

# CAPÍTULO I

## 1.INTRODUCCIÓN

Muchos hongos presentes en el suelo causan severos daños a las raíces de las plantas, llegando incluso a provocar la muerte de estas.

Entre los hongos del suelo que causan mayores pérdidas están: *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium* y *Rhizoctonia*, los cuales afectan una gran variedad de cultivos. Mediante el uso de hongos y bacterias antagónicas se han podido conocer estrategias con mayor potencial para el control de enfermedades ocasionadas por patógenos del suelo. Entre estos microorganismos destaca el género *Trichoderma* sp. como agente de control biológico (Howell C.2004).

***Trichoderma* sp.** Es un hongo anaeróbico habitante natural del suelo, caracterizado por un comportamiento saprófito o parásito. Entre las especies más destacadas está: *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, y *T. hamatum*. (Chavez 2006).

El éxito de las cepas de ***Trichoderma* sp** como agentes de control biológico se debe a su alta capacidad reproductiva, habilidad para sobrevivir bajo condiciones ambientales desfavorables, eficiencia en la utilización de nutrientes, capacidad para modificar la rizosfera, fuerte agresividad contra hongos fitopatógenos y eficiencia en promoción del crecimiento en plantas e inducción de mecanismos de defensa. Las diferentes especies se caracterizan por tener un crecimiento micelial rápido y una abundante producción de esporas, que ayuda a la colonización de diversos sustratos y del suelo. (Tovar 2008) En su mecanismo de acción, las diferentes especies de *Trichoderma* sp. ejercen mecanismos de control mediante: competencia directa (por espacio y nutrientes), producción de metabolitos antibióticos, la inactivación de enzimas del agente patógeno, modificación de las condiciones ambientales, producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal y por micoparasitismo.

A continuación, se describen los tres principales:

La competencia por espacio y/o nutrientes ha sido considerada uno de los mecanismos clásicos de biocontrol de este género. Tiene una rápida tasa de desarrollo, lo que hace que sea un fuerte competidor por espacio a la hora de colonizar la rizosfera. Por otra parte, tiene una capacidad superior de movilizarse y tomar los nutrientes del suelo, siendo muy versátil para utilizar sustratos.

La producción de metabolitos (Antibiosis): El género *Trichoderma* sp. tiene la capacidad de producir compuestos orgánicos volátiles y no volátiles, que juegan un papel importante inhibiendo el crecimiento y desarrollo de microorganismos patógenos. En estas interacciones están involucradas enzimas líticas extracelulares, antibióticos y compuestos de bajo peso molecular. (Tovar 2008)

Micoparasitismo: Es un proceso complejo en la interacción antagonista-patógeno, que ocurre en cuatro etapas: crecimiento quimiotrófico, reconocimiento, adhesión y enrollamiento, y la actividad lítica. La última etapa consiste en la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del patógeno y posibilitan la penetración de las hifas de *Trichoderma* sp (Tovar 2008).

Se ha encontrado que algunas especies de este hongo, especialmente *Trichoderma harzianum* tienen el potencial de aumentar el crecimiento y desarrollo de las plantas. Lo anterior puede explicarse por la inhibición de patógenos menores y a la producción de factores que estimulan el crecimiento de la planta y favorecen la toma de nutrientes (Tovar 2008).

## **1.1. Objetivos**

### **1.1.1. Objetivo general**

- Identificar y evaluar la población de especies del hongo *Trichoderma sp* a nivel predial presente en los suelos del Centro Experimental de Chocloca (C.E.CH) con el apoyo del laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales.

### **1.2.2. Objetivos específicos**

- Determinar la presencia del hongo *Trichoderma sp.* en los suelos del Centro Experimental de Chocloca.
- Realizar el aislamiento del hongo *Trichoderma sp.* en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) para su identificación.
- Identificar mediante claves taxonómicas el hongo *Trichoderma sp.* de acuerdo con su morfología.

## CAPÍTULO II

### 2.MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Generalidades del hongo *Trichoderma*

El hongo *Trichoderma* pertenece al grupo de hongos deuteromicetes u hongos imperfectos, al orden hifales (moniliales) y se caracteriza por presentar conidióforos hialinos, muchas veces blanquecinos, no verticilados, filiales simples o en grupos, conidios hialinos, unicelulares ovoides que yacen en pequeños racimos terminales, se les reconoce por su rápido crecimiento y color verde de los conidios. Las hifas que llevan las esporas o conidióforos son ramificadas.

Es un hongo antagonista de patógenos vegetales, y se encuentra presente en la mayoría de los suelos. Su crecimiento se ve favorecido por la presencia de raíces de plantas, a las cuales coloniza rápidamente (Chavez 2006).

#### 2.2. Hábitat

Se encuentra en suelos abundantes en materia orgánica. Es aeróbico y puede estar en los suelos con pH neutro hasta ácido.

#### 2.3. Clasificación

Se clasifican en grupo de hongos hipogeos, lignolícolas y depredadores.

#### 2.4. Características

La mayoría de las colonias de *Trichoderma* en su inicio tienen color blanco, que se tornan a verde oscuro o amarillento, con esporulación densa.

El micelio es raro en su mayoría, y visto al microscopio es fino, los conidióforos son ramificados, parecen un árbol pequeño. Los mismos se presentan como penachos compactados que forman anillos con un sistema de ramas irregular de manera piramidal.

Estos terminan en fiálides donde se forman las esporas asexuales o conidios, de gran importancia para la identificación taxonómica a nivel de especies. Son haploides y su pared está compuesta por enzimas líticas extracelulares como: quitinasas, glucanasas y proteasas, La mayoría de las especies de *Trichoderma* presentan clamidosporas, las cuales pueden ser intercalares y en ocasiones terminales (Chavez 2006).

#### 2.4.1. Características macroscópicas



Figura N° 1 Características macroscópicas de *Trichoderma* sp

Fuente: Kaminski Goraldine. Biblioteca de micología médica (Chavez 2006).

Las colonias se reconocen fácilmente por su crecimiento rápido y su coloración blancas –verdes; amarillo – verdosas; las áreas con conidios se presentan con anillos concéntricos. El revés de las colonias es usualmente no coloreado, amarillo, ámbar o amarillo-verde, y muchas especies producen grandes cantidades de clamidosporas en cultivos sumergidos (Chavez 2006).

### 2.4.2. Características microscópicas

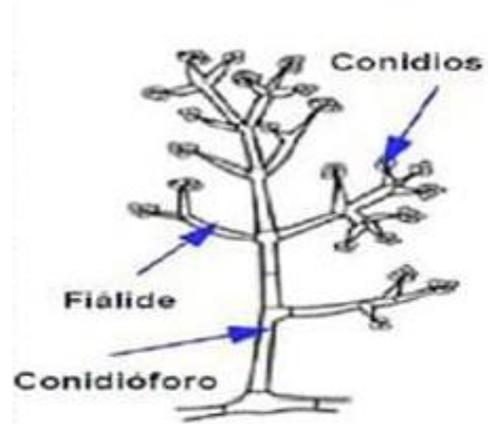


Figura N° 2 Características microscópicas de *Trichoderma* sp

Fuente: Kaminski Goraldine. Biblioteca de micología médica (Chavez 2006)

Los conidióforos son erectos, hialinos, en sus mayorías ramificadas, no verticiladas, pueden ser solitarios o en grupos. Las fialides son en forma de botella, únicas o en grupos. Hinchadas en la región central pero delgada hacia el ápice; son hialinas y en ángulo recto con respecto a los conidióforos. Los conidios son unicelulares subglobosos u oblogos, lisas o equinuladas, hialinas o verdes y ocurren en masas en los ápices de las fialides (Chavez 2006).

### 2.5. Morfología

Es un hongo que posee estructuras del tipo de conidios hialinas uniceluladas, ovoide en conidióforo hialino largo no verticilado, nace en centros pequeños. Tiene la capacidad de producir clamidosporas en sustratos naturales, estructuras de vital importancia para la sobrevivencia del género en el suelo bajo condiciones adversas.

Es saprofita del suelo y de la madera y el crecimiento en el suelo es muy rápido. Tiene excelentes propiedades para el control biológico, siendo especialmente efectiva contra *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Pythium*. A su vez, es un excelente estimulador del crecimiento radicular (Chavez 2006).

## 2.6. Taxonomía

**Reino:** Fungi

**División:** Ascomycota

**Sub-división:** Pezizomycotina

**Clase:** Sordariomycetes

**Orden:** Hypocreales

**Familia:** Hypocreaceas

**Género:** *Trichoderma*

(Biosiembra 2014)

## 2.7. Factores que influyen en el crecimiento

### 2.7.1. Temperatura

La temperatura es un factor importante para determinar la cantidad y la tasa de crecimiento de estos organismos.

Varios estudios han demostrado el efecto de la temperatura en la germinación de las esporas y el crecimiento del tubo germinal, crecimiento del micelio, habilidades competitivas y producción del metabolismo volátiles en la especie *Trichoderma*, estableciendo que la temperatura óptima de crecimiento difiere entre las diferentes especies; sin embargo, al igual que la gran mayoría de los hongos y estos se desarrollan en rangos de temperatura mesofílicos ente 10° y 40° C, pero en la mayoría de los casos, la temperatura óptima se encuentra entre 15° y 30° C.

La temperatura ayuda al desarrollo de procesos biológicos tal que puede generar de naturacion de proteínas, inhibición de enzimas, promoción o supresión de la producción de un metabolito particular, viabilidad y muerte celular (Kredic Antal Z. 1994).

### **2.7.2. Disponibilidad de agua**

Un factor que puede afectar la densidad de población de especies de *Trichoderma* en el suelo es la humedad; en este sentido se reportan altas poblaciones en suelo húmedos, comparados con suelos secos (Wakelin et al., 1999) citado en (Michel 2001).

Las limitaciones más importantes de *Trichoderma* como biofungicida es su bajo nivel de tolerancia osmótica (0.5 M o menos). Las condiciones de agua afectan las actividades de este hongo, en especial la germinación de las esporas y el crecimiento del tubo germinal, así como el crecimiento del micelio y tiene un efecto crítico en la interacción con otros hongos y la producción de enzimas.

Este hongo crece mejor en condiciones moderadas que en altas, lo cual es debido a que la aireación del suelo y por ende el suministro de oxígeno es limitada cuando el contenido de humedad es alto. (Muiño 1994)

En la fermentación sólida, un nivel de humedad mayor que el óptimo causa una disminución en la porosidad, alteración en la estructura de las partículas y menos transferencia de oxígeno. Los hongos prefieren una humedad suficiente para su supervivencia de tal manera que esta no interfiera con su metabolismo.

Del mismo modo un nivel de humedad menor que el óptimo lleva a una mayor tensión de agua y reduce la solubilidad de los nutrientes del sustrato sólido.

Aunque el contenido de humedad es un factor crítico durante este proceso el nivel óptimo de la misma depende del microorganismo y de la matriz sólida empleada, sin embargo, el contenido de agua en el sustrato por lo general oscila entre 30 y 75%.

(Muiño 1994).

### **2.7.3. pH**

El pH juega un papel importante en la regularización de la producción de enzimas extracelulares, la mayoría de las cepas de *Trichoderma* tiene la habilidad de crecer en un amplio rango de pH de 2 a 6, con óptimo de 4; y se ha reportado que la producción óptima de biomasa ocurre en un rango de pH entre 4, 6 y 6, 8. (Muiño 1994)

### **2.7.4. Aireación**

Dos componentes del aire son esenciales para los hongos: el oxígeno y el dióxido de carbono. Las especies de *Trichoderma*, como anaeróbicos facultativos, tienen la habilidad para crecer en hábitats como suelos profundos donde el oxígeno es relativamente insuficiente.

Sin embargo, en los cultivos de estos organismos es necesario tener en cuenta que altas concentraciones de dióxido de carbono resultado de la respiración celular se pueden acumular en ambientes cerrados y de esta forma inhibir el crecimiento de este microorganismo, los hongos usualmente son inhibidos en concentraciones de dióxido de carbono mayores de 10 a 15%. (Muiño 1994)

### **2.7.5. Condiciones de luz**

El crecimiento de la mayoría de los hongos aparentemente no es afectado por la luz. El efecto más visible es la inhibición en una exposición de la luz fuerte. La luz también puede afectar la formación de estructuras reproductivas o puede controlar la orientación de los movimientos fototrópicos de estas estructuras.

La mayoría de las especies del género *Trichoderma* son fotosensibles, esporulando rápidamente sobre sustratos naturales o artificiales, en patrones anulares concéntricos en respuesta a la alternancia diaria de luz y oscuridad, con producción de conidios durante el periodo luminoso.

La máxima actividad fotoinductiva se encuentra entre 380nm y 440nm rango visible, no ocurriendo esporulación bajo los 245nm (Kredic Antal Z. 1994).

## **2.8. Mecanismos de acción**

Las diferentes especies de *Trichoderma* ejercen mecanismos de control mediante: competencia directa (por espacio y nutrientes), producción de metabolitos antibióticos, la inactivación de enzimas del agente patógeno, modificación de las condiciones ambientales, producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal y por micoparasitismo. A continuación, se describen los tres principales:

### **2.8.1. Competencia**

La competencia por espacio y/o nutrientes ha sido considerada uno de los mecanismos clásicos de biocontrol de este género. Tiene una rápida tasa de desarrollo, lo que hace que sea un fuerte competidor por espacio a la hora de colonizar la rizósfera.

Por otra parte, tiene una capacidad superior de movilizarse y tomar los nutrientes del suelo, siendo muy versátil para utilizar sustratos como fuente de carbono y nitrógeno, lo que permite colonizar un medio rápidamente, evitando la proliferación de otros microorganismos en el mismo hábitat. (Hernández, Herrera 2009)

### **2.8.2. Antibiosis**

El género *Trichoderma* tiene la capacidad de producir compuestos orgánicos volátiles y no volátiles, que juegan un papel importante inhibiendo el crecimiento y desarrollo de microorganismos patógenos. En estas interacciones están involucradas enzimas líticas como glucanasas, quitinasas y proteasas extracelulares, antibióticos y compuestos de bajo peso molecular que, secretados en bajas concentraciones, impiden el crecimiento o las actividades metabólicas de patógenos, evitando la proliferación de la enfermedad (Hernández, Herrera 2009).

### **2.8.3. Micoparasitismo**

Es un proceso complejo en la interacción antagonista-patógeno, que ocurre en cuatro etapas: crecimiento quimiotrófico, reconocimiento, adhesión y enrollamiento, y la actividad lítica. La última etapa consiste en la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del patógeno y posibilitan la penetración de las hifas de *Trichoderma*.

Se ha encontrado que algunas especies de este hongo, especialmente *Trichoderma harzianum* tienen el potencial de aumentar el crecimiento y desarrollo de las plantas. Lo anterior puede explicarse por la inhibición de patógenos menores y a la producción de factores que estimulan el crecimiento de la planta y favorecen la toma de nutrientes (Hernández, Herrera 2009).

### **2.9. Ventajas del *Trichoderma***

- Posee un amplio rango de acción. Se propaga en el suelo, ejerciendo un control duradero. Tiene un marcado efecto preventivo de enfermedades de la raíz y el follaje.
- Protege las semillas agrícolas y botánicas de fitopatógenos.
- Controla patógenos de la raíz (*Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*) y del follaje (*Botritis* y *Mildew*) antes que puedan ser detectados y evita el ataque de (*Phytophthora*).
- Disminuye o elimina la dependencia de fumigantes químicos y actúa como biodegradante de agrotóxicos.
- Promueve el crecimiento de raíces y pelos absorbentes, moviliza nutrientes en el suelo para las plantas, mejorando la nutrición y la absorción de agua.
- Es compatible con Micorrizas, *Azotobacter*, otros biofertilizantes y con bioagentes controladores de plagas y enfermedades.

- Acelera la descomposición de la materia orgánica, puede ser empleado en el proceso de compostaje donde también cumple funciones de biofungicida.
- Estimula el crecimiento de los cultivos al producir metabolitos que promueven los procesos de desarrollo en las plantas.
- Favorece la proliferación de organismos benéficos en el suelo, como otros hongos antagonistas (Yedida 1999).

## **2.10. Metodología de muestreo en campo**

La toma de muestras de suelos es una tarea muy importante de la que depende el valor de los análisis y debe ser representativa por lo que debe efectuarse de acuerdo con un método como: muestreo al azar, muestreo al azar estratificado, muestreo en grillas y otras. (Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA). Toma de muestras)

### **2.10.1. Tipo y cantidad de muestras a tomar**

**Muestra simple:** Es la que se obtiene con una sola extracción de suelo. Son usadas en trabajos de investigación y en suelos muy homogéneos. Se recomienda cuatro muestras por hectárea, de 1 kilogramo de suelo cada una.

**Muestra compuesta:** Se refiere a la muestra de suelo obtenida por la extracción de varias muestras simples o submuestras, reunidas en un recipiente y bien mezcladas, de donde se retiran de 0,5 a 1 kg de suelo. Son las más usadas para la planificación de la fertilización. Se recomienda 15-20 submuestras por parcela de muestreo.

En la toma de una muestra compuesta, se debe tener en cuenta que cada submuestra sea del mismo volumen que las demás y representar la misma sección transversal de volumen de que se toma la muestra (una misma profundidad). (Domingo 2012)

### 2.10.2. Localización y profundidad de muestreo

Características de los muestreos en diferentes cultivos.

Para cultivos anuales, retirar las muestras de los surcos a una profundidad de 20 cm. Si el sistema es de siembra directa, se recomienda muestrear a 2 profundidades, de 0 a 10 y de 10 a 20 cm.

Para cultivos perennes, realizar el muestreo en la zona de fertilización, principalmente en la proyección de la copa. También se recomienda muestrear con menor frecuencia, la parte media de la calle o entrelineo.

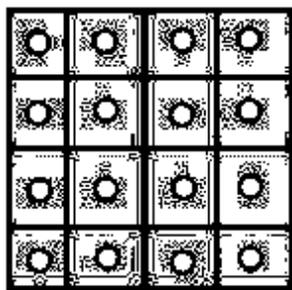
La profundidad recomendada es de 0 - 20 y de 20 - 40 cm. Otra forma, más detallada, es a profundidades de 0 - 10, 10 - 20, 20 - 40 y 40 - 60 cm. (Domingo 2012).

### 2.10.3. Sitios y formas de Muestreo

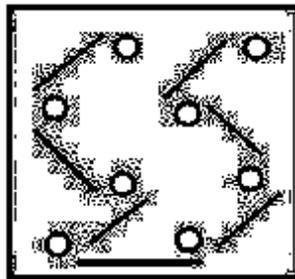
En cada sitio elegido, Eliminar la Cobertura Vegetal, limpiar la superficie del suelo desechando todo lo que sea rastrojo o restos de césped. Con una pala o barreno introducir 15-20 cm de profundidad y sacar directamente la muestra.

El muestreo de suelos se realiza al azar en las siguientes formas:

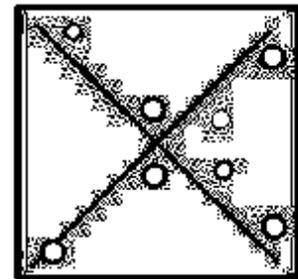
**Sistemáticos.** - Como ilustran los siguientes esquemas:



**Cuadrícula**



**Zig-Zag**



**Diagonales**

Figura N°3: Formas de muestreo

(Sosa 2012)

## **Asistemáticos.**

Cuando no se tiene un diseño especial.

### **2.10.4. Instrumentos**

Un instrumento de muestreo requiere dos condiciones importantes:

- 1) Que tome una capa uniforme desde la superficie hasta la profundidad determinada.
- 2) Que se pueda obtener el mismo volumen de suelo en cada extracción. Entre ellos se encuentran: el barreno (existen diferentes tipos), saca bocados y la pala (Domingo 2012)

### **2.11. Métodos de aislamientos**

El aislamiento, como su nombre lo indica, sirve para aislar hongos a través de los medios de cultivo, en general se utiliza PDA (agar papa dextrosa), AN (agar nutriente). Para aislar células individuales, los microorganismos han de ser diluidos, debido al gran número en que normalmente están presentes. La dilución se realiza, normalmente, por uno de los siguientes sistemas: Método de dilución en placa, método del lavado de suelo siembra, por estría en placa o extensión en placa. (Mondino 2012)

#### **2.11.1. Método de dilución en placa**

Es uno de los métodos más utilizados para aislamiento de hongos de suelo, también se denomina suspensión en placa.

Consiste en suspender el suelo en agua estéril o solución de agar, para posterior a la sedimentación, realizar la siembra en cajas Petri con el agar correspondiente (Mondino 2012)

### **2.11.2. Método del lavado de suelo**

El lavado del suelo es una técnica que consiste en el uso de líquidos (generalmente agua, combinada a veces con aditivos químicos) y un procedimiento mecánico para depurar el suelo. Con este procedimiento se retiran contaminantes peligrosos y se los concentra, reduciendo su volumen.

En el procedimiento de lavado del suelo se realiza separando la tierra fina contaminada (limo y arcilla) de la tierra gruesa (arena y grava) mediante el cernido y se utiliza el aparato lavador, se toman las muestras y se secan en papel filtro en una caja Petri para luego transferir sus partículas en algún medio de cultivos y se deja incubar a 25° C durante 4 a 5 días (Arias, Poñeros 2008)

### **2.11.3. Método de estriado en placa**

Es un esquema práctico del aislamiento de bacterias y hongos:

Inoculación por estría simple. – Es una técnica de siembra de microorganismo, que consiste en realizar con el asa esterilizada y con muestra del microorganismo unas líneas en forma de zigzag de forma decreciente; mediante esta técnica se observa la formación de colonias de la muestra, se puede diferenciar los colores y hasta forma de las colonias (Chavez 2006).

Inoculación por estría compuesta. - La inoculación por estría compuesta que consiste en inocular sobre un extremo de la placa con el asa y se extiende formando estrías sobre la superficie en varios sentidos, cada célula aislada se multiplicará formando una colonia independiente, cada colonia representa un cultivo puro (Chavez 2006).

## **2.12. Medios de cultivos**

Los medios de cultivos de microorganismos (hongos, bacterias y levaduras) son esenciales en el Laboratorio de Fitopatología por lo que a diario se preparan y utilizan; son una mezcla de nutrientes, que en concentraciones adecuadas y en condiciones físicas óptimas, permiten el crecimiento de los microorganismos (Tovar 2008).

**Condiciones que debe reunir un Medio de cultivo.** - Para que los microorganismos crezcan adecuadamente, un medio de cultivo artificial debe reunir una serie de condiciones: contener los nutrientes y factores de crecimiento necesarios, disponer de oxígeno, temperatura adecuada, humedad y pH. Exento de microorganismos contaminantes. (Arias, Poñeros 2008)

**Disponibilidad de nutrientes en los Medios de cultivo.** - Un medio de cultivo para que permita el crecimiento adecuado de microorganismos debe contener como mínimo: Carbono, Nitrógeno, Azufre, Fósforo y Sales inorgánicas que suplan iones (K, Mg, Fe, Ca, etc.) (Arias, Poñeros 2008).

### **2.12.2. Medios de cultivo según su utilidad práctica**

**Generales:** Sirven para el cultivo de una gran variedad de microorganismos. Ej: Agar Papa dextrosa (PDA); Agar Nutriente (NA).

**Selectivos:** Son medios a los que se les agregan sustancias para inhibir el crecimiento de otros microorganismos. Medios selectivos: Son aquellos que favorecen por su diseño el crecimiento específico de un microorganismo particular o grupo de microorganismos. Es de gran utilidad para el aislamiento de microorganismos a partir de una población microbiana mixta Ej. Agar Malta acidificado y con antibiótico para inhibir el crecimiento de bacterias.

Diferenciales: Medios diferenciales: Son aquellos destinados a facilitar la discriminación de microorganismos de una mezcla por sus propiedades diferenciales de crecimiento en dichos medios (Tovar 2008).

### **2.12.3. Observación microscópica**

#### **Técnica de cinta pegante**

Esta técnica es una de las más usadas, debido a que se conserva la yuxtaposición original de las esporas y segmentos de hifas. Además de permitir observar las estructuras fúngicas casi sin alteración. Para su realización, se toma una tira de cinta de 4cm, con el lado adhesivo hacia afuera, sosteniéndose con pinzas y presionando firmemente contra la superficie de la colonia del hongo que se desea estudiar. Posteriormente, la tira de cinta se coloca en un portaobjetos con una gota de azul de lactofenol (Arias, Poñeros 2008)

#### **Montaje por disección**

Se realiza con la aguja de disección, para tomar una parte de la superficie de la colonia que luego debe ser depositada sobre una gota de azul de lactofenol. Con la ayuda de otra aguja o de un asa se deberá extender el preparado y se cubre con una lámina cubreobjetos, para luego ser observada al microscopio con un aumento de 40 X (Arias, Poñeros 2008).

### **2.13. Medidas de dispersión**

Son parámetros estadísticos que indican cómo se alejan los datos respecto a la media aritmética. Sirven como indicador de la variabilidad de los datos entre ellos:

### 2.13.1. Media aritmética

La media aritmética es el valor promedio de las muestras y es independiente de las amplitudes de los intervalos. Se simboliza  $\bar{x}$  y se encuentra solo para variables cuantitativas. Se encuentra sumando todos los valores y dividiendo por el número total de datos. (López 1998)

La fórmula general para N elementos es:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{N}$$

### 2.13.2. Desviación media

Es la media aritmética de los valores absolutos de las diferencias de cada dato respecto a la media. (López 1998)

$$D_{\bar{x}} = \frac{\sum_{i=1}^n |x_i - \bar{x}|}{N}$$

Donde: **xi**: valores de la variable    **n**: número total de datos

### 2.13.3. Varianza

La varianza ( $s^2$ ) mide la dispersión de los datos de una muestra respecto a la media, calculando la media de los cuadros de las distancias de todos los datos. (López 1998)

$$S^2 = \frac{\sum_{j=1}^n (X_j - \bar{X})^2}{n-1}$$

#### 2.13.4. Coeficiente de variación de Pearson

El coeficiente de variación de Pearson ( $r$ ) mide la variación de los datos respecto a la media, sin tener en cuenta las unidades en que están.

$$r = \frac{S_X}{|\bar{x}|}$$

siendo  $S_X$  la desviación típica y  $\bar{x}$  la media del conjunto de observaciones  $(X_1, X_2, \dots, X_N)$  y  $\bar{x} \neq 0$

El coeficiente de variación toma valores entre 0 y 1, si es próximo al 0, significa que existe poca variabilidad en los datos y es una muestra muy compacta; en cambio, si tiene a 1 es una muestra muy dispersa. (López 1998)

#### 2.13.5. Desviación típica

La desviación típica es la medida de dispersión ( $S$ ) asociada a la media. Mide el promedio de las desviaciones de los datos respecto a la media en las mismas unidades de los datos (López 1998)

$$S_X = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \text{Media}(X))^2}{N - 1}}$$

siendo  $(X_1, X_2, \dots, X_N)$  un conjunto de datos

## CAPÍTULO III

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Características de la zona

##### 3.1.1. Localización del ensayo

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo previamente en las instalaciones del Centro Experimental de Chocloca (CECH), posteriormente en el laboratorio de Fitopatología de la Carrera de Ciencias Agrícolas y Forestales de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho.

##### 3.1.2. Ubicación

La comunidad de Chocloca está ubicada en la primera sección de la provincia Avilés del Departamento de Tarija distante a 36 km de la ciudad de Tarija.

**Cuadro N°1:** Ubicación y condiciones meteorológicas

Latitud Sud	21° 45'
Longitud	64 ° 44'
Altitud msnm	1800 m. s. n. m.
Temp. Max.	27 °C
Temp. Min.	9,4°C
mp. Max. Externa	41,0°C
Temp. Min. Interna	-12,0°C
Temp. Media	17,9°C
Humedad relativa	55%

### 3.1.3. Suelos

Los suelos de esta zona son casi en su totalidad de origen aluvial, variando la textura de moderadamente liviana a mediana y pesada, de moderadamente profunda a profunda.

### 3.1.4. Flora y fauna.

Entre la flora nativa más importante tenemos la siguiente:

**Cuadro N°2:** Datos de la vegetación en Chocloca

<b>Árboles</b>	<b>Nombre técnico</b>	<b>Familia</b>
Molle	<i>Schinus molle</i>	<i>Anacardiaceae</i>
Sauce	<i>Salis humboldtiana</i>	<i>Salicaceae</i>
Churqui	<i>Acacia caven</i>	<i>Leguminosae</i>
Algarrobo	<i>Prosopis alapatco</i>	<i>Leguminosae</i>
Chañar	<i>Geoffiraea decorticans</i>	<i>Leguminosae</i>
<b>Arbustos</b>	<b>Nombre técnico</b>	<b>Familia</b>
Barba de chivo	<i>Climatiz denticulata</i>	<i>Ranunculaceae</i>
Chilca	<i>Baccharis capitalensis</i>	<i>Compositae</i>
Hediondilla	<i>Cestrun parquii</i>	<i>Solanaceae</i>
<b>Gramíneas</b>	<b>Nombre técnico</b>	<b>Familia</b>
Caña hueca	<i>Arundo donax</i>	<i>Graminaceae</i>
Cadillo	<i>Cenhus sp</i>	<i>Graminaceae</i>
Gramá	<i>Cynodon dactylum</i>	<i>Graminaceae</i>

Fuente: Datos del herbario U.A.J.M.S 2010

Entre la fauna domestica del lugar se tiene las siguientes:

Ganado bovino, ovino, porcino, caprino, aves menores y otros.

## **3.2. Materiales**

### **3.2.1. Material de Estudio**

En el trabajo de investigación se tomó en cuenta como material principal a estudiar el suelo de los diferentes terrenos que existen en los predios del Centro Experimental de Chocloca.

### **3.2.2. Materiales de campo**

- Pala
- Azadón
- Barreno
- Saca bocado
- Bolsas para guardar el material
- Etiquetas

### **3.2.3. Materiales de gabinete**

- Libreta de campo
- Metro o wincha
- Cámara fotográfica
- Marcadores
- Etiquetas

### **3.2.4. Materiales de laboratorio**

- Bata blanca de laboratorio
- Guantes
- Cajas Petri de vidrio
- Pipetas
- Piceta con agua
- Espátulas
- Mecheros

### **3.3. Metodología**

#### **3.3.1.- Metodología de muestreo**

##### **3.3.1.1. Parcelas a muestrear**

Para el muestreo del suelo se tomó en cuenta que los terrenos del Centro Experimental de Chocloca están conformados por siete a diez parcelas, con diferentes cultivos, las cuales fueron incluidas como un solo terreno y divididas en cuatro cuadrantes, los cuales se subdivinieron en nueve parcelas pequeñas por cuadrante, dando un total de treinta y seis parcelas.

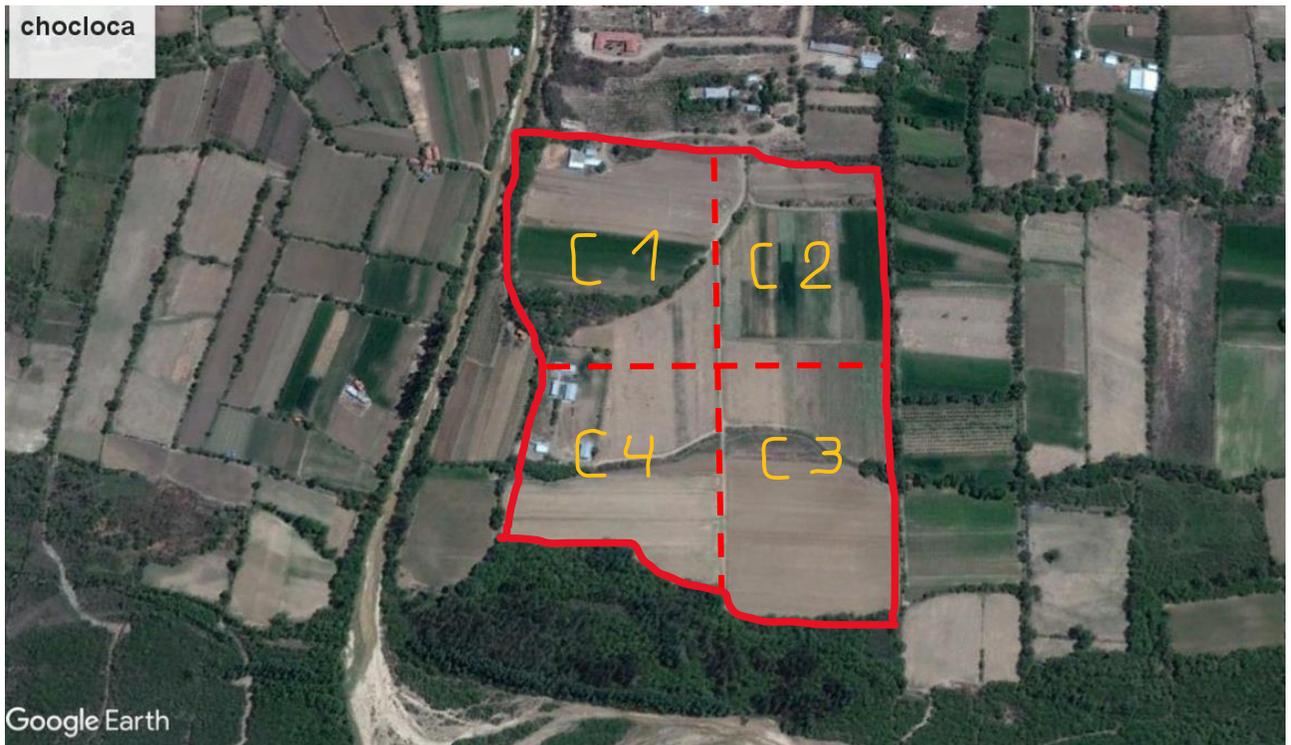


Figura N°4: Imagen satelital del Centro Experimental de Chocloca y división de los cuatro cuadrantes muestreados.

Fuente: Google Earth Pro

### 3.3.1.2. Muestreo del suelo

Para realizar el muestreo se tomó en cuenta los cuatro cuadrantes, dentro de los cuales se realizó el muestreo, utilizando el método al azar, de forma **Sistemático con diseño de cuadrícula**, conformando nueve pequeñas parcelas, de las cuales se obtuvieron nueve muestras por cada cuadrante.

Obteniendo un total de treinta y seis muestras de suelo. Como se observa en la siguiente figura:

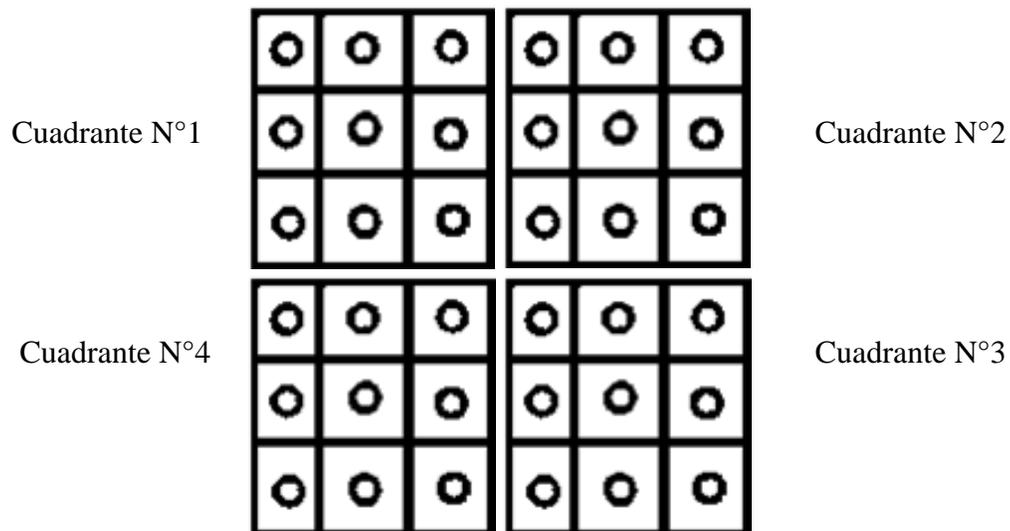


Figura N°5: División de los cuatro cuadrantes, nueve muestras por cuadrante y treinta y seis muestras de suelo en total.

Fuente: Autora

### 3.3.1.3 Toma de muestras y selección del área

La toma de muestras se realizó dentro de cada pequeña parcela, seleccionando un punto medio al azar dentro de ella, para la obtención de muestras representativas. Obteniendo las treinta y seis muestras.

### 3.3.1.4. Equipo de muestreo

Para la siguiente investigación se utilizó diferentes herramientas para la recolección de muestras, como pala, cuchara, y sacabocado; este equipo es fácil de usar, y se utilizaron las respectivas bolsas para recolectar las muestras con sus etiquetas.

### **3.3.1.5. Transporte de muestras**

Para el transporte de las muestras se utilizaron bolsas de plástico con sus respectivas etiquetas, estas fueron transportadas y procesadas el mismo día en el laboratorio, para lo cual las muestras fueron tamizadas utilizando un tamiz de 2 mm; posteriormente se llevaron a cabo los procesos de aislamiento.

## **3.4. Metodología del laboratorio**

### **3.4.1. Medio de cultivo**

Para el aislamiento e identificación del hongo *Trichoderma* se utilizó el medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA).

Para la preparación del medio se utilizó 18.5 gr de agar papa dextrosa (PDA), diluido en 500 ml de agua destilada, más 150 mg de cloranfenicol.

Este medio de cultivo tiene que estar esterilizado, por lo que utilizamos la auto clave, donde lo dejamos durante aproximadamente 30 min a 120°C.

Este medio fue útil ya que proporcionó gran cantidad de nutrientes (fuente de nitrógeno y carbono).

### **3.4.2. Método de aislamiento**

#### **3.4.2.1. Método de dilución en placa**

Este método se llevó a cabo realizando diluciones de cada muestra de suelo obtenida (36 muestras diluidas).

Se pesó 10 gr de suelo fresco dentro de un frasco, con 50 ml de agua destilada; posteriormente se procedió a agitarlas por 10 min, para lograr una buena dilución y mezcla, se dejó reposar y esperar a que el suelo se sedimentara en la parte baja del frasco y a su vez se suspendiera en el agua estéril.

La siembra se realizó dentro de la Cámara de flujo laminar, previamente esterilizada con alcohol, para que no exista contaminación. De igual manera todos los materiales de laboratorio deben estar correctamente esterilizados para su uso.

Teniendo todo el material dentro de la cámara se realizó primeramente la preparación de las cajas Petri, vertiendo 10 ml del medio de cultivo (PDA) por caja y posteriormente se realizó la siembra masiva del suelo ya diluido (36 muestras sembradas).

Una vez completada la siembra, se llevaron las muestras a incubar por un periodo de 3 a 7 días a 25° C, durante este tiempo se pudo observar el crecimiento de diferentes colonias de hongos y bacterias, dentro de las cuales se observó e identificó el crecimiento del hongo *Trichoderma* por sus características macroscópicas y microscópicas.

### **3.5. Identificación de género**

#### **3.5.1. Observación microscópica**

##### **3.5.1.1. Técnica de cinta pegante**

Esta técnica se realizó utilizando una tira de cinta adhesiva de 4 cm, usándola con un doblez, del lado adhesivo hacia afuera, de esa manera presionamos contra la superficie de la colonia del hongo encontrada y así adherimos pequeñas cantidades del hongo; posteriormente, en un portaobjetos se colocó una gota azul de lactofenol y enzima, adherimos la cinta con la muestra, de esta manera esta lista para ser estudiada e identificada con la ayuda de un microscopio.

### **3.5.1.2. Montaje por disección**

Para este montaje se utilizó una aguja de disección, tomando una pequeña muestra de la parte superficial de la colonia del hongo, con la ayuda de otra aguja o de un asa se extendió la muestra depositándola en el portaobjetos, el cual estaba previamente con una gota azul de lactofenol y se utiliza un cubreobjetos, para luego ser observada con la ayuda del microscopio con un aumento de 40 X.

### **3.5.1.3. Empleo de claves taxonómicas**

Para la identificación del género del hongo fue necesaria la utilización de claves taxonómicas, para ello se tuvo en cuenta las características macro y microscópicas (Chavez 2006), es así cómo fue posible identificar el hongo *Trichoderma* sp en medio de otros hongos, bacterias, etc. para su posterior aislamiento.

### **3.5.1.4. Aislamiento del hongo**

Para el aislamiento del hongo se tomó en cuenta las muestras donde existía y fue identificado el hongo *Trichoderma* sp con la ayuda de la clave.

De esa manera, con la ayuda de un sacabocado especial, se realizó la toma de muestra, teniendo en cuenta que esta sea extraída de la colonia de *Trichoderma* sp y no de otros hongos o bacterias, para así realizar un buen aislamiento; ya obtenida la muestra, se procedió al aislamiento dentro de cajas Petri con el mismo medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA).

Posteriormente se llevaron las muestras a incubar durante 3 a 7 días a 25° C para observar el crecimiento de las colonias de hongos, a partir de las cuales se obtuvieron y observaron el crecimiento del hongo *Trichoderma* sp como un cultivo monospórico.

## CAPÍTULO IV

### 4.RESULTADOS Y DISCUSION

#### 4.1. Aislamiento

##### 4.1.1. Obtención de cultivos monospóricos

Del cultivo previo realizado de las 36 muestras, 7 de ellas dieron positivas para el hongo *Trichoderma* sp, de las cuales se realizó 3 aislamientos monospóricos por muestra; como resultado se obtuvieron diferentes colonias de *Trichoderma* sp donde podemos apreciar a simple vista las diferentes características en cuanto al color, anillos y forma de la colonia.

#### 4.2. Observación de las características macroscópicas en colonias del hongo *Trichoderma* sp.

Cuadro N°3: Descripción de colonias

Muestra	Repetición N°1	Repetición N°2	Repetición N°3
2	La colonia presenta dos anillos bien definidos de color verde oscuro, el espacio de anillo a anillo un color más blanquecino; también presenta la existencia de otros hongos. Fotografía N°34: Muestra 2, Repetición I	La colonia presenta dos anillos bien definidos de color verde oliva, el espacio de anillo a anillo un color verde más claro. Fotografía N°35: Muestra 2, Repetición II	La colonia es parecida a la repetición N°2, presenta dos anillos bien definidos de color verde oliva, el espacio de anillo a anillo un verde más claro y dos cavidades a un costado de la caja Petri. Fotografía N°36: Muestra 2, Repetición III

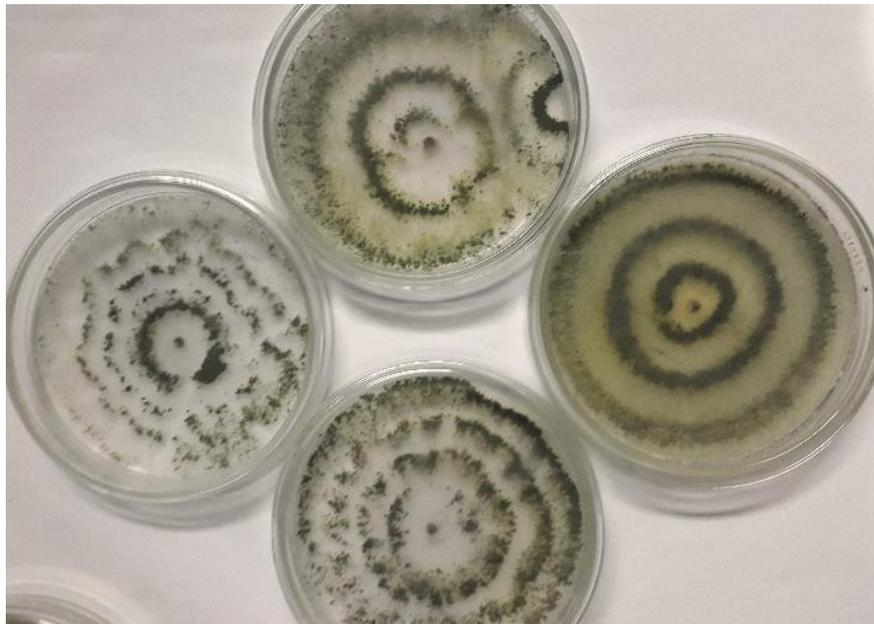
7	<p>La colonia presenta tres anillos, dos anillos bien definidos de color verde oscuro, el tercero no definido cortado por otro hogo o bacteria; el espacio de anillo a anillo un color más amarillento.</p> <p>Fotografía N°37 Muestra 7, Repetición I</p>	<p>La colonia presenta dos anillos de color verde oscuro bien definidos; el espacio de anillo a anillo un color más amarillento.</p> <p>Fotografía N°38: Muestra 7, Repetición II</p>	<p>La colonia presenta tres anillos no definidos de color verde oscuro; dos anillos completos de color verde oscuro, el tercero cortado por otro hogo o bacteria; el espacio de anillo a anillo un color más amarillento.</p> <p>Fotografía N°39: Muestra 7, Repetición III</p>
9	<p>La colonia presenta dos anillos bien definidos, de color verde oliva, el espacio de anillo a anillo un color verde más claro.</p> <p>Fotografía N°40: Muestra 9, Repetición I</p>	<p>La colonia presenta dos anillos no bien definidos, discontinuos de color verde oscuro, con dos pequeñas colonias a un lado de la caja. El espacio de anillo a anillo un color verde oliva.</p> <p>Fotografía N°41: Muestra 9, Repetición II</p>	<p>La colonia presenta dos anillos bien definidos de color verde oscuro, pero discontinuos y una pequeña colonia a un lado de la caja Petri. El espacio de anillo a anillo un color blanquecino.</p> <p>Fotografía N°42: Muestra 9, Repetición III</p>

<p><b>19</b></p>	<p>La colonia presenta cuatro anillos concéntricos no definidos, de color verde oliva; el espacio de anillo a anillo un color verde más claro. Fotografía N°43: Muestra 19, Repetición I</p>	<p>La colonia presenta dos anillos concéntricos no definidos, de color verde oscuro; el espacio de anillo a anillo un color amarillento. Fotografía N°44: Muestra 19, Repetición II</p>	<p>La colonia es muy parecida a la repetición N°1. Presenta cuatro anillos concéntricos no definidos, de color verde oliva; el espacio de anillo a anillo un amarillo claro. Fotografía N°45: Muestra 19, Repetición III</p>
<p><b>21</b></p>	<p>La colonia presenta tres anillos bien definidos de color verde oscuro; el espacio de anillo a anillo un color verde oliva. Fotografía N°46: Muestra 21, Repetición I</p>	<p>La colonia presenta 4 anillos bien definidos de color verde oscuro; el espacio de anillo a anillo un color blanquecino; se observa una textura como de pulverizado. Fotografía N°47: Muestra 21, Repetición II</p>	<p>La colonia es parecida a la repetición 2. Presenta 4 anillos bien definidos de color verde oscuro; el espacio de anillo a anillo un color blanquecino; se observa una textura como de pulverizado. Fotografía N°48: Muestra 21, Repetición III</p>

<p><b>22</b></p>	<p>La colonia presenta dos anillos bien definidos de color verde oscuro; el espacio de anillo a anillo un color más amarillento.</p> <p>Fotografía N°49: Muestra 22, Repetición I</p>	<p>La colonia es parecida a la repetición 1. Presenta dos anillos bien definidos un color verde oscuro de anillo a anillo un color más amarillento.</p> <p>Fotografía N°50: Muestra 22, Repetición II</p>	<p>La colonia es parecida a la repetición 1 y 2. Tiene un color verde oscuro de anillo a anillo un color más amarillento; presenta tres anillos bien definidos</p> <p>Fotografía N°51: Muestra 22, Repetición III</p>
<p><b>29</b></p>	<p>La colonia presenta un anillo no definido y otro en forma de media luna de color verde oscuro; el espacio de anillo a anillo un color más blanquecino; este creció a un costado de la caja por eso es que adoptó esa forma.</p> <p>Fotografía N°52: Muestra 29, Repetición I</p>	<p>La colonia se contaminó, tiene otros hongos.</p> <p>Fotografía N°53: Muestra 29, Repetición II</p>	<p>La colonia se contaminó tiene otros hongos.</p> <p>Fotografía N°54: Muestra 29, Repetición III</p>

### 4.3. Morfología del hongo *Trichoderma* sp

#### 4.3.1. Características macroscópicas

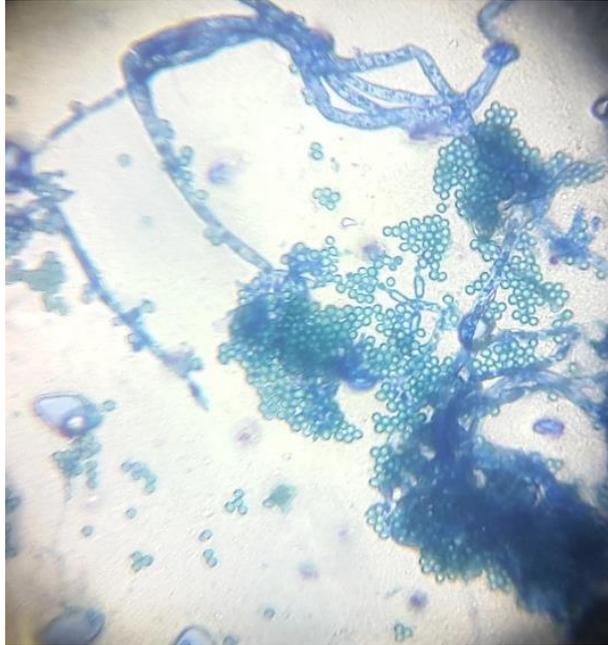


Fotografía N°55: Observación macroscópica, colonia *Trichoderma* sp

Fuente: Autora

Las colonias del hongo *Trichoderma* sp se reconocen fácilmente por su crecimiento rápido promediado entre 7 a 10 días y su coloración varía entre blanca – verdes; amarillo – verdosas; las áreas con conidios se presentan con anillos concéntricos. El revés de las colonias es usualmente no coloreado, amarillo, ámbar o amarillo-verde, y muchas especies producen grandes cantidades de clamidosporas.

#### 4.3.2. Características microscópicas



Fotografía N°56: Observación microscópica, colonia *Trichoderma* sp

Fuente: Autora

Su estructura es fácil de reconocer, sus conidióforos son generalmente rectos, en sus mayorías ramificadas, no verticiladas, pueden ser solitarios o en grupos. Las fiálides son generalmente en forma de botella, únicas o en grupos. Hinchadas en la región central pero delgadas hacia el ápice. Los conidios son unicelulares de diferentes formas algunos redondeados u ovalados, ubicados en masas en los ápices de los filiales.

## Comparación

Comparación de la estructura del hongo *Trichoderma* sp. con el hongo identificado.

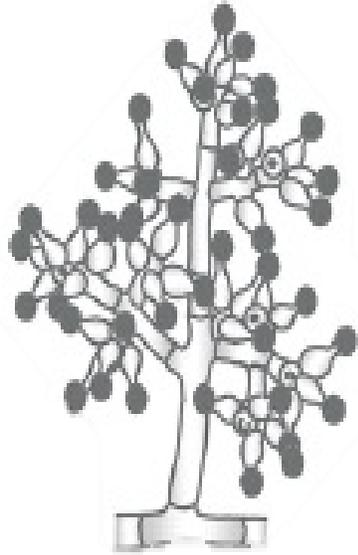
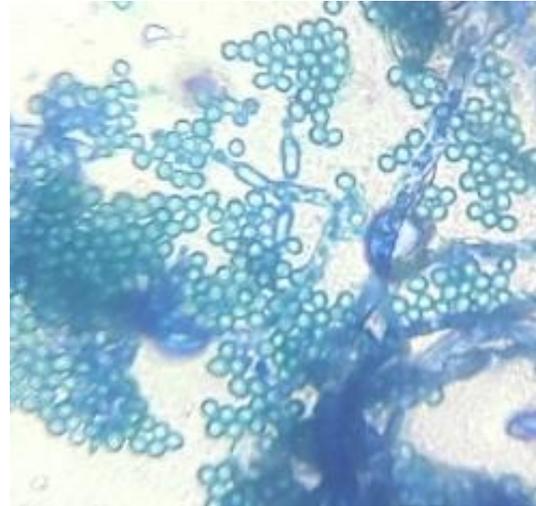


Imagen microscópica del hongo *Trichoderma* sp. y sus partes (Steyaert et al., 2010)



Fotografía N°56: Observación microscópica, colonia *Trichoderma* sp.

Fuente: Autora

El micelio encontrado en nuestro trabajo corresponde al género *Trichoderma* sp., similar a los ilustrados por (Steyaert et al., 2010) en toda su estructura, tomando en cuenta la estructura de los conidióforos el color de los conidios y sus ramificación del esporangioforo.

#### 4.4. Determinación del género mediante claves taxonómicas

##### 4.4.1. Clave dicotómica para la identificación de algunos géneros de hongos anamorfos

- 1- Conidios marrones oscuros, siempre septados -----2  
2-Conidios muriformes (con septos transversales y a veces longitudinales),  
ovoides, sin célula central curvada-----Alternaria  
2''- Conidios no muriformes (solo con septos transversales), con forma de  
boomerang y con célula central curvada-----Curvularia  
1''- Conidios nunca marrones oscuros, a veces septados-----3  
3 - Conidios en forma de medialuna -----Fusarium  
3''- Conidios diferentes, redondeados o elípticos no en forma de  
medialuna-----4  
4- Conidios con cicatrices en una o ambas caras, colonias siempre  
verdes oscuras-----Cladosporium  
4''- Conidios sin cicatrices en ambas caras, colonias con coloraciones  
distintas -----5  
5 - Colonias amarillas verdosas de crecimiento rápido -----  
-----Trichoderma  
5''- Colonias no amarillo verdosas sin crecimiento rápido -----  
-----6  
6- Conidióforo que termina en una vesícula globosa-----Aspergillus  
6''- Conidióforo que no termina en una vesícula globosa, con aspecto de pincel--  
-----7  
7- Colonias en general marrones amarillentas con fiálides terminando en largos  
cuellos -----Paecilomyces  
7''- Colonias en general verde azuladas (no siempre) con fiálides terminando en  
cortos cuellos-----Penicillium

De acuerdo con Acosta (2013) las claves dicotómicas son herramientas en la Botánica Sistemática para la determinación de diferentes taxones en plantas superiores y/o inferiores de los reinos existentes, coincidente en la utilización de la clave según (FCEF y N.2014.Clave dicotómica) quienes estructuraron la clave de los hongos anamorfos de varios géneros de interés agrícola.

#### **4.5. Taxonomía del hongo *Trichoderma* sp.**

**Reino:** Fungi o hongo

**Phylum:** Micophitae

**División:** Micophitos

**Clase:** Ascomicete

**Sub Clase:** Euascomicete

**Serie:** Pirenomiceto

**Orden:** Hypocreales

**Familia:** Hypocreaceae

**Nombre científico:** *Trichoderma* sp. (Deuteromiceto)

#### **4.6. Presencia del hongo *Trichoderma* sp en los suelos del Centro Experimental de Chocloca (CECH**

De acuerdo con los resultados obtenidos en el trabajo de investigación, se ha verificado la presencia del hongo *Trichoderma* sp en los suelos del Centro Experimental de Chocloca (CECH) en un 8.3 %, como producto de la identificación de 7 muestras positivas, de las 36 obtenidas, en los 3 ensayos realizados.

Como se muestra en los siguientes cuadros:

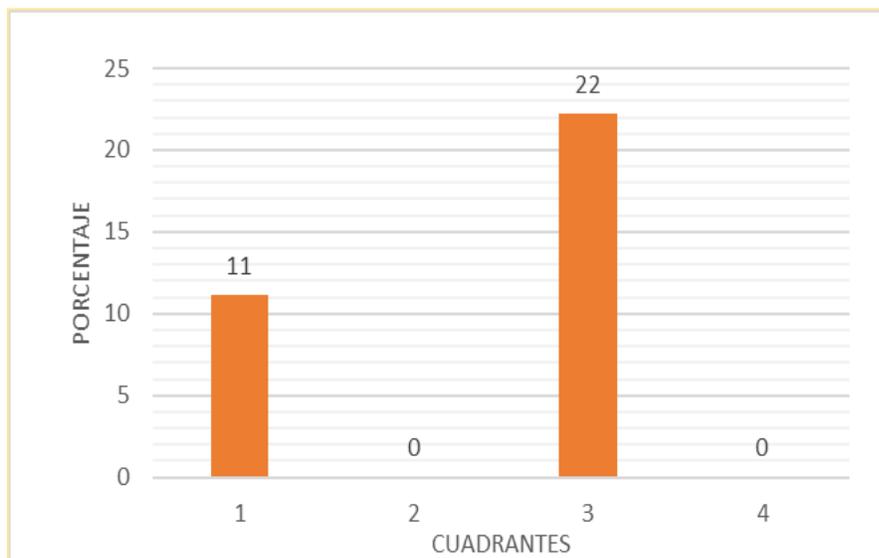
## 4.7. Determinación de la presencia de Trichoderma sp

### 4.7.1. Primer muestreo y análisis de laboratorio

**Cuadro N°4:** Resultados del Primer Ensayo

PRIMER ENSAYO			
TOTAL DE MUESTRAS	MUESTRA POSITIVA	CUADRANTES	%
9	1	1	11
9	0	2	0
9	2	3	22
9	0	4	0
36	3	% total	8.3

**Gráfica N°1:** Porcentaje de muestras positivas del Primer ensayo



Los resultados del primer ensayo se muestran en el cuadro N°1, observándose que en el primer cuadrante tiene porcentaje de muestras positivas de un 11%, es decir de 9 muestras en una se detecta la presencia del hongo *Trichoderma* sp.

El segundo cuadrante presenta un porcentaje de 0% de muestras positivas.

El tercer cuadrante presenta un 22% de muestras positivas, es decir de 9 muestras; 2 dieron positivas con presencia del hongo en estudio.

El cuadrante 4 no presenta muestras positivas.

Realizando un análisis general de todas las muestras, se obtuvo 3 muestras en el primer ensayo con un total de 8% de muestras positivas, donde se detectó la presencia de *Trichoderma* sp.

Los suelos de Chocloca fueron divididos en cuatro cuadrantes de los cuales se identificó la presencia del hongo *Trichoderma* sp en dos cuadrantes.

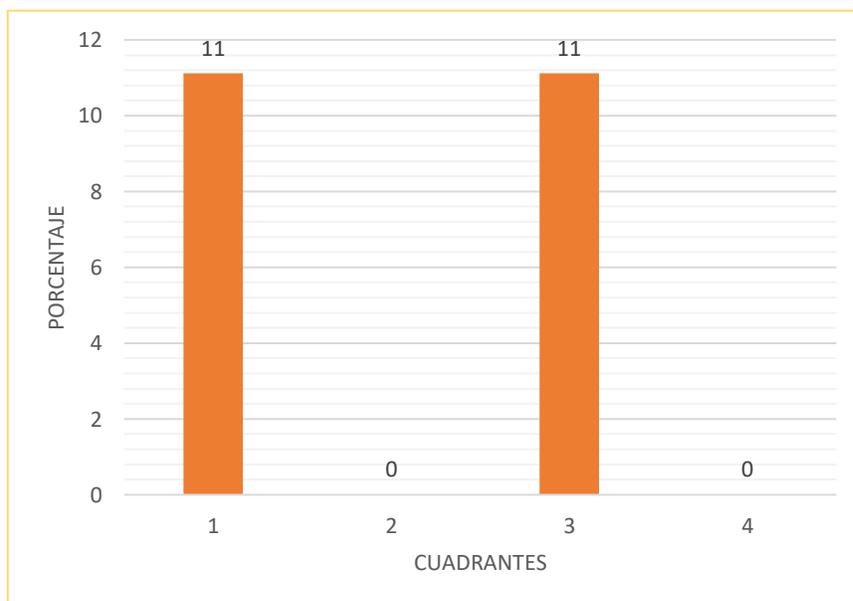
Según (Chávez 2006) indica, este hongo se encuentra ampliamente distribuido en el mundo y se presenta en diferentes rangos de zonas de vida y hábitats, especialmente en aquellos que contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición; asimismo, en residuos de cultivos, especialmente en aquellos que son atacados por hongos. Muestra que el hongo (Grondona y col 1997) citado en (Chávez 2006).

#### 4.7.2. Segundo muestreo y análisis de laboratorio

**Cuadro N°5:** Resultados del Segundo Ensayo

SEGUNDO ENSAYO			
TOTAL DE MUESTRAS	MUESTRA POSITIVA	CUADRANTES	%
9	1	1	11
9	0	2	0
9	1	3	11
9	0	4	0
36	2	% total	5.5

**Gráfica N°2:** Porcentaje de muestras positivas del Segundo ensayo



Los resultados del segundo ensayo se muestran en el cuadro N°2, observándose que en el primer cuadrante tiene porcentaje de muestras positivas de un 11%, es decir de 9 muestras en una se detecta la presencia del hongo *Trichoderma* sp.

El segundo cuadrante presenta un porcentaje de 0% de muestras positivas.

El tercer cuadrante presenta un 11% de muestras positivas, es decir de 9 muestras 1 dio positiva con presencia del hongo en estudio.

El cuadrante 4 no presenta muestras positivas.

Observando los resultados del ensayo, se obtuvieron 2 muestras con un total de 6% de muestras positivas del hongo *Trichoderma* sp.

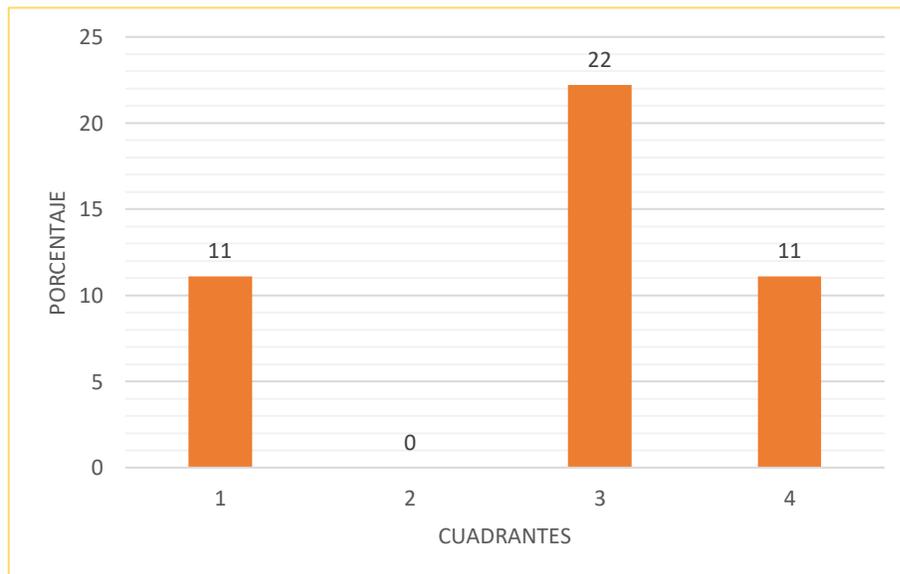
Se puede constatar que en este ensayo se obtuvo menor presencia del hongo, en comparación a los otros ensayos, esto puede deberse a que no cuenta con las condiciones necesarias para su desarrollo o a un mal manejo del suelo, (Ahmand y Baker, 1987) citado en (Michel 2001), indica que al no estar presente el *Trichoderma* en un suelo, puede ser debido, entre otros factores, al manejo de la huerta. En particular, a los productos químicos utilizados que pudieron influenciar la población existente.

### 4.7.3. Tercer muestreo y análisis de laboratorio

**Cuadro N°6:** Resultados del Tercer Ensayo

TERCER ENSAYO			
TOTAL DE MUESTRAS	MUESTRA POSITIVA	CUADRANTES	%
9	1	1	11
9	0	2	0
9	2	3	22
9	1	4	11
36	4	% total	11.1

**Gráfica N°3:** Porcentaje de muestras positivas del Tercer ensayo



Los resultados del tercer ensayo se muestran en el cuadro N°3, observándose que el primer cuadrante tiene porcentaje de muestras positivas de un 11%, es decir de 9 muestras en una se detecta la presencia del hongo *Trichoderma* sp.

El segundo cuadrante presenta un porcentaje de 0% de muestras positivas

El tercer cuadrante presenta un 22% de muestras positivas, es decir de 9 muestras se detectó 2 muestras positivas con presencia del hongo *Trichoderma* sp.

El cuarto cuadrante presenta un porcentaje de 11% de muestras que dieron positivas, es decir, de 9 muestras 1 dio positiva con presencia del hongo en estudio.

Observando los resultados del ensayo, se obtuvieron 4 muestras con un total de 11% de muestras positivas del hongo *Trichoderma* sp.

Se puede constatar que en este ensayo se obtuvo mayor presencia del hongo, en comparación a los otros ensayos, esto se debe a factores que afectan el desarrollo del hongo como la humedad, (Wakelin et al., 1999) citado en (Michel 2001), indica que un factor que puede afectar la densidad de población de especies de *Trichoderma* en el suelo es la humedad; en este sentido, se reportan altas poblaciones en suelo húmedos, comparados con suelos secos.

**Cuadro N°7:** Representación de la media aritmética de los de los resultados obtenidos en la investigación.

Número de ensayos	Presencia del hongo Media aritmética
<b>1</b>	8.3%
<b>2</b>	5.5%
<b>3</b>	11.1%
$\bar{x}$	$\bar{X} = 8.3\%$

De acuerdo con el cuadro N°7, podemos observar que en el primer ensayo se presenta una media de muestras positivas de 8,3%, presentándose resultados diferentes en el segundo ensayo, con una media de 5,5% de muestras positivas. En el tercer ensayo se presenta un mayor porcentaje de muestras positivas con un 11,1%. Diferencias bajas tomando en cuenta el número de muestras por cuadrante y un total de 36 muestras

#### 4.8. Análisis de Dispersión

**Cuadro N°8:** Resultados del análisis de dispersión

Presencia del hongo Media aritmética	Desviación media	Varianza	Desviación típica	Coficiente de variación de Pearson
8.3 %	1.87%	5.2%	2.3%	27.7%

- La media aritmética es del 8.3%; esta nos indica el valor promedio de los ensayos y muestras realizadas en el trabajo de investigación.
- La desviación media o la dispersión con respecto a la media es de 1.87%.

- La Varianza con respecto a la media es 5.2% y mide la dispersión de los resultados obtenidos con respecto a la media.
- La desviación típica con respecto a la media es de 2.3%; esta mide cuánto se separan los datos.
- El Coeficiente de variación de Pearson es de 27.7%; este sirve para saber qué tanto varían los datos de la investigación cuando es  $>25\%$ ; se dice que es heterogéneo.

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos y tomando en cuenta los objetivos propuestos en el trabajo de investigación se puede señalar las siguientes conclusiones:

- Se logró el aislamiento del hongo *Trichoderma sp* en medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA); de las 36 muestras, 7 dieron positivas de las cuales se realizó 3 aislamientos monospóricos por muestra.
- Se identificó a nivel de género, el hongo *Trichoderma sp.* en base a claves dicotómicas de acuerdo con su morfología.
- En base a los resultados obtenidos de las muestras de campo y de laboratorio se determinó la presencia del hongo *Trichoderma sp* en 8.3% de muestras positivas tomadas de los suelos del área de investigación.
- De los 4 cuadrantes establecidos en las parcelas del Centro Experimental de Chocloca, se determinó la presencia del hongo *Trichoderma sp*, en 3 de ellos.

## 5.2. Recomendaciones

- Para tener una mejor identificación a nivel de especies del hongo *Trichoderma* sp., es necesario contar con las claves de especies.
- 
- Se recomienda probar diferentes métodos de muestreo del suelo, con la finalidad de que haya mayor representatividad del hongo en el respectivo muestreo.
- Recomendar seguir con el trabajo de investigación que se llevó a cabo ya que el hongo *Trichoderma* sp., es de gran importancia agrícola y puede ser implementado en programas de control fitosanitario, contra los hongos patógenos comunes del suelo.
- Recomendar la multiplicación del hongo *Trichoderma* sp, para su posterior introducción y repoblación a los suelos del Centro experimental de Chocloca, ya que, como se observó en el trabajo de investigación, estos suelos carecen del mismo.