de características morfológicas de plantas del cultivo de haba (*Vicia faba*) var. Blanca Gigante de Copacabana tratadas con cepas de *Trichoderma* spp con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito de la provincia de Puno, durante la campaña agrícola 2017-2018.

BLOQ	TRICH	DOSIS	Prom AP	Prom NR	Prom NV	Prom NG	prom PSB g/planta	prom PG g/planta	Prom RDTO/Ha
I	T2	D8	159.70	8.00	24.80	74.20	37.20	14.80	9867
I	T2	D7	144.30	5.70	24.60	50.00	34.70	11.50	7667
I	T2	D6	147.60	6.10	20.40	36.10	25.40	5.40	3600
I	T2	TA	140.40	5.90	18.10	29.40	24.40	4.20	2800
I	TH	D8	151.60	6.80	24.80	71.40	37.60	9.70	6467
I	TH	D7	150.60	8.30	33.40	69.40	40.30	17.50	11667
I	TH	D6	149.90	7.20	25.40	53.20	33.40	10.00	6667
I	TH	TA	124.50	4.20	10.60	27.80	18.90	4.20	2800
I	TV	D8	152.80	6.30	27.00	50.50	32.60	14.20	9467
I	TV	D7	152.80	6.20	20.90	42.70	35.50	8.30	5533
I	TV	D6	146.90	5.90	22.80	46.80	33.20	9.10	6067
I	TV	TA	139.00	5.50	18.50	27.30	32.00	5.80	3867
II	T2	D8	165.60	8.80	32.10	67.20	50.40	10.90	7267
II	T2	D7	143.60	8.00	22.80	75.60	40.00	15.00	10000
II	T2	D6	152.40	7.80	23.00	44.70	39.00	8.40	5600
II	T2	TA	147.10	6.60	20.00	46.00	33.80	5.70	3800
II	TH	D8	129.10	7.60	30.70	64.50	34.00	13.80	9200
II	TH	D7	147.00	7.30	28.50	55.90	45.60	11.80	7867
II	TH	D6	132.10	6.90	32.40	58.80	30.00	10.70	7133
II	TH	TA	138.80	8.20	25.30	50.10	28.80	5.00	3333
II	TV	D8	155.30	8.00	23.30	47.10	34.90	13.70	9133
II	TV	D7	155.40	7.90	29.40	42.70	35.10	9.90	6600
II	TV	D6	155.60	6.70	38.20	35.30	36.00	6.80	4533
II	TV	TA	139.00	6.90	21.00	32.30	34.70	5.10	3400
III	T2	D8	153.60	8.20	28.80	62.30	44.10	12.50	8333
III	T2	D7	140.20	10.50	36.60	51.30	59.10	11.60	7733
III	T2	D6	139.30	7.30	25.60	43.60	27.20	7.70	5133
III	T2	TA	137.10	7.90	20.70	36.10	26.80	5.50	3667
III	TH	D8	154.70	10.30	29.20	72.10	42.30	12.80	8533
III	TH	D7	147.30	7.30	21.80	63.60	24.00	11.00	7333
III	TH	D6	132.20	6.90	17.30	33.20	22.60	5.40	3600
III	TH	TA	123.70	8.50	24.40	27.00	32.50	4.30	2867
III	TV	D8	138.00	8.80	23.60	47.50	34.70	8.70	5800
III	TV	D7	149.30	9.60	24.60	46.20	29.70	7.60	5067
III	TV	D6	154.20	9.40	32.30	46.00	34.40	9.10	6067
III	TV	TA	119.60	6.50	22.40	24.90	28.20	4.50	3000

**Tabla 22.** Precipitación total (mm) y Temperatura media mensual (°C).

DATOS METEREOLÓGICOS PRECIPITACIONES (mm)												
AÑOS	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Agos	Sept	Oct	Nov	Dic
2012	155.30	308.90	175.70	106.40	0.00	0.00	0.00	16.00	15.30	27.30	29.40	220.40
2013	179.70	179.10	94.00	4.50	20.90	15.00	29.40	16.90	13.70	47.20	58.10	161.80
2014	206.60	88.90	94.60	22.30	0.00	0.00	2.20	40.10	72.80	62.20	23.20	93.20
2015	148.00	180.00	196.00	133.30	5.00	0.00	2.80	13.90	29.50	82.70	51.30	46.62
2016	74.50	169.60	26.80	90.00	7.20	2.80	9.60	5.90	16.10			
<b>P (mm)</b>	152.82	185.30	117.42	71.30	6.62	3.56	8.80	18.56	29.48	54.85	40.50	130.51
2017	150.20	162.40	138.60	34.00	8.00	4.00	12.00	1.30	65.10	40.90	28.60	100.40
2018	166.30	156.60	102.60	74.20	12.20	16.30	44.30	3.60	0.00	105.90	16.70	124.70
<b>P (mm)</b>	158.25	159.50	120.60	54.10	10.10	10.15	28.15	2.45	32.55	73.40	22.65	112.55
DATOS METEREOLÓGICOS TEMPERATURA MEDIA (°C)												
AÑOS	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Agos	Sept	Oct	Nov	Dic
2012	11.60	10.70	10.50	9.80	8.30	7.40	7.30					
2013	10.92	10.87	10.87	9.36	9.18	7.52	7.54	7.76	9.58	10.70	11.39	11.19
2014	10.86	11.06	11.06	10.45	9.18	9.01	8.05	8.42	9.40	10.49	11.51	11.94
2015	10.42	11.09	10.64	9.97	9.07							
2016	14.00	11.00	10.30	9.90	7.20	2.80	9.60	5.90	16.10	11.55	7.60	9.80
<b>T (°C)</b>	11.74	10.94	10.67	9.90	8.59	6.68	8.12	7.36	11.69	10.91	10.17	10.98
2017	10.90	11.30	10.70	5.00	8.00	4.00	12.00	10.17	8.70	9.63	11.25	11.11
2018	10.11	10.05	10.11		10.41	6.44	6.65	7.11	8.25	10.19	11.22	10.52
<b>T (°C)</b>	10.51	10.68	10.70	5.00	9.21	5.22	9.33	8.64	8.48	9.91	11.24	10.81

**Tabla 23.** Análisis de varianza del porcentaje de micoparasitismo en 4 días.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1268.04	2	634.02	12.9	0.0067
Aislamiento	1268.04	2	634.02	12.9	0.0067
Error	294.91	6	49.15		
Total	1562.95	8			

CV:10.14      R<sup>2</sup>:0.81

**Tabla 24.** Análisis de varianza del porcentaje de micoparasitismo en 7 días

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo	450.2	2	225.1	2.72	0.1446
Aislamiento	450.2	2	225.1	2.72	0.1446
Error	497.44	6	82.91		
Total	947.64	8			

CV:11.55      R<sup>2</sup>:0.48

**Tabla 25.** Análisis de varianza del porcentaje de inhibición micelial de *Botrytis fabae* en presencia de metabolitos inhibitorios de las especies *Trichoderma* spp.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
Modelo	176.31	2	88.15	14.27	0.0052
Tratamiento	176.31	2	88.15	14.27	0.0052
Error	37.06	6	6.18		
Total	213.37	8			

CV: 5.53      R<sup>2</sup>:0.83

**Tabla 26.** Análisis de varianza del Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (AUDPC) de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) del cultivo de haba (*Vicia faba*) a tratadas con cepas de *Trichoderma* spp en el distrito de Chucuito.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	222.95	13	17.15	11.15	<0.0001
bloque	4.54	2	2.27	1.48	0.2501
Cepa	1.41	2	0.7	0.46	0.6387
Dosis	198.31	3	66.1	42.99	<0.0001
Cepa*Dosis	18.69	6	3.11	2.03	0.1051
Error	33.83	22	1.54		
Total	256.78	35			

CV: 16.87      R<sup>2</sup>: 0.87



**Tabla 27.** Análisis de varianza de la altura de planta (cm) de haba (*Vicia faba*) tratadas con cepas de *Trichoderma* spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	2719.86	13	209.22	8.10	<0.0001	
BLOQUES	319.90	2	159.95	6.19	0.0074	
TRICHODERMA		123.23	2	61.61	2.38	0.1156
DOSIS	1694.67	3	564.89	21.86	<0.0001	
TRICHODERMA*DOSIS	582.06	6	97.01	3.75	0.0101	
Error	568.57	22	25.84			
Total	3288.43	35				

CV: 3.76 R<sup>2</sup>: 0.83

**Tabla 28.** Análisis de varianza del número de ramas de haba (*Vicia faba*) tratadas con cepas de *Trichoderma* spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	1.19	13	0.09	2.73	0.0184	
BLOQUES		0.80	2	0.40	11.92	0.0003
TRICHODERMA		0.01	2	0.01	0.19	0.8295
DOSIS	0.34	3	0.11	3.42	0.0352	
TRICHODERMA*DOSIS		0.03	6	0.01	0.17	0.9834
Error	0.74	22	0.03			
Total	1.92	35				

CV: 6.32 R<sup>2</sup>: 0.62

**Tabla 29.** Análisis de varianza del número de vainas de haba (*Vicia faba*) tratadas con cepas de *Trichoderma* spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	5.87	13	0.45	1.92	0.0861	
BLOQUES		1.14	2	0.57	2.43	0.1114
TRICHODERMA		0.03	2	0.02	0.07	0.9329
DOSIS	3.55	3	1.18	5.02	0.0084	
TRICHODERMA*DOSIS		1.15	6	0.19	0.81	0.5731
Error	5.18	22	0.24			
Total	11.05	35				

CV: 9.52 R<sup>2</sup>: 0.53

**Tabla 30.** Análisis de varianza del número de granos seco de haba (*Vicia faba*) tratadas con cepas de *Trichoderma* spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	31.06	13	2.39	7.01	<0.0001	
BLOQUES		1.09	2	0.55	1.60	0.2238
TRICHODERMA		5.48	2	2.74	8.04	0.0024
DOSIS	22.44	3	7.48	21.96	<0.0001	
TRICHODERMA*DOSIS		2.05	6	0.34	1.00	0.4473
Error	7.49	22	0.34			
Total	38.56	35				

CV: 8.37 R<sup>2</sup>: 0.81

**Tabla 31.** Análisis de varianza del número del peso seco de biomasa (g) de haba (*Vicia faba*) tratadas con cepas de *Trichoderma* spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	1231.12	13	94.70	2.24	0.0463	
BLOQUES		139.54	2	69.77	1.65	0.2153
TRICHODERMA		125.68	2	62.84	1.48	0.2485
DOSIS	654.71	3	218.24	5.15	0.0075	
TRICHODERMA*DOSIS			311.19	6	51.86	1.23 0.3313
Error	931.39	22	42.34			
Total	2162.51	35				

CV: 19.00 R<sup>2</sup>: 0.57

**Tabla 32.** Análisis de varianza del número de Peso de grano seco de haba (*Vicia faba*) tratadas con cepas de *Trichoderma* spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	374.92	13	28.84	7.38	<0.0001	
BLOQUES		12.77	2	6.38	1.63	0.2181
TRICHODERMA		8.24	2	4.12	1.05	0.3654
DOSIS	316.10	3	105.37	26.96	<0.0001	
TRICHODERMA*DOSIS			37.81	6	6.30	1.61 0.1909
Error	85.99	22	3.91			
Total	460.91	35				

CV: 21.43 R<sup>2</sup>: 0.81

**Tabla 33.** Análisis de varianza del rendimiento (kg/ha) de plantas de haba (*Vicia faba*) tratadas con cepas de *Trichoderma* spp. con diferentes concentraciones en el distrito de Chucuito.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	166632121.61	13	12817855.51	7.38	<0.0001	
BLOQUES		5675272.06	2	2837636.03	1.63	0.2181
TRICHODERMA		3662916.06	2	1831458.03	1.05	0.3654
DOSIS	140486997.56	3	46828999.19	26.96	<0.0001	
TRICHODERMA*DOSIS			16806935.94	6	2801155.99	1.61 0.1909
Error	38219885.94	22	1737267.54			
Total	204852007.56	35				

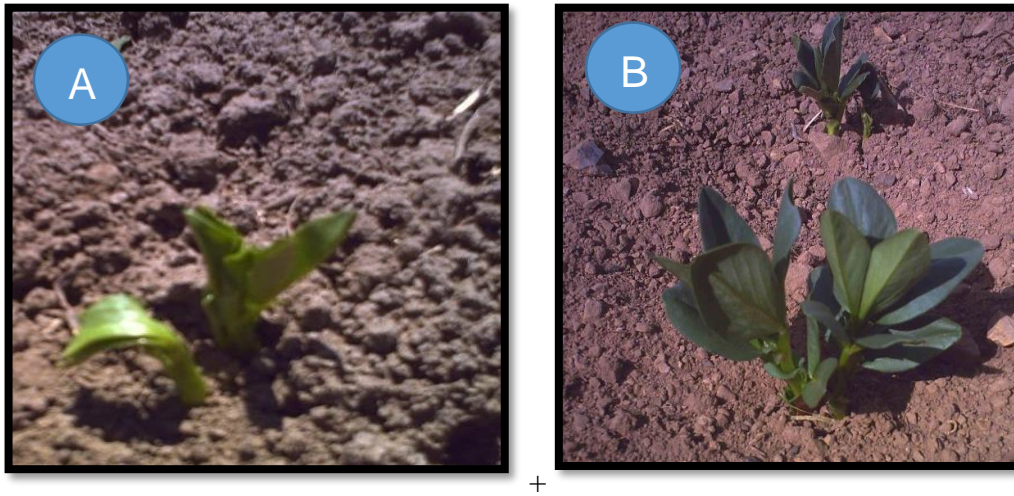
CV: 21.43 R<sup>2</sup>: 0.81

## PANEL FOTOGRAFICO:

### A. Campo

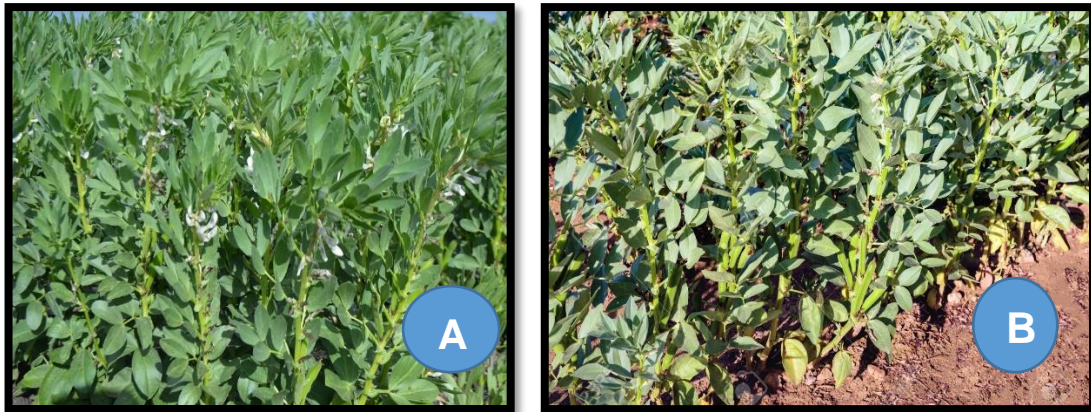


**Figura 28.** Terreno del proyecto de investigación



**Figura 29.** A. Germinación del cultivo de haba B. Formación de hojas del cultivo de haba.





**Figura 30.** A. Formación de flores B. Formación de vainas del cultivo de haba - Chucuito



**Figura 31.** Muestra de síntomas de la mancha chocolate (*Botrytis fabae*) en el campo experimental- chucuito.



**Figura 32.** Mochilas asperjadoras para la aplicación de *Trichodermas spp.* con diferentes concentraciones en el cultivo de haba en el distrito de Chucuito.



**Figura 33.** Aquí se observa **A.** Forma de dilución del sustrato de cebada con *Trichoderma spp.* en agua de pozo. **B.** Echar el agua diluida de *Trichoderma spp.* a la mochila asperjadora para así luego aplicar en el campo de investigación.



## B. Laboratorio



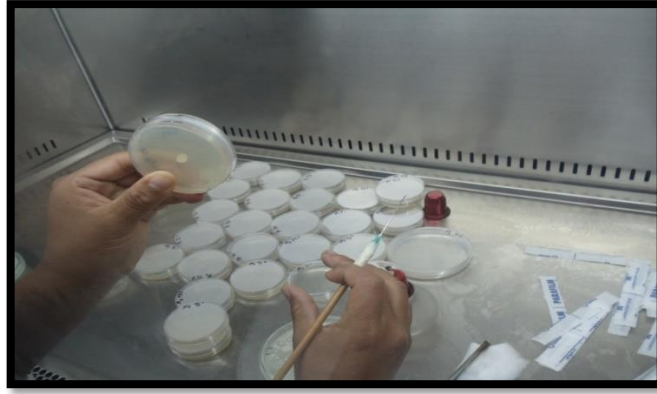
**Figura 34.** Prueba de Antibiosis. Tratamientos con cepas de *Trichoderma spp.* en la Agitadora por 7 días. Y obtener metabolitos solubles. Laboratorio de Sanidad Vegetal UNA-PUNO. Junio 2108.



**Figura 35.** Forma de zarandear los metabolitos solubles a un tubo centrifuga para luego plaquear. Laboratorio de Sanidad Vegetal UNA-PUNO. Junio 2018.



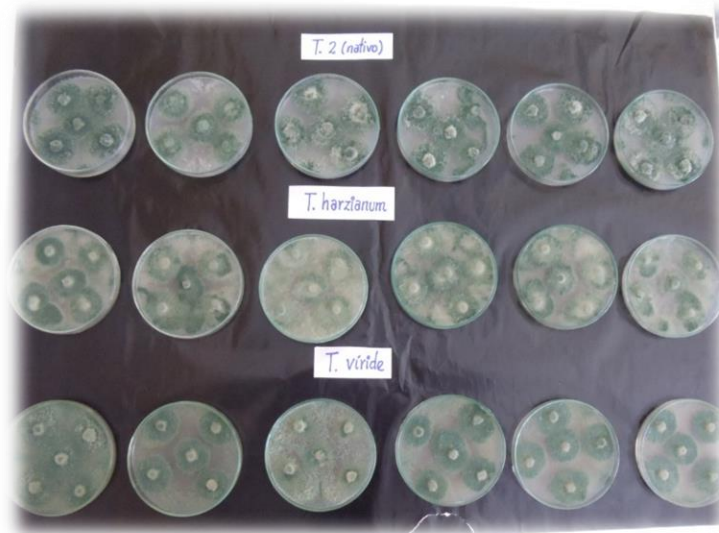
**Figura 36.** Plaqueo de los metabolitos solubles de *Trichodermas spp* para luego medir la inhibicion micelial del hongo patogeno *B. fabae*.



**Figura 37.** Introducción del hongo patógeno *B. fabae* en forma de disco.



**Figura 38.** Resultados según la prueba de Antibiosis, durante los 7 días. Laboratorio de Sanidad Vegetal. Junio 2018.



**Figura 39.** Resultados según la prueba del Micoparasitismo a través del reaislamiento de *Botrytis fabae* de cultivos colonizados por cepas de *Trichoderma* spp. Laboratorio de Sanidad Vegetal. Junio 2018.