

"UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAÉL SARACHO"

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y FORESTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



**DESARROLLO DE UN PROTOCOLO DE MULTIPLICACIÓN DE
TRICHODERMA (*Trichoderma sp.*) EN GRANOS DE ARROZ, CEBADA Y
MAÍZ PARA LA OBTENCIÓN DE INÓCULO BIOCONTROLADOR.**

POR:

MAURICIO ZENTENO

Tesis, presentada a consideración de la **"UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
JUAN MISAÉL SARACHO"**, como requisito para optar el grado académico de

Licenciatura en Ingeniería Agronómica

Gestión - 2025

TARIJA – BOLIVIA

VºBº

.....
M.Sc. Ing. Grover Marcelino Mealla Cortez
DOCENTE GUÍA

.....
M.Sc. Ing. Milton Javier Caba Olguín
DECANO
FACULTAD DE CIENCIAS
AGRÍCOLAS Y FORESTALES

.....
M.Sc. Ing. Víctor Enrique Zenteno López
VICEDECANO
FACULTAD DE CIENCIAS
AGRÍCOLAS Y FORESTALES

APROBADA POR:

TRIBUNALES:

.....
M.Sc. Ing. Víctor Enrique Zenteno López
TRIBUNAL

.....
M.Sc. Ing. Martin Oscar Tordoya Rojas
TRIBUNAL

.....
Ing. Omar Gutiérrez Catar
TRIBUNAL

El tribunal calificador del presente trabajo, no se solidariza con la forma, términos, modos y expresiones vertidas en el mismo, siendo éstas responsabilidad del autor.

Dedicatoria:

El presente trabajo está dedicado a mi preciada madre Marina Isabel Zenteno Higuera quien me brindó primeramente su cariño y apoyo mutuo e incondicional en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Agradecimiento:

Primeramente, agradezco a Dios por darme la fortaleza y sabiduría al permitir que cumpla una de mis metas a pesar de todas las adversidades.

Agradezco a mi madre por ese apoyo incondicional que me dio para que pueda salir adelante.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales por su paciencia, su apoyo constante, por compartir cada uno de sus conocimientos y por inspirarme día a día a ser mejor en la vida. Al Ing. Grover Marcelino Mealla Cortez por su paciencia, apoyo y consejos que me brindaron en este proceso.

Dedicatoria:	
Agradecimiento:	
RESUMEN.....	
INTRODUCCIÓN	1
Planteamiento del problema.....	2
Justificación	3
Hipótesis.....	4
Objetivos	4
Objetivo general.....	4
Objetivos específicos	4

CAPÍTULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Generalidades.....	5
1.2. Biología de la <i>Trichoderma sp</i>	5
1.3. Habitación	6
1.4. Características	6
1.4.1 Características macroscópicas.....	7
1.4.2 Características microscópicas	7
1.5. Clasificación Taxonómica	8
1.6. Factores que influyen en el crecimiento.....	8
1.6.1 Temperatura y agitación.....	8
1.6.2 Disponibilidad de agua.....	9

1.6.3	PH.....	10
1.6.4	Aireación	10
1.6.5	Condiciones de luz	10
1.7.	Mecanismos de acción	11
1.7.1	Competencia.....	11
1.7.2	Antibiosis	12
1.7.3	Micoparasitismo.....	13
1.8.	Propágulos producidos por <i>Trichoderma spp.</i> para su aplicación como agente de control biológico	13
1.8.1	Micelio	14
1.8.2	Clamidosporas.....	14
1.8.3	Conidios	15
1.9.	Aspectos generales sobre la esporulación asexual en hongos filamentosos ...	16
1.10.	Ventajas del Trichoderma.....	17
1.11.	Obtención de inoculantes	18
1.12.	Obtención de esporas	18
1.13.	Condiciones de limpieza y esterilización	18
1.14.	Preparación de una jeringa de esporas	18
1.15.	Producción del inóculo.....	19
1.15.1	Elaboración del cultivo	19
1.15.2	Sustrato.....	19
1.15.3	Arroz	19
1.15.4	Cebada.....	19
1.15.5	Maíz	20

1.16.	Medios de cultivos	20
1.17.	Medios de cultivo según su utilidad práctica	21
1.18.	Observación microscópica	21
1.18.1	Técnica de cinta pegante	21
1.18.2	Montaje por disección	21
1.19.	Manejo de la cámara neubauer.....	22
1.20.	Método malla por puntos para control de crecimiento del hongo.....	22

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1	Localización del Trabajo	23
2.2	Ubicación	23
2.3	Características del área de estudio	24
2.4	MATERIALES.....	24
2.4.1	Materiales de Estudio.....	24
2.4.2	Material vegetal.....	24
2.4.3	Materiales de escritorio	24
2.4.4	Materiales de Laboratorio	24
2.4.5	Equipo	25
2.4.6	Productos químicos	25
2.5	METODOLOGÍA	25
2.5.1	Diseño Experimental.....	25
2.5.2	Características del diseño experimental	25
2.5.3	Unidad experimental	26

2.6	Descripción de los Tratamientos	27
2.7	MODELO MATEMÁTICO	28
2.8	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	28
2.8.1	Medio del Cultivo	28
2.8.2	Multipliación del hongo <i>Trichoderma sp.</i>	29
2.8.3	Preparación inicial del hongo.....	29
2.8.4	Preparación del sustrato:	31
2.8.5	Obtención y determinación de la concentración de conidios por hemocitometría:	31
2.8.6	Inoculación:.....	32
2.8.7	Control del crecimiento y agitación	33
2.8.8	Obtención del inóculo sólido	35
2.9	Variables de respuesta	35

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1	Evaluación del crecimiento micelial en diferentes especies de grano	38
3.1.1	Crecimiento del micelio día 1	38
3.1.2	Crecimiento micelial a los 4 días	38
3.1.3	Crecimiento micelial a los 6 días	43
3.1.4	Crecimiento micelial a los 7 días	47
3.1.5	Crecimiento micelial a los 9 días	51
3.1.6	Crecimiento micelial a los 12 días	55

3.2	Tiempo de colonización de <i>Trichoderma sp.</i> en los granos de arroz, cebada y maíz, evaluado en 12 días	59
3.3	Concentración de conidios/gramo.....	63
3.4	Desarrollo del protocolo:	67
1.	Preparación inicial del hongo.....	67
3.5	Discusión.....	68

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1.	CONCLUSIONES.....	58
4.2.	RECOMENDACIONES.....	59

BIBLIOGRAFIA

ANEXOS

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N° 1:	Características del diseño experimental	25
Cuadro N° 2:	Tratamiento en estudio	27
Cuadro N° 3:	Evaluación del crecimiento del micelio a los 4 días	38
Cuadro N° 4:	Doble entrada del micelio a los 4 días	39
Cuadro N° 5:	Análisis de varianza ANOVA para el crecimiento micelial del hongo 40	
Cuadro N° 6:	Prueba de medias TUKEY para diferencia significativa de crecimiento micelial	41
Cuadro N° 7:	Diferencia de medias de los tratamientos.....	41
Cuadro N° 8:	Prueba de TUKEY para diferencia significativa de factor G	42

Cuadro N° 9:	Prueba de TUKEY para diferencia significativa de factor D	42
Cuadro N° 10:	Prueba de TUKEY para la interacción D/G	42
Cuadro N° 11:	Evaluación del crecimiento del micelio a los 6 días	43
Cuadro N° 12:	Cuadro doble entrada del micelio a los 6 días.....	43
Cuadro N° 13:	Análisis de varianza ANOVA para el crecimiento micelial del hongo 45	
Cuadro N° 14:	Prueba de medias TUKEY para diferencia significativa de crecimiento micelial	45
Cuadro N° 15:	Diferencia de medias de los tratamientos.....	46
Cuadro N° 16:	Prueba de TUKEY para diferencia significativa de factor G	46
Cuadro N° 17:	Prueba de TUKEY para la interacción D/G	47
Cuadro N° 18:	Evaluación del crecimiento del micelio a los días	47
Cuadro N° 19:	Cuadro doble entrada del micelio a los 7 días.....	48
Cuadro N° 20:	Análisis de varianza ANOVA para el crecimiento micelial del hongo	49
Cuadro N° 21:	Prueba de medias TUKEY para diferencia significativa de crecimiento micelial	49
Cuadro N° 22:	Diferencia de medias de los tratamientos.....	50
Cuadro N° 23:	Prueba de TUKEY para diferencia significativa de factor G	50
Cuadro N° 24:	Prueba de TUKEY para diferencia significativa de factor D	50
Cuadro N° 25:	Evaluación del crecimiento del micelio a los 9 días	51
Cuadro N° 26:	Cuadro doble entrada del micelio a los 9 días.....	51
Cuadro N° 27:	Análisis de varianza ANOVA para el crecimiento micelial del hongo	53

Cuadro N° 28: Prueba de medias TUKEY para diferencia significativa de crecimiento micelial	53
Cuadro N° 29: Diferencia de medias de los tratamientos.....	54
Cuadro N° 30: Prueba de TUKEY para diferencia significativa de factor G	54
Cuadro N° 31: Prueba de TUKEY para diferencia significativa de factor D	54
Cuadro N° 32: Prueba de TUKEY para la interacción G/D	55
Cuadro N° 33: Evaluación del crecimiento del micelio a los 12 días	55
Cuadro N° 34: Análisis de varianza ANOVA para el crecimiento micelial del hongo	56
Cuadro N° 35: Análisis de varianza ANOVA para el crecimiento micelial del hongo	57
Cuadro N° 36: Prueba de medias TUKEY para diferencia significativa de crecimiento micelial	57
Cuadro N° 37: Diferencia de medias de los tratamientos.....	58
Cuadro N° 38: Prueba de TUKEY para diferencia significativa de factor G	58
Cuadro N° 39: Prueba de TUKEY para diferencia significativa de factor D	58
Cuadro N° 40: Prueba de TUKEY para la interacción G/D	59
Cuadro N° 41: Evaluación del tiempo de colonización total en los granos de arroz, cebada y maíz	59
Cuadro N° 42: Cuadro doble entrada para el tiempo de colonización del hongo ...	60
Cuadro N° 43: Análisis de varianza ANOVA para el tiempo de colonización.....	61
Cuadro N° 44: Prueba de medias TUKEY para diferencia significativa en concentración de esporas.....	62
Cuadro N° 45: Diferencia de medias de los tratamientos.....	62

Cuadro N° 46:	Prueba de TUKEY para diferencia significativa de factor G	63
Cuadro N° 47:	Prueba de TUKEY para diferencia significativa de factor D	63
Cuadro N° 48:	Evaluación de la concentración de esporas del hongo en cada grano al final del ensayo	63
Cuadro N° 49:	Cuadro doble entrada para la concentración de conidios/ ml	64
En este cuadro doble entrada para la concentración de conidios/ ml el G2 con D2 obtuvo la mayor concentración de conidios/ ml de G2 132968750,0 y D2 110562500,0.....		64
Cuadro N° 50:	Análisis de varianza ANOVA para la concentración de esporas del hongo	65
Cuadro N° 51:	Prueba de medias TUKEY para diferencia significativa en concentración de esporas.....	66
Cuadro N° 52:	Diferencia de medias de los tratamientos.....	66
Cuadro N° 53:	Prueba de TUKEY para diferencia significativa de factor G	67
Cuadro N° 54:	Prueba de TUKEY para diferencia significativa de factor D	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1:	Características macroscópicas de <i>Trichoderma sp.</i>	7
Figura N° 2:	Características microscópicas de <i>Trichoderma sp.</i>	8
Figura N° 3:	Especies del género <i>Trichoderma</i> empleadas en el control biológico de hongos y bacterias fitopatógenas en diferentes cultivos.	12
Figura N° 4:	Micelio de <i>Trichoderma harzianum</i> cultivado en medio líquido....	14
Figura N° 5:	Clamidosporas de <i>Trichoderma harzianum</i>	14
Figura N° 6:	Conidios de <i>Trichoderma harzianum</i> producidos en medio líquido.	15

Figura N° 7:	Micrografía de las etapas de conidiación en <i>Apergillus nidulans</i> . (A) Tallo temprano del conidióforo. (B) Formación de la vesícula en la punta del tallo. (C) Desarrollo de la métula. (D) Desarrollo de las fiálides. (E) Conidióforo maduro con cadenas de conidios.	16
Figura N° 8:	Imagen. - Ciudad de Tarija	23
Figura N° 9:	Imagen. - U.A.J.M.S.	23

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍA

Fotografía N° 1:	Granos de arroz, cebada y maíz.	28
Fotografía N° 2:	Observación microscópica, colonia <i>Trichoderma sp.</i>	30
Fotografía N° 3:	Observación macroscópica, colonia <i>Trichoderma sp.</i>	30
Fotografía N° 4:	Cuadrante superior izquierdo de la cámara neubauer.	32
Fotografía N° 5:	Inoculación en grano de maíz.	33
Fotografía N° 6:	Control del crecimiento del hongo mediante el método malla por puntos.	34

ÍNDICE DE GRAFICAS

Grafica 1:	Interacción de dos factores al crecimiento micelial día 4	40
Grafica 2:	Interacción con dos factores al crecimiento micelial al día 6	44
Grafica 3:	Interacción con dos factores al crecimiento micelial del día 7	48
Grafica 4:	Interacción de dos factores al crecimiento micelial a los 9 días	52
Grafica 5:	Interacción de dos factores al crecimiento micelial a los 12 días	56
Grafica 6:	Interacción de dos factores en el tiempo de colonización a los 12 días	61
Grafica 7:	Interacción de dos factores en concentración de conidios/ml	65

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo 1: Preparación inicial del hongo *Trichoderma sp.*
- Anexo 2: Preparación y esterilización de los granos arroz, cebada y maíz.
- Anexo 3: Obtención de la suspensión o inóculo conidial
- Anexo 4: Inoculación en los sustratos de arroz cebada y maíz
- Anexo 5: Determinación de la concentración conidial por hemocitometría:
- Anexo 6: Control de crecimiento micelial día 1
- Anexo 7: Medición de colonización mediante el método malla por puntos
- Anexo 8: Control de crecimiento micelial día 4
- Anexo 9: Control de crecimiento micelial día 5
- Anexo 10: Control de crecimiento micelial día 6
- Anexo 11: Control de crecimiento micelial día 7
- Anexo 12: Control de crecimiento micelial día 8 y 9
- Anexo 13: Control de crecimiento micelial día 11 y 12
- Anexo 14: Evaluación de la eficiencia mediante concentración de conidios/gramo de cada tratamiento
- Anexo 15: Planilla de crecimiento micelial