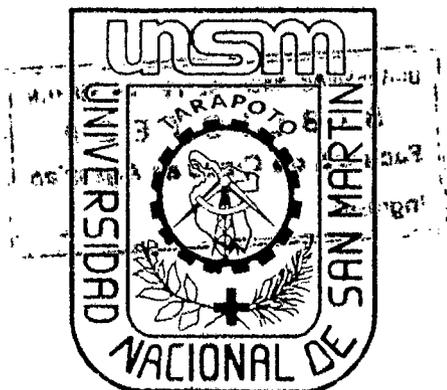


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA ACADÉMICO - PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

**“INFLUENCIA DE CEPAS DE *Trichoderma* sp ENDÓFITO EN
EL CRECIMIENTO, NUTRICIÓN Y RESISTENCIA FOLIAR A
Phytophthora palmivora EN PLANTONES DE CACAO
(*Theobroma cacao* L.) EN SAN MARTÍN”**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR:

Bach. ROGER ABAN HADER PICHIS GARCÍA

TARAPOTO - PERÚ

2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGRONOMIA



TESIS

**“INFLUENCIA DE CEPAS DE *Trichoderma* sp ENDÓFITO EN EL
CRECIMIENTO, NUTRICIÓN Y RESISTENCIA FOLIAR A
Phytophthora palmivora EN PLANTONES DE CACAO (*Theobroma
cacao* L.) EN SAN MARTÍN”**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR:

Bach: ROGER ABAN HADER PICHIS GARCÍA

Tarapoto – Perú

2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

TESIS

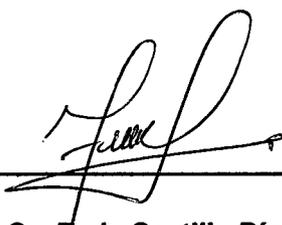
**“INFLUENCIA DE CEPAS DE *Trichoderma* sp ENDÓFITO EN EL
CRECIMIENTO, NUTRICIÓN Y RESISTENCIA FOLIAR A *Phytophthora*
palmivora EN PLANTONES DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) EN SAN
MARTÍN”**



Dr. Winston Franz Ríos Ruiz
PRESIDENTE



Ing. Jorge Luis Pelaéz Rivera
SECRETARIO



Ing. M. Sc. Tedy Castillo Díaz
MIEMBRO



Ing. M. Sc. Guillermo Vásquez Ramírez
ASESOR

TARAPOTO – PERÚ

2 013

DEDICATORIA

“A mis padres; Loly García Panduro y Roger Pichis Santillán, por confiar siempre en mí, y nunca defraudar su palabra, el aliento y ejemplo que ellos me profesan son las herramientas que siempre estuvieron presentes para lograr este objetivo.”

“A Olga Silva y Rossy Silva, por el gran apoyo y muestras de cariño, que día a día me brindan e impulsan a seguir en el trayecto y desarrollo de mis objetivos”

“A mis abuelos, Salomón y Graciela, que sin ellos habría desistido y rendido en el desarrollo de mi tesis, por sus palabras y gestos de estimación, por el hermoso regalo de existir en mi vida”

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, mi Alma Mater que contribuyó a mi formación social y profesional.

Al Instituto de Cultivos Tropicales (ICT), por facilitarme sus instalaciones, en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Al Ing. M. Sc. Guillermo Vásquez Ramírez, por el asesoramiento en el presente trabajo de investigación.

Al Ing. M. Sc. Enrique Arévalo Gardini, por brindarme la confianza necesaria y la oportunidad de realizar el presente trabajo de investigación.

A la Ing. M. Sc. Betsabe Leon Ttacca, por las facilidades que me brindó y su ayuda en el desarrollo de todas las etapas de la presente tesis.

Agradecer al personal del laboratorio de fitopatología del ICT; Jaime Cayotopa, Erick Trigozo, Delmar Olivera, Ginsberg Rodríguez, Úrsula Vivanco; por el apoyo desinteresado que me brindaron

Agradecer a mi familia, en especial a mis tías Ivón y Chepita, quienes contribuyeron a mi formación personal, marcando una etapa importante en mi vida.

ÍNDICE DEL CONTENIDO

	Pág.
✓ ÍNDICE DE FIGURAS	1.
✓ ÍNDICE DE CUADROS	3.
✓ RESUMEN	4.
✓ SUMMARY	5.
✓ INTRODUCCIÓN	6.
✓ OBJETIVOS	8.
✓ REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	9.
○ Generalidades sobre el cacao	9.
▪ Origen y distribución	9.
▪ Importancia socio-económica del cacao	9.
▪ Biología y botánica del cacao	10.
▪ Taxonomía	11.
▪ Requerimientos ambientales	11.
○ Pudrición parda en cacao	12.
▪ <i>Phytophthora palmivora</i>	13.
▪ Taxonomía	13.
▪ Morfología de <i>Phytophthora palmivora</i>	13.
▪ Sintomatología de la pudrición	14.
▪ Epidemiología de <i>Phytophthora palmivora</i>	15.
▪ Ciclo de vida de <i>Phytophthora palmivora</i>	16.
○ Hongos endofíticos	17.
○ Método de producción de <i>Trichoderma</i> sp en bolsas	18.

▪ Preparación del sustrato	18.
▪ Incubación del sustrato	19.
○ Generalidades de <i>Trichoderma</i>	19.
▪ Características.	19.
▪ Clasificación taxonómica	20.
▪ Condiciones de crecimiento	21.
▪ Interacciones <i>Trichoderma</i> – planta	23.
▪ <i>Trichoderma</i> en el desarrollo de la planta y la resistencia a patógenos.	24.
▪ Promoción del crecimiento vegetativo en las plantas	24.
✓ MATERIALES Y MÉTODOS	25.
✓ RESULTADOS Y DISCUSIONES	40.
✓ CONCLUSIONES	65
✓ RECOMENDACIONES	66.
✓ REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67.
✓ ANEXOS	78.

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
✓ Figura 01: Laboratorio de fitopatología	25.
✓ Figura 02: Reactivación de <i>Trichoderma</i> sp endófito	28.
✓ Figura 03: Producción de <i>Trichoderma</i> sp endófito.	29.
✓ Figura 04: Infestación del suelo con cepas de <i>Trichoderma</i> sp	31.
✓ Figura 05: Selección y pre-germinación de semilla de cacao.	33.
✓ Figura 06: Pasos para evaluación de biomasa y análisis nutricional de tejido vegetal.	34.
✓ Figura 07: Escala de evaluación	36.
✓ Figura 08: Prueba de resistencia foliar.	37.
✓ Figura 09. Altura de plántones de cacao	41.
✓ Figura 10. Diámetro de tallos en plántones de cacao	43.
✓ Figura 11. Área foliar de plántones de cacao	45.
✓ Figura 12. Número total de hojas en plántones de cacao	47.
✓ Figura 13. Longitud radicular en plántones de cacao	49.
✓ Figura 14. Biomasa total en plántones de cacao	51.
✓ Figura 15: Contenido de nitrógeno en el suelo	53.
✓ Figura 16: Contenido de nitrógeno en tejido vegetal	53
✓ Figura 17: Contenido de fósforo en el suelo	55.
✓ Figura 18: Contenido de Fósforo en tejido vegetal	55.
✓ Figura 19: Contenido de potasio en el suelo	57.
✓ Figura 20: Contenido de potasio en tejido vegetal	57.
✓ Figura 21: Intensidad de daño foliar en discos de hojas de plántones de cacao	59.

ANEXOS

- ✓ **Figura 22:** Reporte inicial del análisis de suelos caracterización físico – química
- ✓ **Figura 23:** Reporte inicial del análisis de suelos micro elementos
- ✓ **Figura 24:** Reporte final del análisis de suelos caracterización físico – química
- ✓ **Figura 25:** Reporte final del análisis de suelo micro elementos
- ✓ **Figura 26:** Reporte de análisis nutricional de tejido vegetal
- ✓ **Figura 27:** Comparación de plántulas de dos meses.
- ✓ **Figura 28:** Comparación de raíces representativas
- ✓ **Figura 29:** Comparación de plántulas representativas
- ✓ **Figura 30:** Comparación de hojas representativas
- ✓ **Figura 31:** Bandejas con discos de hojas en incubación
- ✓ **Figura 32:** Discos de hojas inoculados con *Phytophthora palmivora*

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
✓ Cuadro N° 01: Procedencia de los <i>Trichoderma</i> endófitos.	26.
✓ Cuadro N° 02: Número y distribución de tratamientos.	32.

ANEXOS

- ✓ **Cuadro N° 03:** Análisis de varianza de altura de plantones
- ✓ **Cuadro N° 04:** Análisis de varianza de diámetro de tallo
- ✓ **Cuadro N° 05:** Análisis de varianza del área foliar
- ✓ **Cuadro N° 06:** Análisis de varianza del número de hojas
- ✓ **Cuadro N° 07:** Análisis de varianza de la longitud radicular
- ✓ **Cuadro N° 08:** Análisis de varianza de biomasa
- ✓ **Cuadro N° 09:** Análisis de varianza de resistencia foliar.

Resumen

Este trabajo de investigación se desarrolló en el área de fitopatología del Instituto de Cultivos Tropicales – Tarapoto (ICT - T), ubicado en el distrito de la Banda de Shilcayo, provincia y región San Martín – Perú. Se tuvo como objetivo, determinar la influencia de cepas de *Trichoderma* sp endófito en el crecimiento, nutrición y resistencia foliar a *Phytophthorapalmivora* en plantones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en invernadero, usando el clon de cacao IMC–67. Se consideró 14 tratamientos, de los cuales, en cuatro de ellos se usó de forma individual las cepas de *Trichoderma* N° 17, 22, 91 y 126; se realizó además combinaciones de cepas en forma dual en seis tratamientos, se realizó también una combinación de todas las cepas (Tratamiento 11) y se usó tres controles (Tratamientos 12, 13 y 14). En la investigación, se realizaron tres inoculaciones con cepas de *Trichoderma* sp vía drench, la primera el día de la siembra, la segunda a los 45 días después de la siembra (dds), y la tercera fue a los 90 dds, usando una suspensión de 1×10^6 ufc/g de suelo. Para la obtención de nuestros resultados se evaluó; altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas; área foliar, longitud radicular, biomasa total, contenido nutricional y resistencia foliar a *Phytophthora palmivora*, en la cual se usó discos de hojas, inoculadas con gotas que contenían una densidad de zoosporas de $2 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$. Los resultados de este estudio muestran que el Tratamiento 4 (T.E.-126), obtuvo mejores resultados, siendo una alternativa biológica, para el control de *Phytophthorapalmivora*; haciendo de este estudio, un gran aporte en la agricultura orgánica.

Palabras clave: *Trichoderma*, inoculación, cepas, *Phytophthora*, resistencia foliar.

Summary

This research has developed in the field of plant pathology at the Institute of Tropical Crops - Tarapoto (ICT - T) located in Shilcayo district, province and region of San Martin - Peru. This study aimed to determine the influence of strains of *Trichoderma* sp endophyte on growth, foliar nutrition and resistance to *Phytophthora palmivora* in cocoa seedlings (*Theobroma cacao* L.) in the greenhouse, using cocoa IMC- 67 clone. 14 treatments were considered, of which four of them used individual strains of *Trichoderma* N°. 17, 22, 91 and 126, is also conducted strain combinations in dual form in six treatments was conducted also a combination of all strains (Treatment 11) and used three controls (Treatments 12, 13 and 14). In this research, we conducted three inoculations with strains of *Trichoderma* sp via drench, the first day of planting, the second at 45 days after sowing (dds), and the third was at 90 dds, using a suspension of 1×10^6 cfu/g soil. To obtain the results were evaluated, plant height, stem diameter, number of leaves, leaf area, root length, total biomass, nutrient content and leaf resistance to *Phytophthora palmivora*, which was used discs leaves inoculated with drops containing zoospores density 2×10^5 ml⁻¹. The results of this study show that Treatment 4 (TE -126), obtained better results, being a biological alternative for the control of *Phytophthora palmivora*, making this study, a large contribution to organic agriculture.

Keywords: *Trichoderma*, inoculation, strains, *Phytophthora*, leaf resistance.

I. INTRODUCCIÓN

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un cultivo de gran importancia económica en diversos países del mundo, como Costa de Marfil, Ghana, Camerún, Indonesia, Colombia, Venezuela, Perú, Ecuador entre otros. Costa de Marfil es el principal productor mundial con 1 320 000 toneladas, en América el mayor productor es Brasil con 163 000 toneladas (Icco 2005). En el Perú desde el 2001 la producción de cacao viene incrementándose, logrando así un crecimiento del 37 %, existen 60 320 hectáreas cultivadas y el 80% se concentra en las regiones de Cusco, San Martín, Ayacucho, y Junín, con una producción promedio de 555 Kg/ha (Appcacao, 2009).

El cacao es particularmente uno de los cultivos con mayor potencial económico y social, pero es afectado por enfermedades que causan pérdidas económicas significativas, siendo la pudrición parda una de ellas. Esta enfermedad es causada por *Phytophthora palmivora* y produce pérdidas de hasta un 30 % a nivel mundial (McMahon y Purwantara, 2004).

Nuestros agricultores tienen como principal método de control para *Phytophthora palmivora* el uso de agroquímicos, método que no es amigable con nuestro medio ambiente y cada vez es menos eficaz. Es por eso que se está optando por el control biológico y una gran alternativa es el uso de especies de *Trichoderma* ya que son principalmente objeto de estudio por su capacidad para controlar enfermedades (Bastos, 1996; Holmes *et al.*, 2004., Bailey *et al.*, 2008). Los *Trichodermas* son comúnmente considerados como habitantes saprófitos del suelo, pero algunos existen como simbiosis de plantas. (Wilson, 1997., y Harman *et al.*, 2004). Estos

organismos endófitos, particularmente los hongos como *Trichoderma*, han recibido una creciente atención en los años recientes. Este grupo de microorganismos viven asintómicamente dentro de tejidos vegetales sanos, y han mostrado poseer un gran potencial económico en la agricultura.

Actualmente el Instituto de Cultivos Tropicales (ICT) cuenta con una colección de hongos endófitos, entre ellos, aislamientos del género *Trichoderma* que fueron colectados en tres expediciones realizadas en el Alto Amazonas durante los años 2008-2009.

Debido a la importancia que tienen estos microorganismos en el control de enfermedades, se desarrolló el presente trabajo de investigación en el laboratorio e invernadero de fitopatología del ICT – T, con el objetivo de determinar la influencia de las cepas de *Trichoderma* sobre el crecimiento, nutrición y resistencia foliar a *Phytophthora palmivora* en plántones de cacao en invernadero en San Martín.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general:

- Determinar el efecto de cepas de *Trichoderma* sp endófito en el crecimiento, nutrición y resistencia foliar a *Phytophthora palmivora* en plántones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en invernadero en San Martín.

2.2. Objetivos específicos:

- Determinar la influencia de cepas de *Trichoderma* sp endófito en el crecimiento de plántones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en invernadero.
- Determinar la influencia de cepas de *Trichoderma* sp endófito en la nutrición de plántones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en invernadero.
- Determinar el efecto de cepas de *Trichoderma* sp endófito en la resistencia foliar a *Phytophthora palmivora* en plántones de cacao (*Theobroma cacao* L.) en invernadero.

III. REVISION DE LITERATURA

3.3. Generalidades sobre el cacao

3.3.1. Origen y distribución

Estudios más recientes confirman que la región alta del Amazonas, una zona que comprende territorios de Perú, Colombia y Ecuador es el lugar donde se encuentra la mayor diversidad genética del cacao, por lo tanto se considera su centro de origen (Lanudad *et al.*, 2000).

3.3.2. Importancia socio-económica del cacao

Los distritos productores en nuestra región son Chazuta (58%) seguido de Huimbayoc (20%) y Chipurana (6%). El Rendimiento productivo en el 2009 alcanzó 797 kg/ha. El volumen de producción de cacao en la campaña 2009 alcanzó 582.57 Tn. (OIA, 2009)

San Martín cuenta con más de 30 mil hectáreas de cacao que involucra más de 9 mil productores dedicados a este cultivo, que cuentan en promedio entre dos y cuatro hectáreas, lo que no los convierte en grandes productores, pero sí en ofertantes de un alimento de calidad; convierte al cacao como el producto más importante de exportación para nuestra región. San Martín es la región con mayor exportación de grano de cacao del Perú, de donde proviene cerca del 23 % del total exportado, lo que representa un monto de 80 millones de dólares (Herrera, 2011).

3.3.3. Biología y botánica del cacao

(Pinzón *et al.*, 2008), menciona que el cacao es un árbol leñoso, fuerte, de porte relativamente bajo, originario del sotobosque.

✓ Raíz

Posee dos tipos de raíces: una principal y una pivotante y unas raíces secundarias, de donde se desprenden los “pelos absorbentes”, la raíz principal es la encargada de perforar el suelo, darle un buen anclaje y sostenimiento a la planta.

✓ El Tronco y sus ramas

Cuando la planta se origina a partir de una semilla sexual, el tronco o tallo principal se desarrolla verticalmente hasta una altura de 0,80 a 1,50 metros en forma normal. Luego, se abre dando origen a 3, 4 ó 5 ramas, distribuidas al mismo nivel formando la mesa, molinillo o verticilo.

✓ Hojas

Son de forma alargada y tamaño medio; se desprende de las ramas. La hoja está unida a la rama por un tallito llamado pecíolo. Entre el pecíolo y la rama se encuentra un abultamiento pequeño llamado yema axilar.

✓ La flor

Las flores del cacao se encuentran distribuidas a lo largo del tronco y de las ramas, agrupadas en sitios llamados cojines florales. La flor del cacao es caulinar, es decir, se produce en el tronco, ramas y tallos leñosos. La flor del cacao es hermafrodita; posee ambos sexos: masculino y femenino.

✓ Fruto

Los granos están cubiertos por una baba o mucílago, que se desprende o escurre en el proceso de beneficio. Esta baba tiene azúcares que los microorganismos descomponen dando origen a cambios químicos que suceden durante su fermentación. Una mazorca contiene de 20 a 50 granos. El tiempo que dura la mazorca desde la polinización de la flor hasta su madurez, varía entre 150 – 180 días, dependiendo del origen genético y del clima en que se desarrolla.

3.3.4. Taxonomía

La clasificación taxonómica según Cruz *et al*, 2007 es la siguiente:

Reino	: Plantae
Subreino	: Tracheobionta
División	: Angiospermas
Clase	: Dicotiledóneas
Subclase	: Dilleniidae
Orden	: Malvales
Familia	: Sterculiaceae
Subfamilia	: Byttnerioideae
Género	: <i>Theobroma</i>
Especie	: <i>cacao</i> L.

3.3.5. Requerimientos ambientales

Cuando se define un clima apropiado para el cultivo de cacao generalmente se hace referencia a la temperatura y la precipitación (lluvia), considerados

como los factores críticos del crecimiento. Así mismo, el viento, la radiación solar y la humedad relativa afectan muchos procesos fisiológicos de la planta (Enríquez, 1987). El cacao es una planta C3, en estos tipos de plantas hay mayor concentración de cloroplastos en el haz que en el envés (Benavides, citado por Basurto *et al*, 2008).

El cacao es una planta sensible a la escasez de agua, al exceso de agua por lo que se precisarán de suelos provistos de buen drenaje, los rangos óptimos de agua oscilan entre 1500 y 2500 mm en las zonas bajas más cálidas y entre 1200 y 1500 mm en las zonas más frescas o los valles altos (MINAG *et al*, 2004).

3.4. Pudrición parda en cacao

Esta enfermedad, causada por el hongo *Phytophthora palmivora*. Se manifiesta con una mancha de color pardo que luego se torna más oscura, alcanza la parte interna de los frutos y causa la pudrición de las almendras (Moya *et al.*, 2005)

Considerada la principal enfermedad del cacao en un 80% de los países. Se estima que causa pérdidas a nivel mundial del 10 al 20 %.(CATIE, 2008).

La especie con mayor incidencia y más ampliamente diseminada en el mundo es *P. palmivora* responsable de 20% a 30% de pérdidas anuales de la producción mundial de grano y aproximadamente 10% de muerte de árboles (Guest, 2007).

3.4.1. *Phytophthora palmivora*

P. palmivora se encuentra ampliamente distribuida en las regiones tropicales con climas cálidos y de alta pluviosidad (Stamps, Citado por Jaimes y Aranzazu 2010).

3.4.2. Taxonomía

Las especies causantes de la enfermedad mazorca negra del cacao pertenece al dominio Eukaryota, reino Chromalveolata, Phylum Heterokontophyta, clase Oomycetes, Orden Pythiales, familia Pythiaceae, género *Phytophthora*. Las especies del género *Phytophthora* y pertenecientes a la clase Oomycetes difieren de los hongos en características especiales, tales como el contenido de celulosa en la pared celular; la fase vegetativa diploide, el flagelo heteroconte, y las crestas mitocondriales tubulares. Aún más, los Oomycetes poseen rutas metabólicas únicas que los diferencian de sus homólogos los hongos superiores (Griffith, Citado por Jaimes y Aranzazu 2010).

3.4.3. Morfología de *Phytophthora palmivora*

Las hifas de esta especie son completamente uniformes, pocas veces sobrepasan los 5 μm de diámetro. A menudo, esta especie produce clamidiosporas con diámetro entre 30 - 35 μm en abundancia y en las primeras fases de desarrollo. Los esporangios se forman fácilmente sobre medio de cultivo, estos son elipsoides u ovoides con un tamaño de 35 – 60 μm x 20 – 40 μm y puede llegar hasta 90 x 45 μm . Presenta anteridios anfígenos, esféricas u ovaes con un tamaño de 14 x 15 μm . Las oosporas

casi llenan el oogonio, tienen una pared de 2 μm . (Stamps, Citado por Jaimes y Aranzazu 2010).

3.4.4. Sintomatología de la Pudrición

(CATIE, 2008), nos menciona los daños en los órganos siguientes:

✓ **Fruto**

Mancha necrótica de bordes bien definidos y crecimiento rápido, que incluso puede llegar a cubrir todo el fruto en pocos días. Cuando las condiciones son favorables (principalmente alta humedad), sobre las manchas necróticas se forman los signos del patógeno, que consisten en un micelio blancuzco poco denso y adherido a la mazorca.

✓ **Brotes tiernos**

Puede atacar las hojas y tallos jóvenes de la planta, produciendo una lesión necrótica que se inicia en la yema apical o en el borde de la hoja y que avanza rápidamente afectando todo el brote.

✓ **Plántulas**

La infección se inicia generalmente en las hojas tiernas superiores, en forma de manchas necróticas que avanzan rápidamente infectando el tallo e incluso los cotiledones.

✓ **Tronco**

La mancha es de color rojo oscuro, y cuando está avanzada, la corteza se descompone dejando el leño al descubierto y produciendo en algunas áreas un exudado gomoso y rojizo.

✓ **Cojines florales**

Hifas procedentes de frutos enfermos pueden pasar al cojín floral produciendo una infección sistémica de flores y frutos pequeños, lo que puede originar grandes descensos de la producción.

✓ **Raíces**

En las raíces se observa la presencia de una necrosis y pudrición húmeda que origina una marchites general y hasta la muerte de los árboles.

3.4.5. Epidemiología de *Phytophthora palmivora*

El inicio y desarrollo de la enfermedad depende de:

- Cantidad inicial de inóculo primario
- Ciclo de producción
- Condiciones ambientales

Los factores climáticos que tienen mayor influencia en el desarrollo de la enfermedad son la cantidad y duración de la lluvia, y la temperatura. (CATIE, 2008).

Después de su liberación, las zoosporas responden a estímulos generados por el hospedero y a los 20 y 30 minutos se enquistan en el

material vegetal. El proceso de infección inicia después de esta etapa, la zoospora pierde los flagelos y germina. Existen evidencias de que la penetración tiene lugar a través de los estomas (Iwaro *et al.*, 1999).

En condiciones ambientales favorables, esta etapa tiene una duración aproximada de 48 horas (Attard *et al.*, 2008).

Otra característica de gran importancia es la edad del fruto, siendo más susceptibles a mayor edad. (Berry y Cilas, 1994; Efombagn *et al.*, 2004).

3.4.6. Ciclo de vida de *Phytophthora palmivora*

El ciclo de vida de *Phytophthora* sp involucra tanto el estado asexual como el sexual, que se presentan dependiendo de las condiciones ambientales. Predomina el estado asexual, el cual inicia cuando la estructura vegetativa o esporangio germina, y en condiciones óptimas de humedad (agua libre) y temperatura (15° – 38° C) libera las zoosporas. Éstas son estructuras (esporas) móviles, de vida corta y poseen dos flagelos, uno anterior y otro posterior. El anterior es el responsable de movilizar la zoospora a través del agua (hasta 1,5 cm), mientras que el flagelo posterior actúa como una hélice que le da la dirección a la célula (Judelson y Blanco, 2005; Walker y Van West, 2007). Las zoosporas cumplen dos papeles fundamentales para el ciclo de vida del patógeno: 1) transmisión del patógeno de un hospedero a otro y 2) dar la orientación del patógeno hacia el sitio de infección (hospedero) (Walker y Van West, 2007).

3.5. Hongos endofíticos

Son organismos que viven dentro de los tejidos de las plantas, sin causar síntomas o daños aparentes (Carroll y Petrini 1983; Carroll, 1988; Bandara *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2009). Ellos colonizan la mayoría de plantas sanas; considerados como simbioses y mutualistas omnipresentes (Hata *et al.*, 2002),

Se pueden encontrar en varios tejidos, semillas, raíces, tallos y hojas (Bandara *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2009). Pueden ser extraídos del interior de las plantas o aislados desde la superficie estéril de los tejidos de las plantas (Bandara *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2009).

Las plantas se benefician ampliamente por la protección de estos organismos endofíticos, promoviendo el crecimiento de la planta (Compant *et al.*, 2005) y otorgando un incremento en la resistencia a varios patógenos, por la producción de varios antibióticos y metabolitos secundarios.

Esto sugiere que hay presencia de hongos endofíticos mutualistas que actúan como detonantes biológicos para activar los sistemas de defensa ante condiciones adversas bióticas y/o abióticas (Bandara *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2009).

La mayoría de los hongos endofíticos son ascomicetos y están presentes en gran parte de su ciclo de vida dentro del tejido de la planta, generando un beneficio de protección y promoción de crecimiento (Sikora, 1992; Pocasangre, 2000).

3.6. Método de producción de *Trichoderma* sp en bolsas

(SENASA. 2011); menciona que en una primera fase se establece las esporas en una placa con medio de cultivo, y posteriormente la placa colonizada y totalmente esporulada es usada para la producción masiva de *Trichoderma* sp

3.6.1.Preparación del sustrato

En este método el proceso de germinación, colonización y esporulación, se realizan en la misma bolsa. El procedimiento es el siguiente:

Se prepara el agua destilada a utilizarse en las bolsas de arroz, adicionando 2 gramos de úrea por cada litro de agua. En una bolsa de polipropileno de 11 x 16 pg x 2 micras, se pone 830 g de arroz, se le agrega 200 ml de agua destilada, se hacen dos dobleces a la bolsa y se engrapa en los extremos, luego se mueve la bolsa para distribuir el agua a todos los granos de arroz. Se esteriliza en la autoclave a 121°C y 15 lbs de presión por 45 minutos. Después de esterilizadas las bolsas, se agitan con el objetivo de evitar aglomeraciones. (Para que el inóculo se distribuya uniformemente en el arroz y se obtenga un desarrollo homogéneo del hongo en producción). La agitación de las bolsas se realiza con guantes térmicos.

3.6.2.Incubación del sustrato

Previamente se realiza la inoculación con los aislamientos de *Trichoderma* sp; las bolsas inoculadas son llevadas a la sala de germinación la cual tiene una temperatura de 24 a 27 °C, incubándose en oscuridad los

primeros 3 días para favorecer el desarrollo del micelio. Al segundo día de incubación, las bolsas son agitadas suavemente para favorecer la oxigenación de todo el sustrato y son dejadas de 5 a 8 días hasta completar la esporulación. Con la finalidad de secar el producto, se abren las bolsas por el centro, con lo que se consigue bajar la humedad a 30 – 35%. En esta etapa se revisan las bolsas diariamente, eliminando las que presenten crecimiento lento y desuniforme, crecimiento débil así como las bolsas con presencia de contaminantes.

3.7. Generalidades de *Trichoderma*

3.7.1. Características.

Trichoderma es un aislado comúnmente del suelo y se reproduce asexualmente, es filamentoso, anamórfico, 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, Las conidias son esféricas y mantenidas en racimos compactos mediante una ligera secreción mucilaginosa (Harman and Chet, 1981).

Se ha encontrado que cepas específicas del hongo del género *Trichoderma* pueden colonizar y penetrar los tejidos de las raíces de las plantas, e

inician una serie de cambios morfológicos y bioquímicos en las plantas, lo cual conlleva a la resistencia sistemática inducida de la planta (ISR), (Fonseca, 1998).

3.7.2. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica del género *Trichoderma* es la siguiente (Papavizas, 1985).

Súper Reino	: Eucariota
Reino	: Fungi
Filum	: Ascomycota
Subfilum	: Pezizomycotina
Clase	: Sordariomycetes
Subclase	: Hypocreomycetidae
Orden	: Hypocreales
Familia	: Hypocreaceae
Género	: <i>Trichoderma</i>

3.7.3. Condiciones de crecimiento

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

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 *et al.*, 1980).

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).

Germinación: Para su aprovechamiento el hongo emplea enzimas como amilasas, α -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, 1999).

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).

Potencial de hidrógeno: *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).

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, 1996).

Humedad: El contenido de humedad que favorece el crecimiento saprófito de *Trichoderma* se encuentra entre 70% y el 80% (Wakelin *et al.*, 1999).

Necesidades nutricionales: *Trichoderma* es capaz de degradar sustratos muy complejos tales como almidón, pectina y celulosa entre otros, y emplearlos como fuente de carbono para su crecimiento gracias a la variada maquinaria enzimática que posee, aunque puede emplear también ácidos orgánicos y monosacáridos como fuente de carbono. Asimismo, *Trichoderma* asimila como fuente de nitrógeno compuestos tales como aminoácidos, urea, nitritos, amoníaco y sulfato de amonio (Moore, 1996).

3.7.4. Interacciones *Trichoderma* – planta

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 (Harman *et al.*, 2004; Vinale *et al.*, 2008).

3.7.5. *Trichoderma* en el desarrollo de la planta y la resistencia a patógenos.

Propiedades benéficas que se atribuyen a *Trichoderma* son el Control de patógenos en raíz y hojas (Induce a la resistencia, Control biológico por ataque directo a enfermedades fúngicas de las plantas como antagonismo), cambio en la composición de la micro-flora en la raíz, además mejora la absorción de nutrientes, mejora solubilidad de los nutrientes del suelo, mejora crecimiento radicular, Incrementa la formación de pelos absorbentes, mejora la profundización de raíz. (Harman, 2007).

3.7.6. Promoción del crecimiento vegetativo en las plantas

Los hongos *Trichoderma* endófitos son capaces de promover el crecimiento y desarrollo vegetativo de las plantas (Vinale *et al.*, 2008). Esto se refleja en estudios llevados a cabo con *Trichoderma harzianum* (cepa T22) y *Trichoderma atroviride* donde se reporta un incremento del crecimiento vegetativo de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* L.), chiltoma (*Capsicum annum* L.) (Vinale *et al.*, 2008) en Italia; en maíz (*Zea mays* L.) (Blanchard y Bjorkman, 1996) en

Estados Unidos, tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), zapallo (*Cucurbita máxima* L.) (Chang *et al*, 1986; Kleifeld y Chet, 1992) en Estados Unidos; petunia (*Petunia hybrida* L.)(Ousley *et al*, 1994) en Inglaterra; tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) (Windham *et al*, 1986) en Estados Unidos; entre otras, no existiendo reportes en especies forestales. La estimulación del crecimiento de raíces por efecto de la presencia de *Trichoderma*, fue reportada por (Bjorkman *et al.*, 1995) en Estados Unidos.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación del lugar experimental.

El presente estudio de investigación se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Instituto de Cultivos Tropicales (ICT) (Figura 01), distrito de la Banda de Shilcayo, provincia y región de San Martín, ubicada a 06° 00' 28" de latitud sur, 76° 00' 18" latitud oeste y 315 msnm.



Figura 01: Laboratorio de Fitopatología. Ubicada en la estación experimental "Juan Bernito - ICT"

4.2. Materiales de estudio

4.2.1. Cepas de *Trichoderma* sp endófito

De la primera expedición realizada por el Instituto de Cultivos Tropicales el 2008, en la cuenca del Alto Amazonas, se colectaron 126 cepas de hongos endófitos, a partir de hojas y tallos de cacao nativos. De las 126 cepas se seleccionaron 10 cepas de *Trichoderma* sp, por su capacidad antagonista, endofítica e inducción de resistencia a patógenos de cacao.

Estas 10 cepas fueron empleados en nuevos trabajos, sobresaliendo 4 de estos. (Cuadro 01). Estas cepas son conservadas en viales con glicerina al 10% y fueron facilitados por la micoteca del laboratorio de Fitopatología del ICT – T.

Cuadro N° 01: Procedencia de los *Trichoderma* endófitos.

N°	CEPA	Órgano	Localidad	Departamento
1	T.E 17	Tallo	Pastaza	Amazonas
2	T.E 22	Tallo	Ungumayo	Amazonas
3	T.E 91	Tallo	Ungumayo	Amazonas
4	T.E 126	Tallo	Ungurahui	Amazonas

4.2.2. Genotipos utilizados

Se utilizó semillas de polinización abierta del genotipo IMC – 67 (plantación monoclonal de cacao de la E.E. Juan Bernito del ICT-T), las cuales constituyen los plantones.

4.2.3. Inóculo de *Phytophthora palmivora*

El patógeno *Phytophthora palmivora* utilizado, fue aislado a partir de plantones enfermos de cacao en condiciones de vivero en la ciudad de Tingo María, en el departamento de Huánuco. Y conservado en la Micoteca del ICT-T en una solución de glicerina a -20°C. Se utilizó para la prueba de resistencia foliar.

4.2.4. Suelo esterilizado

El suelo que se utilizó, se esterilizó en una autoclave vertical, a una temperatura de 120°C, a una presión de 15 lbs., por un tiempo de 60 minutos.

4.3. Metodología

4.3.1. Preparación de medios de cultivo

4.3.1.1. Papa sacarosa agar (PSA): En un recipiente se incorporó 500 g de papa lavada y picada en trozos de tamaño mediano, y se dejó hervir con 1000 ml de agua destilada por el lapso de 30 min aproximadamente.

En otro recipiente, se procedió a diluir 36 g de agar con 1000 ml de agua destilada. Luego se unió los contenidos (caldo de papa, agar diluido y 20 g de azúcar rubia) y se procedió a dispensar en matraces de 150 – 200 ml de capacidad. Posteriormente se autoclavó los matraces con el medio a una temperatura de 120°C y a 15 lbs de presión por espacio de 20 min. (French, 1982).

4.3.1.2. Juice agar clarificado (V8): Se realizó para el incremento de inóculo de *Phytophthora palmivora*. Se colocó en un recipiente 360 ml de V8 juice, y se le agregó 7,3 g de CaCO₃. Y se removió hasta mezclar y disolver, ambos contenidos. El contenido fue centrifugado en tubos de centrifugar a 4000 rpm durante 20 minutos. Luego se separó el sobrenadante en un

nuevo recipiente. El cual fue 200 ml. Luego se le agregó al sobrenadante 800 ml de ADE y 15 g de Agar Technical, se procedió a distribuir en matraces para su esterilización a 121°C, 15 lb de presión, por 25 minutos, y ser conservados hasta su utilización.

4.3.2. Reactivación de *Trichoderma* sp endófito

Los aislamientos conservados en la micoteca del ICT-T, se reactivaron en placas con agar papa-sacarosa (PSA) previamente esterilizadas (Figura 02), dejando crecer a temperatura ambiente durante cinco días.

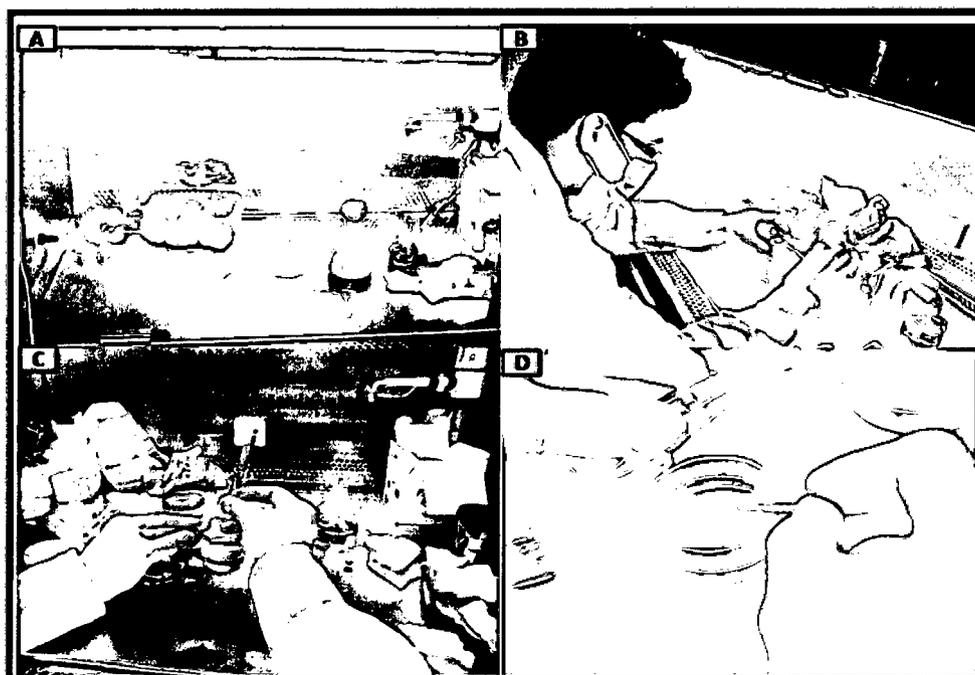


Figura 02: Reactivación de *Trichoderma* sp endófito. A. Desinfestación de placas y materiales a usar. B. Plaqueado de medio PSA. C. y D. Siembra de cepas de *Trichoderma* sp en medio PSA.

4.3.3. Producción de *Trichoderma* sp endófito

Se inocularon las cepas reactivadas dentro de bolsas de polipropileno de 14 x 20 cm, el cual contenía 200 g. de sustrato de arroz estéril. Luego se dejó en reposo por 15 días (Método adaptado de producción masiva de *Trichoderma* sp en bolsas propuesta por Laboratorio de antagonistas SCB - SENASA). (Figura 03).

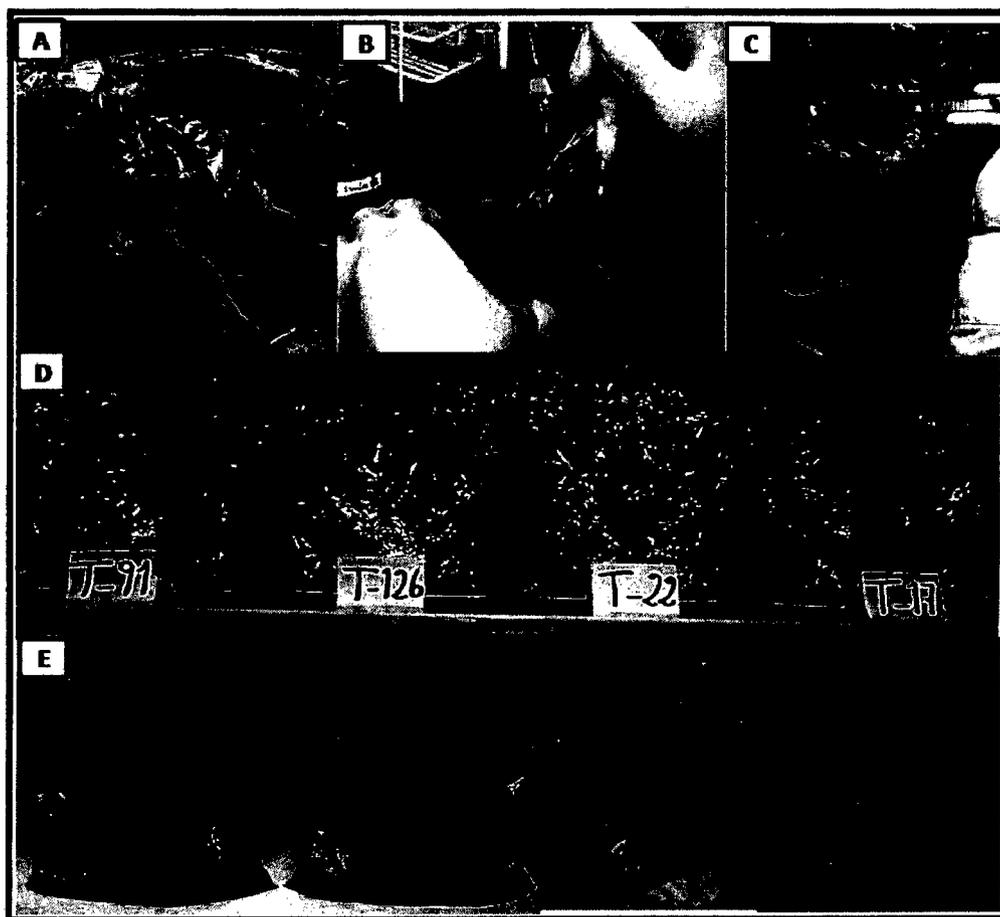


Figura 03: Producción de *Trichoderma* sp endófito. A. Desmenuzamiento de arroz estéril B. Distribución en cuartos de placas colonizadas con cepas de *Trichoderma* sp endófito. C. Inoculación de las cepas de *Trichoderma* sp endófito en arroz estéril. D. Bolsas con arroz estéril inoculadas con cepas de *Trichoderma* sp endófito. E. Arroz estéril colonizado

4.3.4. Preparación del sustrato

Se recolectó suelo agrícola procedente de la estación experimental “Juan Bernito” del ICT, una cantidad de 196 Kg; y 98 Kg. de compost y fue mezclado en la proporción 2:1 respectivamente, con la finalidad de mejorar la fertilidad del sustrato y brindar condiciones favorables para el crecimiento de los aislamientos de *Trichoderma* sp, se llenaron 3 Kg. de sustrato en cada bolsa plástica transparente, obteniéndose 98 bolsas en total con sustrato para ser esterilizados.

Se realizó un análisis del sustrato antes y después de la esterilización.

4.3.5. Infestación del suelo con cepas de *Trichoderma* sp endófito

El sustrato estéril fue distribuido en bolsas plásticas de polietileno de 30x15cm aproximadamente (3 kg de suelo/bolsa), posteriormente, se infestó el suelo con soluciones que contenían conidias de aislamientos de *Trichoderma* sp endófito a una concentración de 1×10^6 ufc.gs⁻¹ correspondiente a los tratamientos T1 al T11 (Cuadro 02) mediante el método vía drench con un volumen de agua que permitió mantener al suelo en capacidad de campo (CC), el volumen fue 100 ml, el cual fue determinado el día de la inoculación.

Las bolsas fueron cerradas durante una semana, para evitar la contaminación con otros microorganismos y se mantuvieron a CC. (Figura 04).

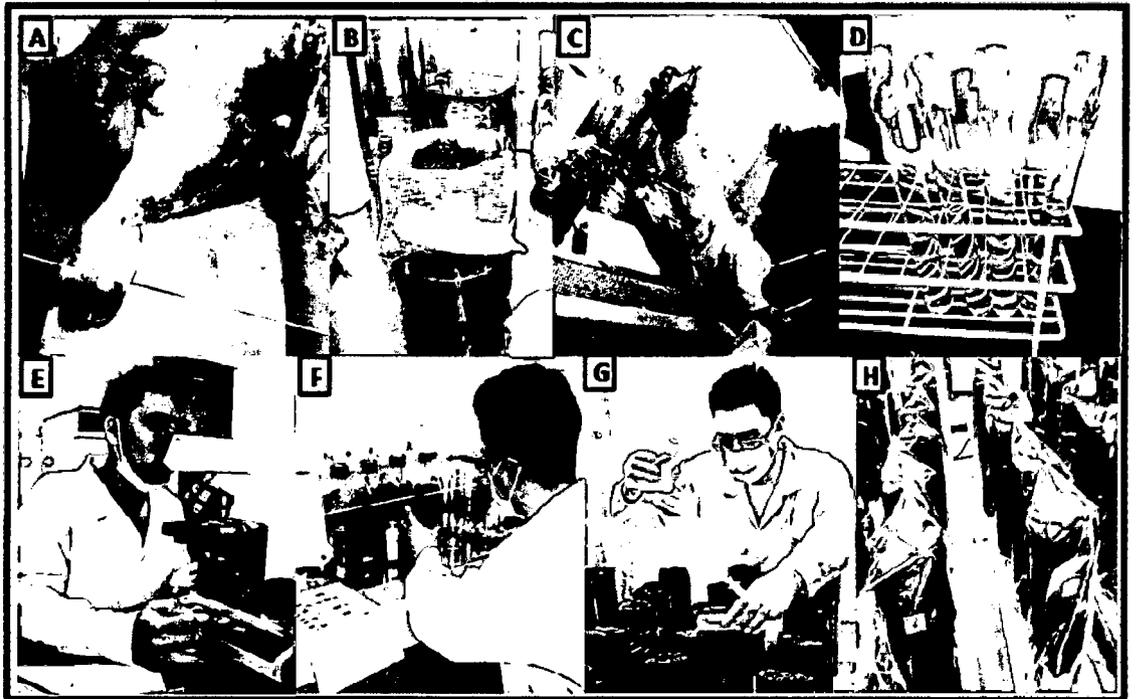


Figura 04: Infestación del suelo con cepas de *Trichoderma sp* endófito A. Lavado del arroz colonizado con *Trichoderma sp* endófito. B. Solución madre de *Trichoderma sp* endófito. C. Diluciones para realizar el conteo de conidias. D. Suspensión de conidias de *Trichoderma sp*. E. Conteo de conidias. F. Estandarización de conidias. G. Infestación del suelo con cepas de *Trichoderma sp* endófito. H. Bolsas almacigueras cubiertas.

Para el T12, la aplicación del abono foliar fue a partir del primer mes, teniendo en cuenta la concentración del producto, y las recomendaciones del responsable de campo del ICT – T.

Cuadro N° 02: Número y distribución de tratamientos

N° Tratamiento	Descripción
T1	TE - 17
T2	TE - 22
T3	TE - 91
T4	TE - 126
T5	TE - 17 + TE - 22
T6	TE - 17 + TE - 91
T7	TE - 17 + TE - 126
T8	TE - 22 + TE - 91
T9	TE - 22 + TE - 126
T10	TE - 91 + TE - 126
T11	Mezcla TE
T12	Control (N.P.K)
T13	Control (M.O)
T14	Control absoluto

4.3.6. Selección y pre-germinación de semilla de cacao.

Se obtuvieron mazorcas de la parcela monoclonal del ICT – T, clon IMC-67 y se seleccionaron semillas vigorosas, parte central, posteriormente se extrajo el mucílago y se desinfectó con hipoclorito al 2% y se lavó con ADE; luego las semillas fueron colocadas en bandejas con aserrín estéril y en capacidad de campo para la germinación, por un período de cuatro días. (Figura 05).



Figura 05: Selección y pre-germinación de semilla de cacao A. Frutos de Cacao clon IMC – 67. B. y C. Extracción del mucílago de las semillas. D. Desinfección de semillas con hipoclorito al 2%. E. Lavado con Agua destilada estéril. F. Secado de semillas. F. Semillas de cacao clon IMC – 67 en aserrín estéril. G. Semillas en proceso de germinación.

4.3.7. Siembra de semillas de cacao

Se sembró de manera aséptica 98 semillas pregerminadas de cacao clon **IMC – 67**; el mismo día que se realizó la inoculación vía drench a los tratamientos correspondientes, luego se cubrió cada bolsa almaciguera por 15 días para evitar contaminación y diseminación de esporas entre aislamientos; e intermedio de un día, se agregó 100 ml de agua destilada para mantener en capacidad de campo, durante 04 meses.

4.3.8. Influencia de cepas de *Trichoderma* sp endófitosobre el crecimiento y nutrición de plantones de cacao

4.3.8.1. Crecimiento de plantas colonizadas con cepas de *Trichoderma* sp endófito

Se realizó la colonización de plantones de cacao clon IMC – 67, con cepas de *Trichoderma* sp Endófito, vía drench, descrito en el punto 4.3.5. Para la evaluación de crecimiento se realizaron evaluaciones biométricas (cada 7 días), hasta los 120 días. Se evaluó parámetros como: altura de planta, diámetro de tallo, número de hojas y área foliar. Asimismo al cumplirse los 120 días de evaluación, se procedió a sacrificar los plantones, para el análisis nutricional respectivo (Figura 06) y se realizó la evaluación de longitud radicular y biomasa total.



Figura 07: Proceso para evaluación de biomasa y análisis nutricional de tejido vegetal. A. Lavado de plantones. B. Pesado de materia fresca, (evaluación de biomasa). C. Molienda de materia seca. D. Codificado de muestras.

4.4. Prueba de resistencia foliar a *Phytophthora palmivora* en plantones de cacao

4.4.1. Producción y liberación de zoosporas de *Phytophthora palmivora*

El patógeno fue sembrado en medio V8 clarificado e incubado en oscuridad durante 5 días y 3 días bajo luz artificial con la finalidad de producir esporangios. Para liberación de zoosporas, se agregó 10 ml de ADE en cada placa conteniendo el inóculo del patógeno, estas fueron llevadas a refrigeración durante 30 min a 4°C, posteriormente fueron expuestas a luz artificial, durante 15 min a 25°C, luego se colectó el contenido de las placas en tubetes de 50 ml, en donde se obtuvo la suspensión de zoosporas. Para determinar la concentración de zoosporas se utilizó una cámara de Neur bauver. En la cual se obtuvo una concentración de $6,9 \times 10^5$ zoosporas/ml. Con la cual se realizó la preparación de la solución inóculo; usando la siguiente fórmula.(Figura 08)

$$C1 \times V1 = C2 \times V2 \quad : \quad (6,9 \times 10^5) (V1) = (2 \times 10^5) (60 \text{ml})$$

$$\text{Solución madre} = 17,39 \text{ml}$$

$$\text{ADE} = 42,61 \text{ml}$$

4.4.2. Inoculación del patógeno

Seseleccionó 4 plantas por tratamiento, de 4 meses de edad y 3 hojas por planta, las cuales fueron lavadas con agua destilada estéril (ADE) y secadas en cámara de flujo. Luego se obtuvo un disco por hoja de 7 cm de diámetro, haciendo un total de 12 discos

por tratamiento. Los discos fueron colocados dentro de unas bandejas de plástico, conteniendo esponjas humedecidas; sobre cada disco se inocularon 8 puntos o gotas de solución inóculo (25 ul cada una). Los tapers con las muestras fueron incubadas en oscuridad a 25°C. Las evaluaciones de severidad de la enfermedad se realizaron a los 3 y 5 días después de la inoculación utilizando una escala de 0-5 para el tamaño e intensidad de síntomas propuesta por Nyasse´ *et al.* (1995); donde, DS0= Ausencia de síntomas, DS1= Manchas necróticas muy pequeñas, DS2= Mayor Numero y tamaño de manchas marrones o necróticas, DS3= coalescencia de las manchas marrones dentro del tamaño de las lesiones de la gota de inóculo, DS4= lesiones marrones uniformemente grandes, DS5= lesiones marrones muy grandes, frecuentemente se expande fuera del área cubierta por la gota de inoculación. (Figura 07). Se usó como referente la metodología de (Lawrence, J.S., 1978).

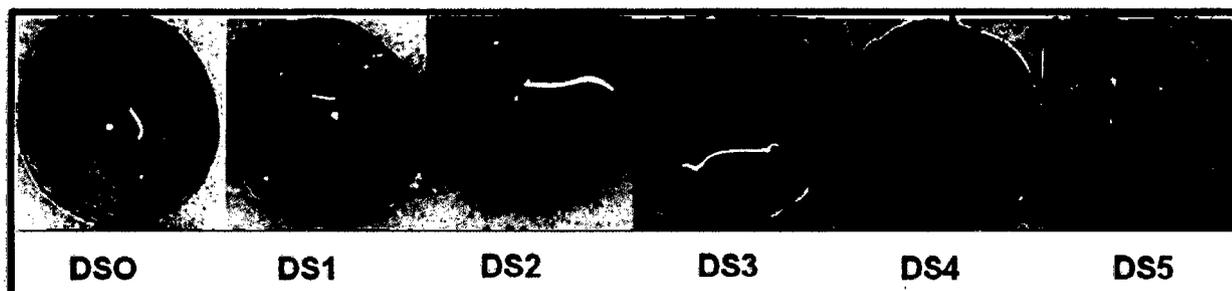


Figura 07: Escala de evaluación según el tamaño e intensidad de síntomas (Nyasse´ *et al.*, 1995).

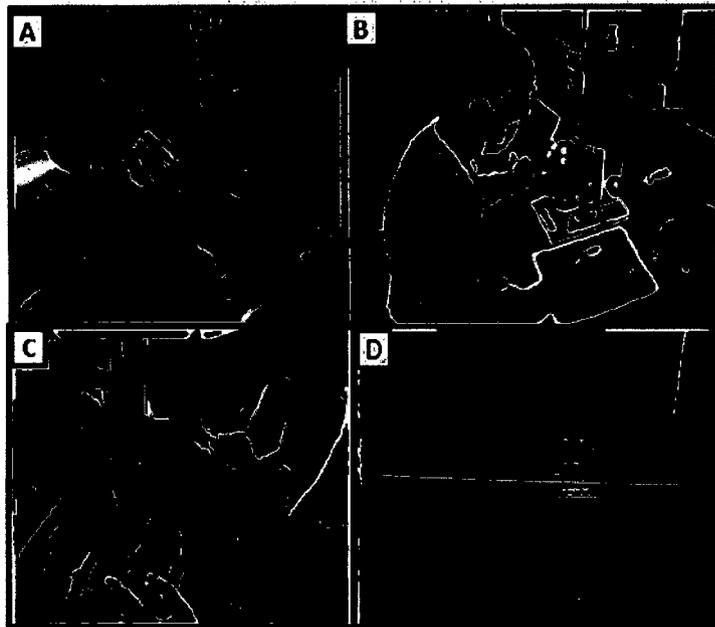


Figura 08: Prueba de Resistencia Foliar. A. Cortado de hojas para discos. B. Conteo de zoosporas en cámara de Neur bauver. C. Inoculación en discos de hojas. L. Tapers de plástico con discos de hojas en incubación.

4.5. Diseño estadístico

El diseño empleado en el presente estudio fue el Diseño Completamente al Azar, se emplearon 14 tratamientos y siete repeticiones por tratamiento. Con los datos obtenidos se realizó el análisis de variancia por tratamiento y la prueba de contraste de Scott & Knott, con un nivel de significancia a 0.05. Los datos fueron analizados utilizando el Sistema de Análisis Estadístico (Infostat) versión 1.1

4.6. Parámetros evaluados

4.6.1. Crecimiento:

- ✓ **Altura planta:** Se registró la altura desde la base del tallo hasta el ápice de la planta, con ayuda de una regla metálica milimetrada de 60 cm.
- ✓ **Número de hojas:** Se realizó la cuantificación de las hojas, cada 7 días, de cada uno de las repeticiones de los tratamientos.

- ✓ **Área foliar:** Se realizó la evaluación del área foliar, mediante fotografías, haciendo uso del software ASSES, al finalizar la investigación, fotografiando hojas intermedias y previamente seleccionadas.
- ✓ **Diámetro de tallo:** Se registró el diámetro de tallo con ayuda de un vernier digital a una altura de 2 centímetros de la base del tallo.
- ✓ **Longitud radicular:** Se eliminó las bolsas de las plántulas y se colocaron en un balde con agua destilada hasta separar los restos de suelos de las raíces. Se usó el programa llamado ASSES. El cual se realiza mediante el uso de fotografías y un punto de calibración (uso de moneda). Este programa nos permitió medir la raíz en centímetros.
- ✓ **Biomasa:** Con la ayuda de una balanza analítica se determinó el peso fresco (Pf) el mismo día que las plantas fueron sacrificadas, luego las muestras fueron colocadas en una estufa por un tiempo de 3 días a 72 °C para determinar el peso seco (Ps). Con los datos obtenidos se obtuvo la tasa absoluta de biomasa total en gramos.

4.6.2. Nutrición

Se realizó un análisis químico de macro y micronutrientes en tejido vegetal. Para lo cual se extrajo 5 g/muestra de las muestras de biomasa y se determinó los nutrientes de acuerdo al método del espectrómetro de absorción molecular y atómica. El análisis se realizó y estuvo a cargo del laboratorio de suelos, tejidos y aguas del Instituto de Cultivos Tropicales - Tarapoto (ICT - T).

- ✓ **Análisis químico de suelo inicial y final.-** Al lavar las raíces, el suelo sedimentado se homogenizó y se extrajo 200 ml y se colocaron en bandejas

para el secado. La determinación de nutrientes se realizó de acuerdo al análisis de caracterización físico-químico y macro y micronutrientes, que se realizó en el laboratorio de suelos, tejidos y aguas del ICT – T.

4.6.3. Prueba de resistencia foliar (Severidad): Se realizó mediante la escala de severidad e intensidad de daño propuesta por (Nyassé *et al.*, 1995).

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. Resultados.

5.1.1. Crecimiento

5.1.1.1. Altura de planta

En la figura 9, el ANVA, nos muestra, una alta significancia entre tratamientos, con un R^2 de 76 % y un CV de 3,82 %, el cual está dentro de los parámetros permisibles (Rojas, M. 1991); asimismo nos muestra la diferencia entre tratamientos, siendo el T4 el que alcanzó la mayor altura (45,43 cm), con diferencias significativas en comparación a los otros tratamientos, seguido del T2, sin diferencia estadística significativa con el T3, T6, T9 y T11, del mismo modo hay similitud estadística entre los tratamientos T1, T7, T10 y controles T12 y T13; sin embargo, estos y los demás tratamientos difieren del control T14, el cual presentó el mínimo valor en altura de planta (34,41 cm).

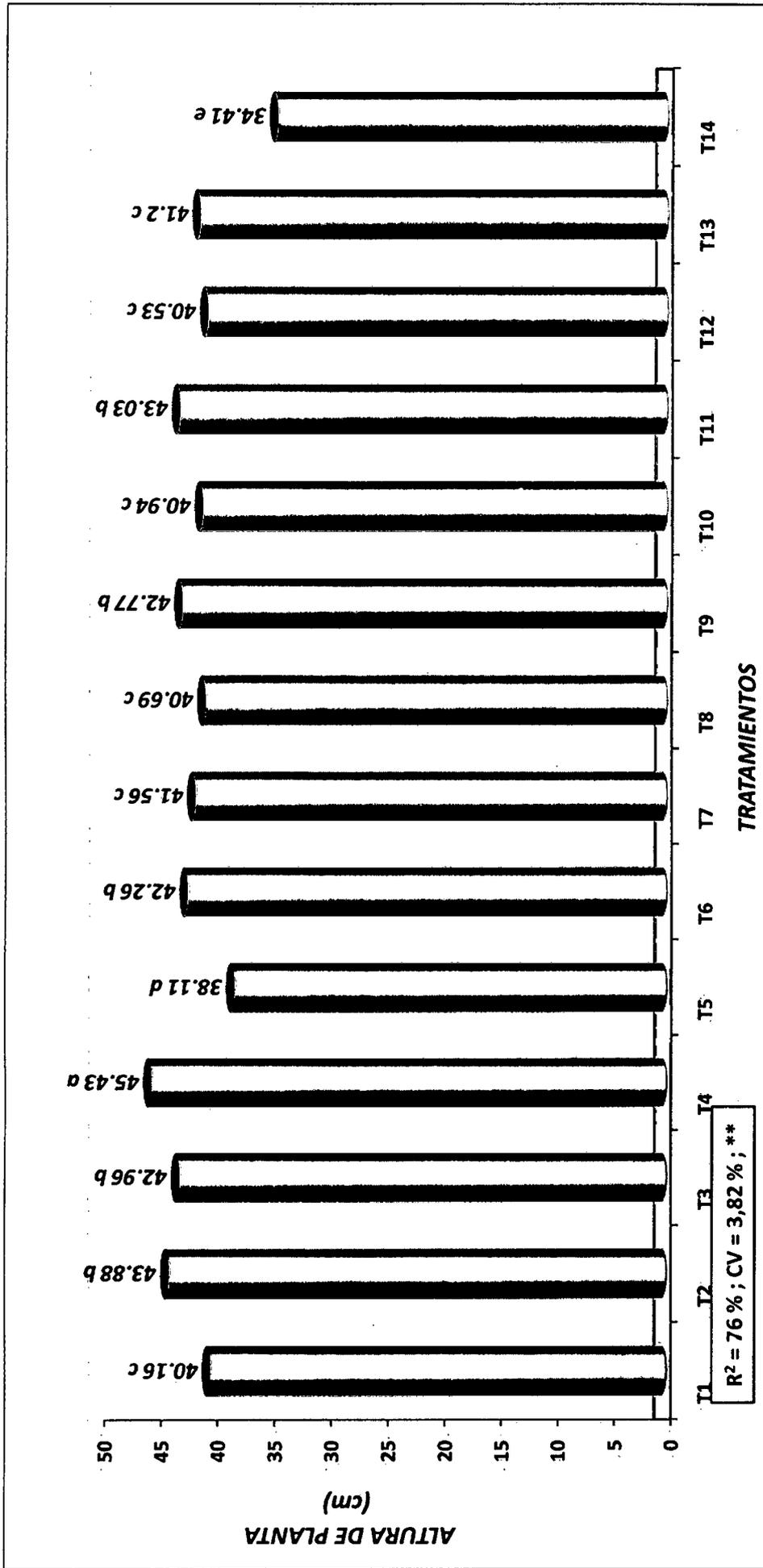


Figura 9. Altura de plantonesde cacao. Inoculados con cepas de *Trichoderma* sp Endófitos. Letras distintas indican diferencias significativas. Scott & knott ($p \leq 0,05$).

5.1.1.2. Diámetro de tallo

En la figura 10, el ANVA, nos muestra, significancia entre tratamientos, con un R^2 de 30 % y un CV de 7,51 %; asimismo nos muestra la diferencia entre tratamientos, siendo el T11 el que alcanzó el mayor diámetro de tallo (5,99mm), sin diferencia significativa, pero si diferencia numérica, con el T1, T2, T3, T4, T6, T10, y controles T12, T13. La figura nos indica además que no existe diferencia significativa entre el T5, T7, T8, T9 y control T14, siendo este control el que obtuvo el menor diámetro de tallo, que fue (5,12mm).

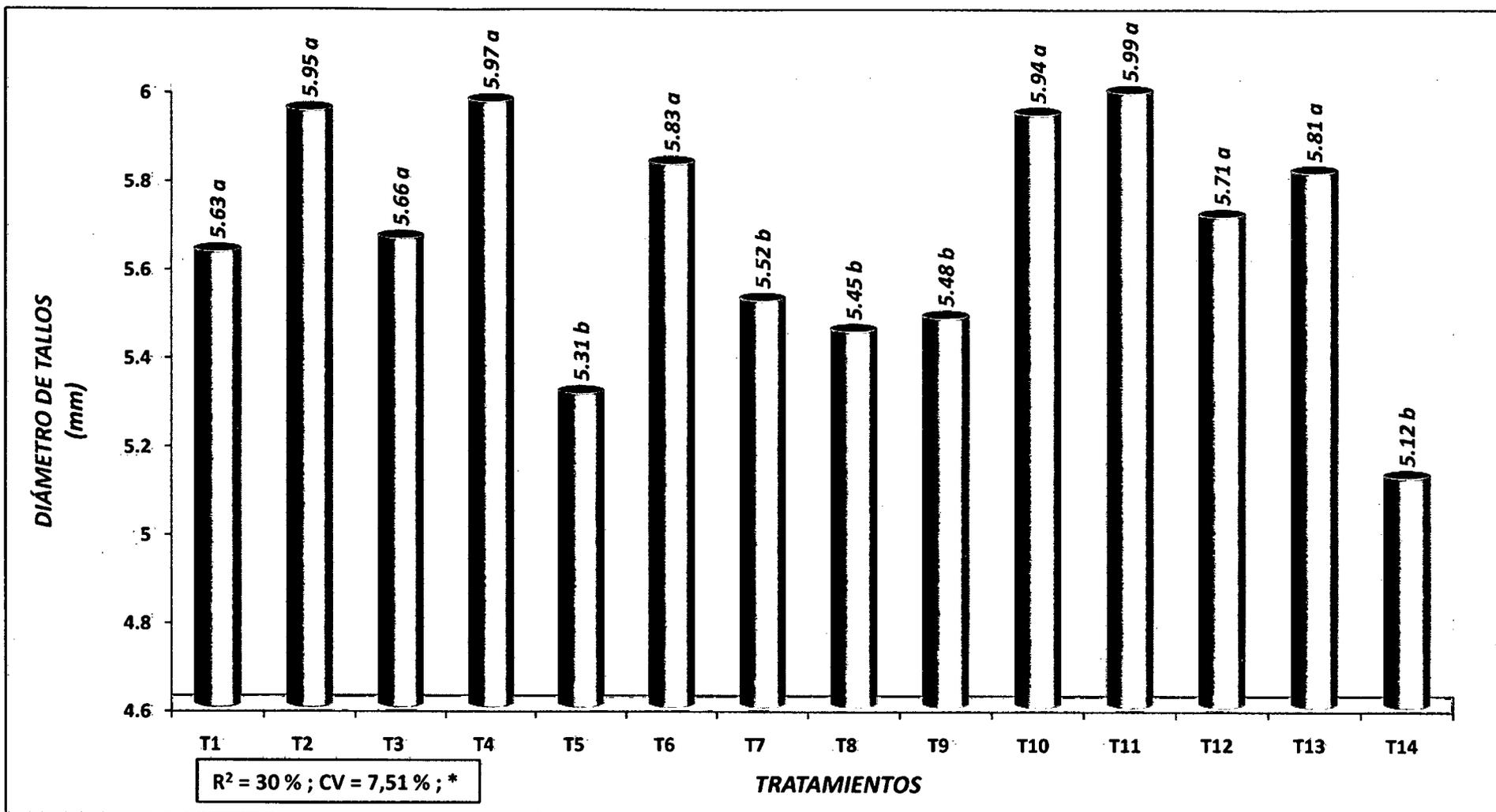


Figura 10. Diámetro de tallos en plántones de cacao. Inoculados con cepas de *Trichoderma* sp Endófitos. Letras distintas indican diferencias significativas. Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

5.1.1.3. Área foliar

En la figura 11, el ANVA, nos muestra, una alta significancia entre tratamientos, con un R^2 de 92% y un CV de 5,78 % lo cual se encuentra dentro del rango permisible, (Rojas, M. 1991). Nos muestra la diferencia entre tratamientos, siendo el T4 el que alcanzó la mayor área foliar ($107,75\text{cm}^2$), siendo superior y mostrando diferencia significativa frente a todos los tratamientos. Asimismo el T6, T7, T8 y T10, son iguales estadísticamente; con diferencia numérica entre ellos y muestran diferencia significativa frente al resto de tratamiento. Del mismo modo el T2, T3, T9 y T11, son iguales estadísticamente, con diferencia numérica entre ellos y muestran diferencia significativa frente al resto de tratamiento. La figura nos indica también que el T1 y T5 no fueron superiores a los controles T12 y T13, ya que tienen diferencias numéricas, pero no muestran diferencia significativa frente a estos controles; sólo frente al control T14, quien obtuvo el menor valor que fue ($46,35\text{cm}^2$).

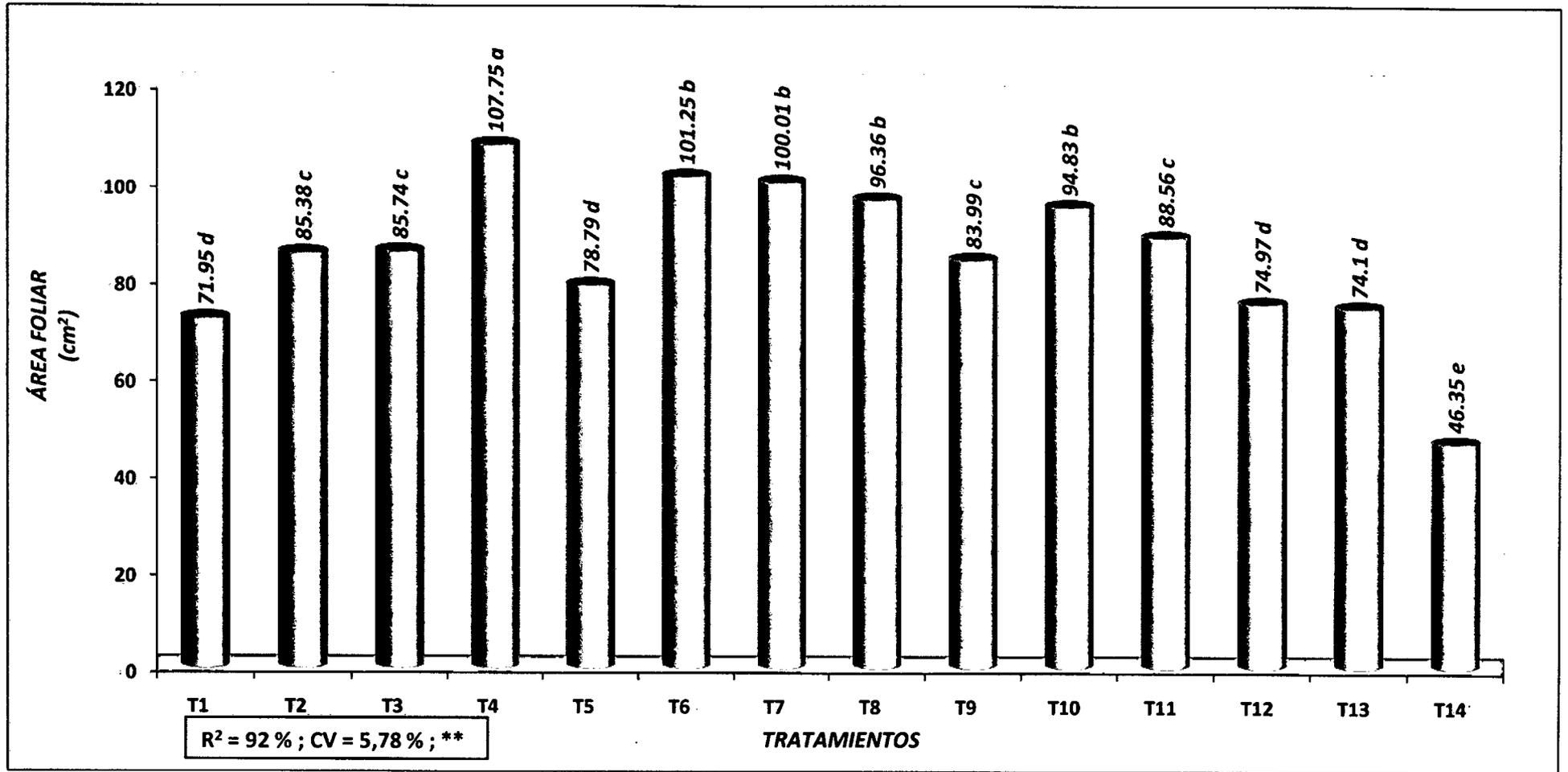


Figura 11. Área foliar de plántulas de cacao. Inoculadas con cepas de *Trichoderma* sp Endófitos. Letras distintas indican diferencias significativas. Scott & knott ($p \leq 0,05$).



5.1.1.4. Número total de hojas

En la figura 12, el ANVA, nos muestra, una alta significancia entre tratamientos, con un R^2 de 78% y un CV de 2,21 % lo cual se encuentra dentro del rango permisible, (Rojas, M. 1991). Muestra la diferencia entre tratamientos, siendo el T2 el que alcanzó el mayor número de hojas (19,86), siendo superior y mostrando diferencia significativa frente a todos los tratamientos. Asimismo El T6, T8, T10, T11, tienen diferencias numéricas, pero sin diferencia significativa frente a los controles T12 y T13; siendo superiores estadísticamente al T1, T3, T4, T5, T7 y T9, sin embargo estos tratamientos muestran diferencia significativa frente al control T14, quien obtuvo el menor número de hojas, con un total de (13,57).

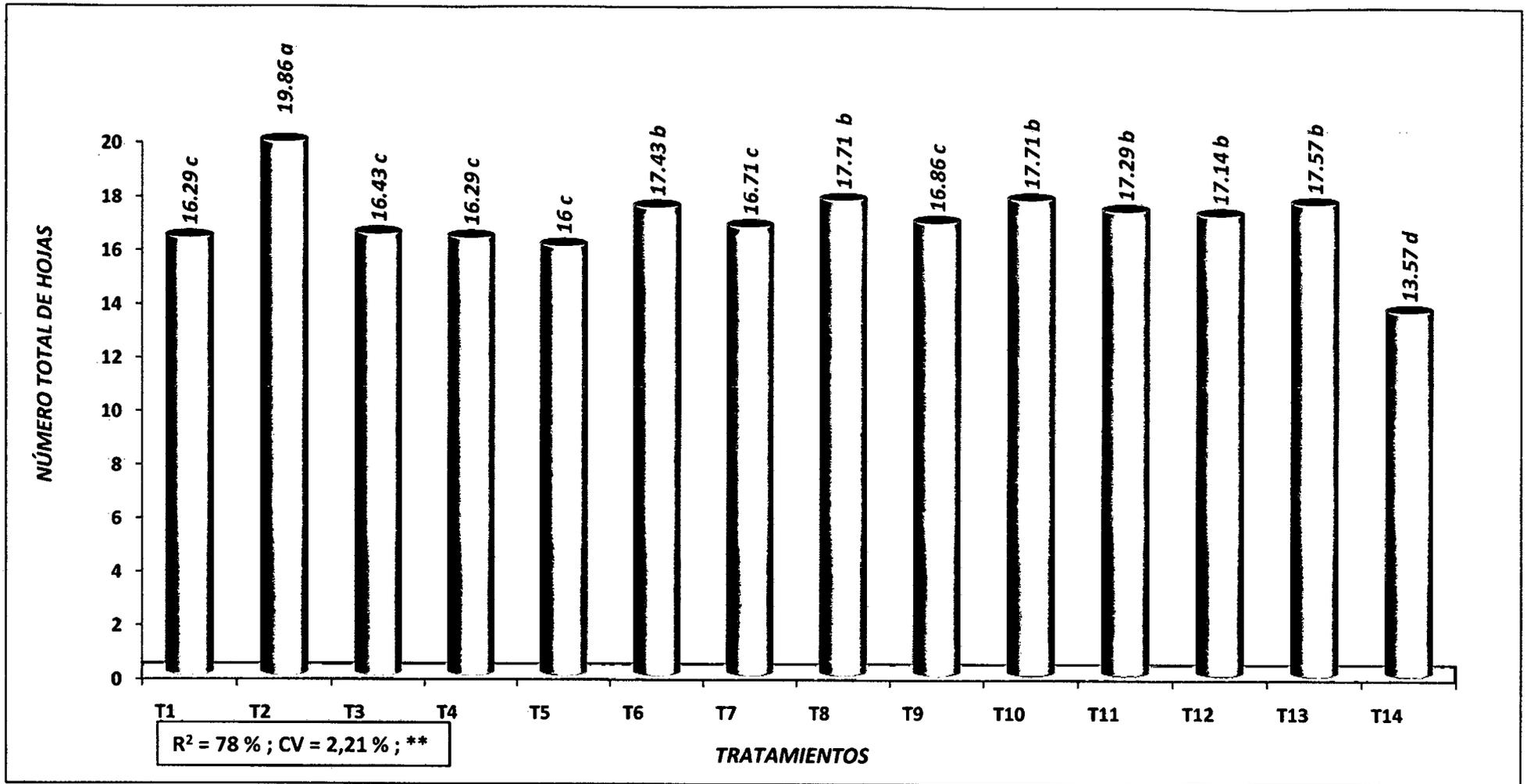


Figura 12. Número total de hojas en plántulas de cacao. Inoculadas con cepas de *Trichoderma* sp Endófitas. Letras distintas indican diferencias significativas. Scott & Knott ($p \leq 0,05$).

5.1.1.5. Longitud radicular

En la figura 13, el ANVA, nos muestra, una alta significancia entre tratamientos, con un R^2 de 94% y un CV de 3,47 % lo cual se encuentra dentro del rango permisible, (Rojas, M. 1991). Nos muestra la diferencia entre tratamientos, siendo el T4, el que alcanzo la mayor longitud radicular (197,11 cm), superando y mostrando diferencia significativa frente a los demás tratamientos y controles. Indica que, el T10 y el control T13, son iguales estadísticamente, con diferencia numérica entre ellos, mostrando superioridad frente a los demás tratamientos. De igual modo el T2 y el T5, son diferentes numéricamente, pero estadísticamente iguales al control T12; siendo superiores al T1, T7, T9 y control T14 quienes son iguales estadísticamente, pero con diferencias numéricas. Asimismo esta figura nos muestra que el T8, fue quien obtuvo el menor valor en longitud radicular, que fue de (117,4 cm).

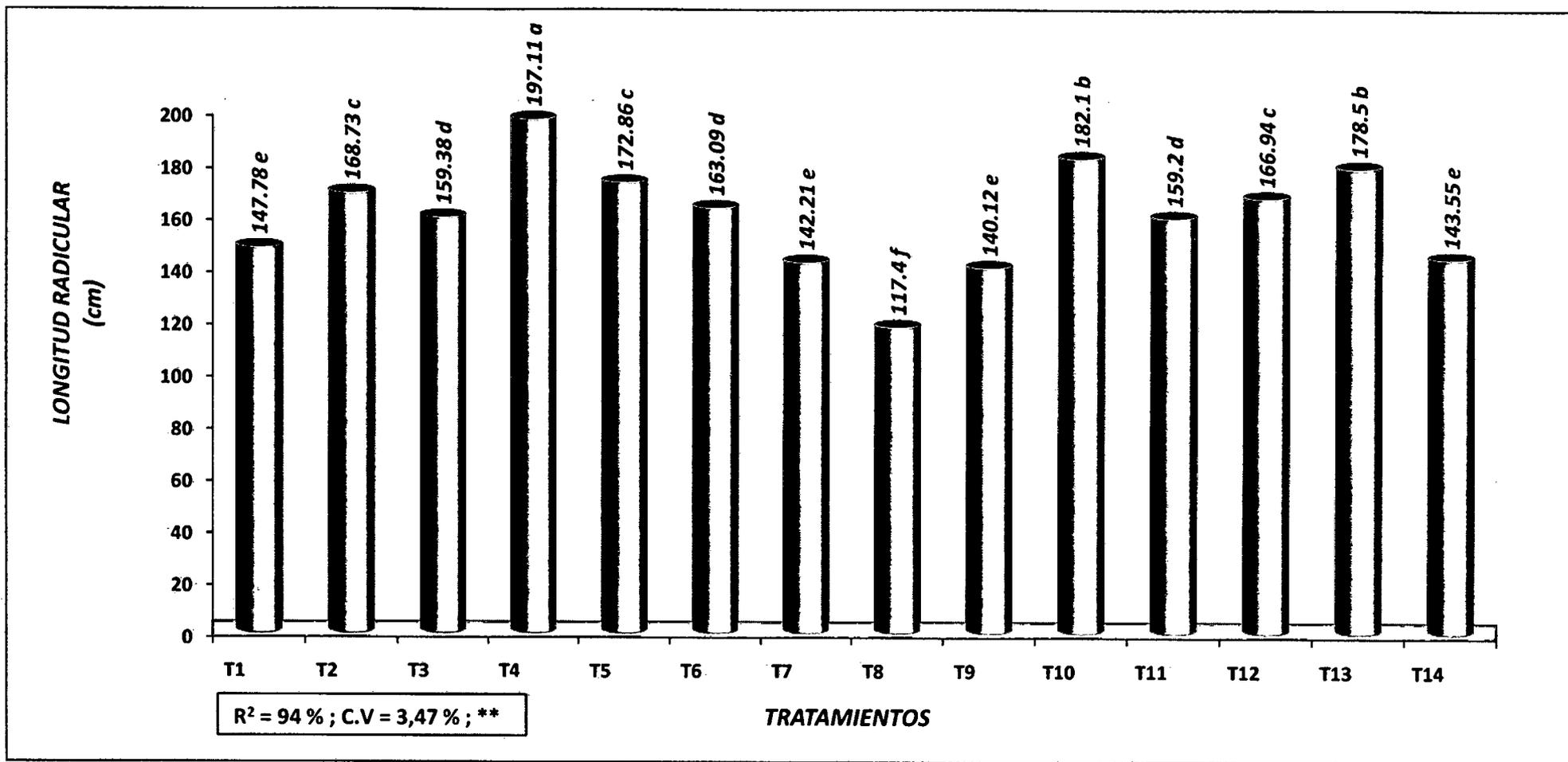


Figura 13. Longitud radicular en plantones de cacao. Inoculados con cepas de *Trichoderma* sp Endófitos. Letras distintas indican diferencias significativas.

Scott & knott ($p \leq 0,05$).

5.1.1.6. Biomasa

En la figura 14, el ANVA, nos muestra, una alta significancia entre tratamientos, con un R^2 de 92% y un CV de 5,46 % lo cual se encuentra dentro del rango permisible, (Rojas, M. 1991). Nos muestra la diferencia entre tratamientos, siendo el T2 quien presento mayor biomasa (26,88 g), mostrando diferencia numérica pero no diferencia significativa frente a los controles T12 y T13; estos tratamientos muestran ser superiores frente a los demás tratamientos establecidos. Del mismo modo El T7 y T11, muestran diferencia significativa frente a los demás tratamientos, considerando que el T1, T3, T4, T8 y T10 no muestran diferencia significativa entre ellos, siendo inferiores a los controles T12 y T13, pero superiores al control T14, quien obtuvo el menor valor en biomasa, igual a (12g).

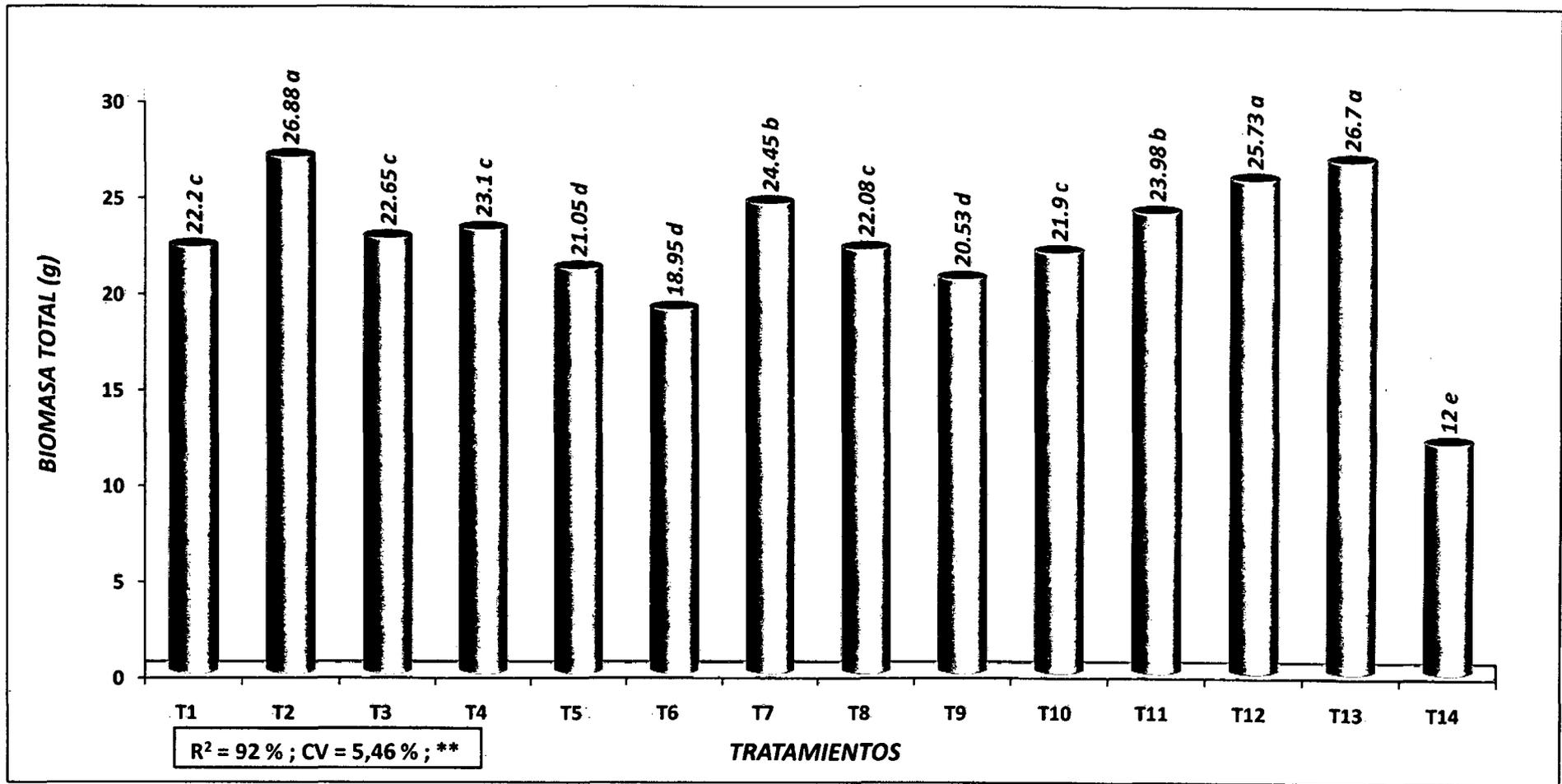


Figura 14. Biomasa total en plántones de cacao. Inoculados con cepas de *Trichoderma* sp Endófitos. Letras distintas indican diferencias significativas. Scott & knott ($p \leq 0,05$).

5.1.2. Nutrición

5.1.2.1. Nitrógeno en el suelo

Según el reporte inicial y final del análisis de suelo (Figura 22 y Figura 24), se muestra en la (Figura 15), un ligero incremento del % de nitrógeno en el T9, seguido de los tratamientos T1, T4, T8 y T10.

Asimismo se denota un ligero decrecimiento del porcentaje de nitrógeno en el T5, T6 y T11. Siendo el T13 el que muestra el mayor decrecimiento de nitrógeno. Con respecto al T2, T3, T7 y el control T12, mantuvieron los mismos porcentajes iniciales de nitrógeno.

En cuanto al control T14, se muestra un ligero decrecimiento del porcentaje de nitrógeno.

5.1.2.2. Nitrógeno en tejido vegetal

Según el análisis nutricional de tejido vegetal, el cual se realizó, cuando los plántones tenían 120 días de edad (Figura 26), se muestra en la (Figura 16), que el T5, tiene mayor contenido de nitrógeno (2,46%), seguido del control T13 y el T7. Asimismo indica que el control T12, supera en contenido de nitrógeno al T1, T2, T3, T4, T8, T9, T10 y T11, siendo el T6, quien tiene menor contenido de nitrógeno (2,14 %) al igual que el control T14, cuyo suelo no contenía materia orgánica.

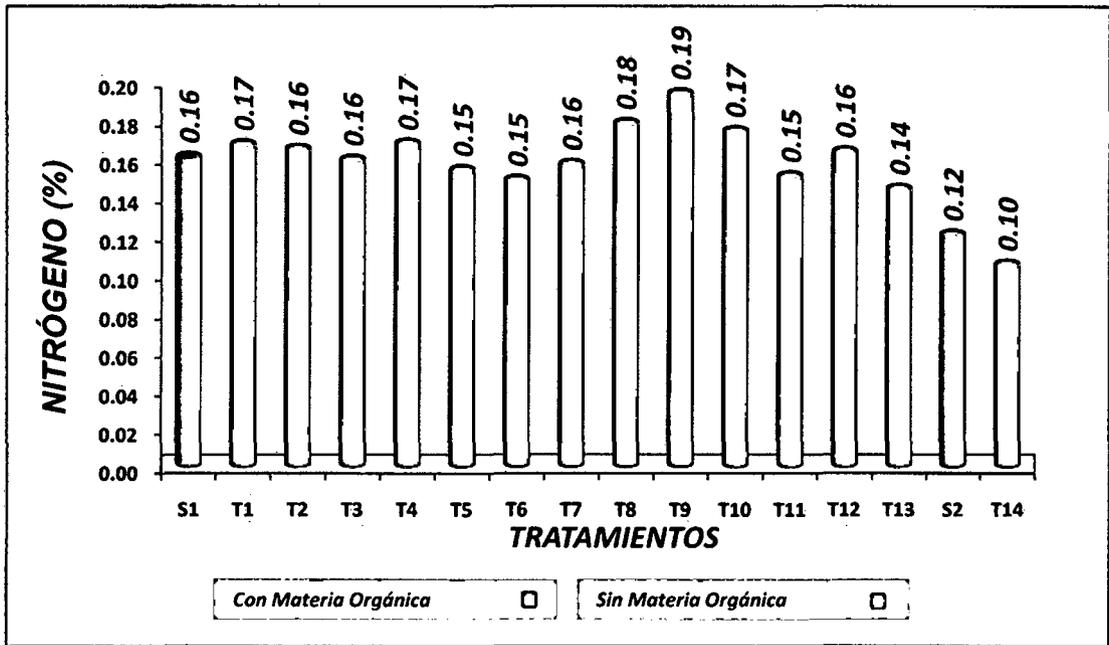


Figura 15: Contenido de Nitrógeno en el Suelo

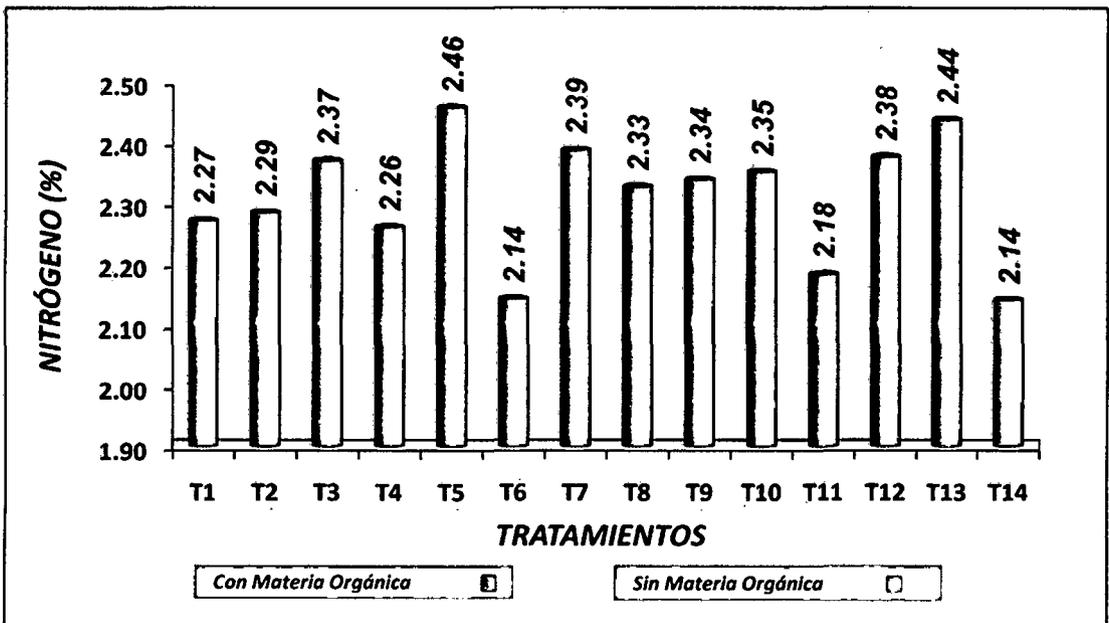


Figura 16: Contenido de Nitrógeno en Plantes de Cacao

5.1.2.3. Fósforo en el suelo

Según el reporte inicial y final de análisis de suelo (Figura 22 y Figura 24), se muestra en la (Figura 17), un decrecimiento del elemento fósforo en todos los tratamientos y controles T12 y T13, siendo el T7 y el control T12, quienes presentan un menor decrecimiento en comparación de los demás tratamientos, asimismo el T4 y el T5, presentan el mayor decrecimiento de este elemento, seguidos del control T13.

En cuanto al control T14, se denota también un decrecimiento del elemento fósforo.

5.1.2.4. Fósforo en tejido vegetal

Según el reporte nutricional de tejido vegetal (Figura 26), se muestra en la (Figura 18), que el T1, presenta mayor porcentaje de fósforo (0,42%), seguido del T4; nos muestra también que el control T12, muestra mayor contenido de fósforo, en comparación al T5, T6, T7, T8, T9, T10, T13 y T11. Indica que el control T12, no superó al T2 y al T3. Con respecto al control T14, obtuvo (0,23%). Lo que nos indicaría que la materia orgánica y el uso de cepas de *Trichoderma* sp estaría siendo beneficiosa para los plantones en cuanto al contenido de fósforo.

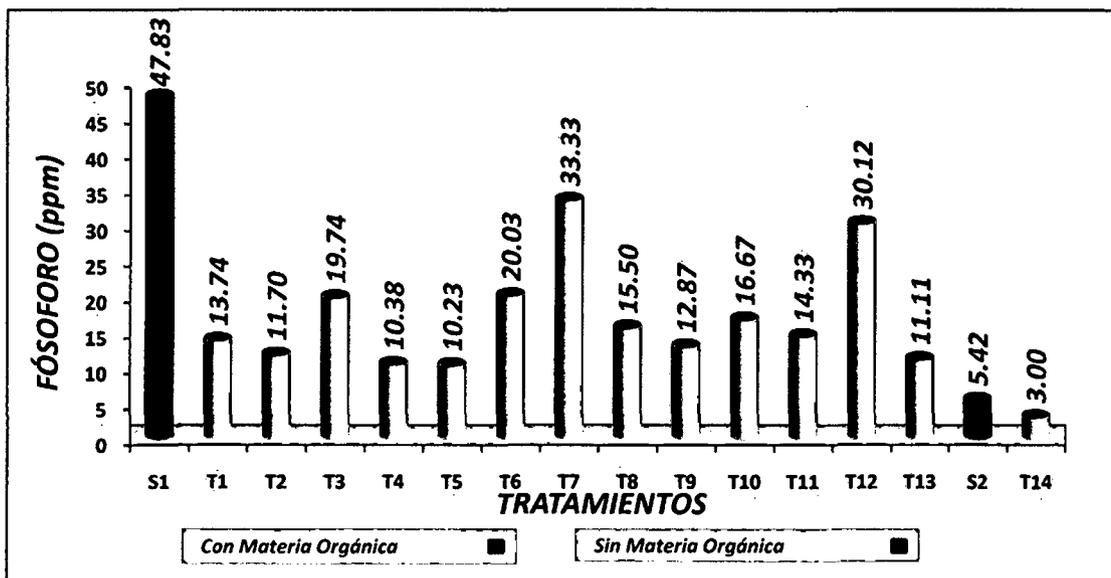


Figura 17: Contenido de Fósforo en el suelo

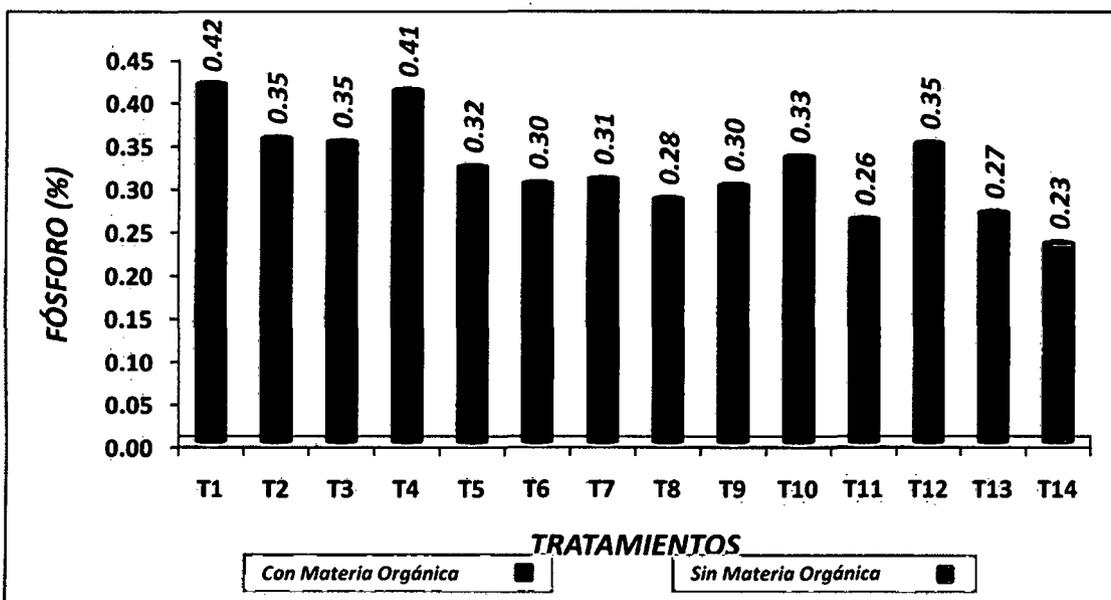


Figura 18: Contenido de Fósforo en Plantones de Cacao

5.1.2.5. Potasio en el suelo

Según el reporte inicial y final de análisis de suelo (Figura 22 y Figura 24), se muestra en la (Figura 19), un decrecimiento del elemento potasio en todos los tratamientos y controles T12 y T13, siendo el control T13, el que presenta el mayor decrecimiento de potasio.

En cuanto al control T14, se denota un decrecimiento notable del elemento potasio.

5.1.2.6. Potasio en tejido vegetal

Según el reporte nutricional de tejido vegetal (Figura 26), se muestra en la (Figura 20), que el T1, presenta mayor porcentaje de potasio (2,34%), seguido del T10 y T8, siendo superiores a los demás tratamientos y controles; asimismo el control T13 muestra mayor contenido de potasio, en comparación al T2, T3, T4, T5, T6, T9 y T11. Pero estos tratamientos superaron al control T12. Respecto al control T14, obtuvo el menor valor (1,47%). Lo que nos indicaría que la materia orgánica y el uso de cepas de *Trichoderma* sp estaría siendo beneficiosa para los plántones en cuanto al contenido de potasio.

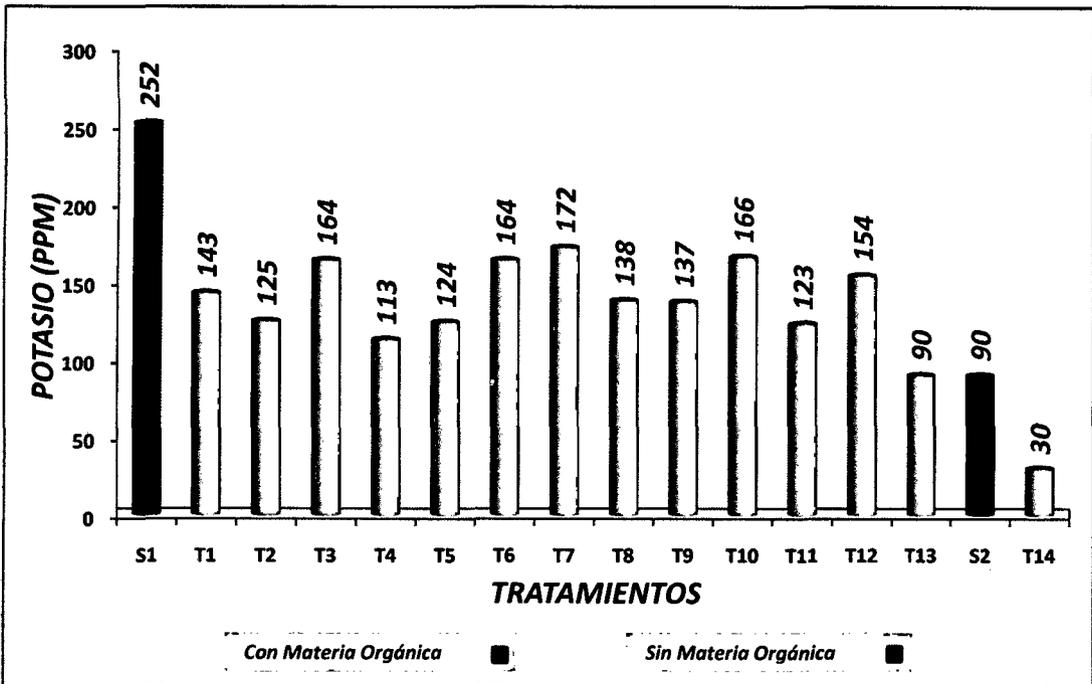


Figura 19: Contenido de Potasio en el Suelo

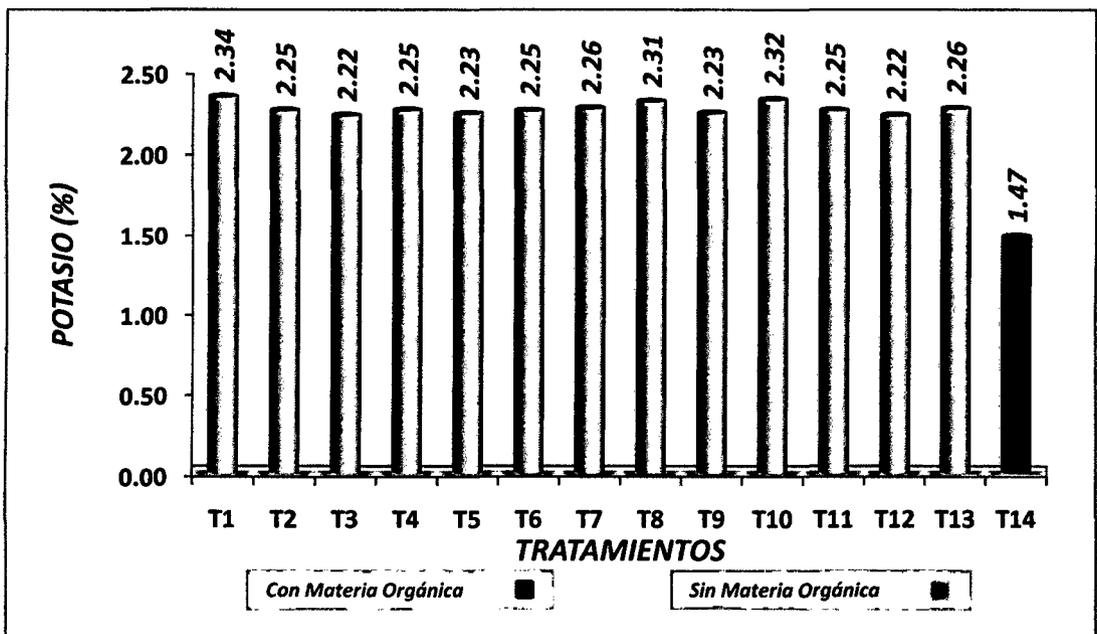


Figura 20: Contenido de Potasio en Plantones de Cacao

5.1.3. Resistencia foliar

En la (Figura 21), el ANVA, nos muestra, una alta significancia entre tratamientos, con un R^2 de 97% y un CV de 6,73 %, lo cual se encuentra dentro de los parámetros permisibles (Rojas, M. 1991); asimismo nos muestra la diferencia significativa entre tratamientos, siendo el T4, el que presenta un menor promedio de intensidad de daño foliar (0,64DS), lo cual nos indica una mayor resistencia foliar al ataque de *Phytophthora palmivora*, el mismo que fue superior y presentando diferencia significativa frente a los demás tratamientos y controles. Nos indica también que el T6 y el T10 no muestran diferencia significativa entre ellos, pero si frente a los demás tratamientos y controles. Del mismo modo el T5, T7, T8, T9 y el T11, no muestran diferencias significativas entre ellos, pero, fueron superiores a los controles establecidos. Asimismo El T2 el T3, son iguales estadísticamente, pero numéricamente diferentes, superaron a los controles. Siendo el T1, quien mostro diferencia numérica pero sin diferencia significativa frente al control T12, sin embargo fue superior al control T14, y al control T13, quien obtuvo el mayor grado de intensidad de daño (2,58 DS). Lo cual es un indicador que las cepas de *Trichoderma* usadas en esta prueba están aportando resistencia foliar al ataque de *Phytophthora palmivora*.

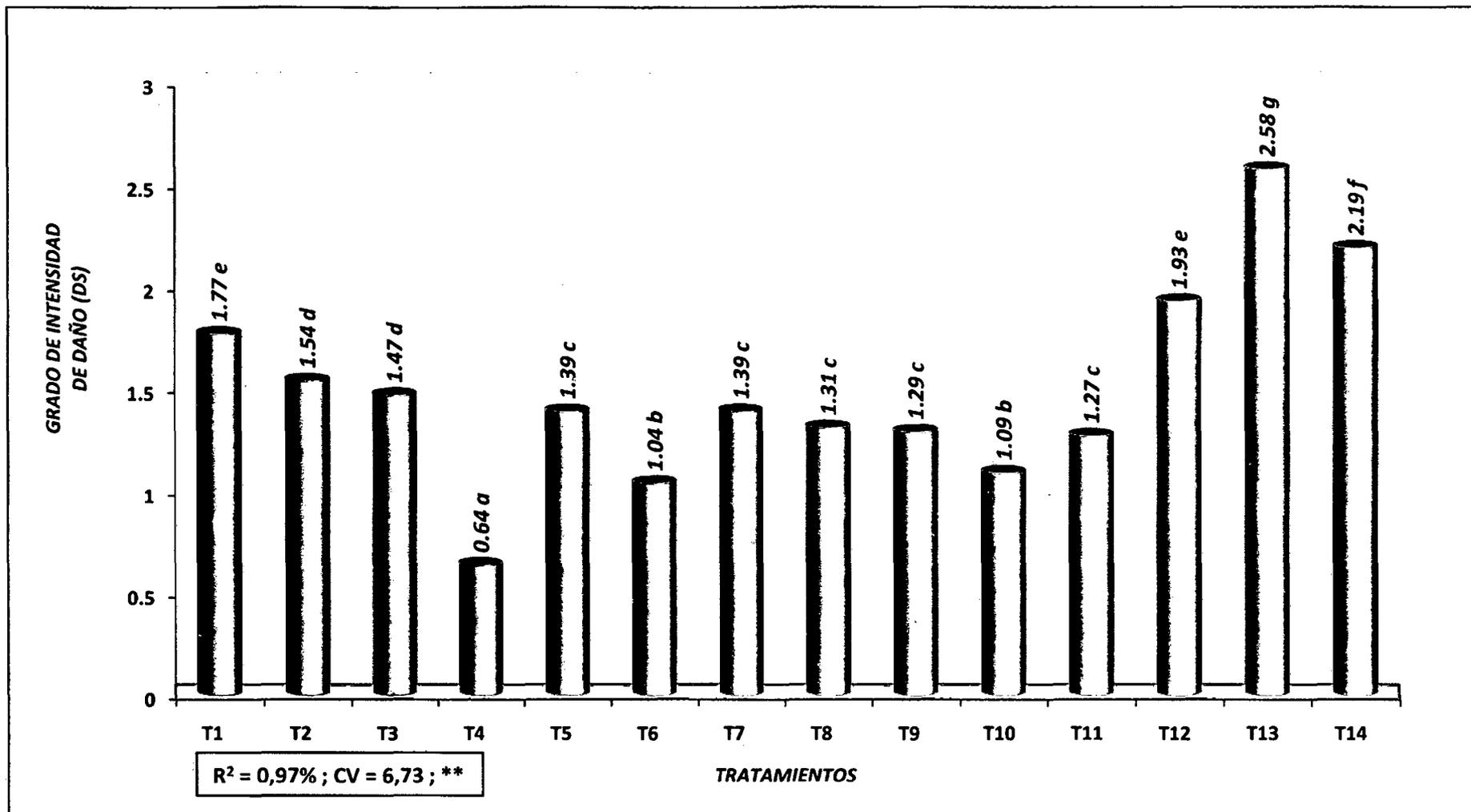


Figura 21. Intensidad de daño foliar en discos de hojas de plantones de cacao. Inoculados con cepas de *Trichoderma* sp Endófitos. Letras distintas indican diferencias significativas. Scott & knott ($p \leq 0,05$).

5.2. Discusiones

5.2.1. Crecimiento

Los resultados obtenidos en el estudio muestran que los hongos endófitos *Trichoderma* influyen y promueven el crecimiento y desarrollo vegetativo de plántulas de cacao, efectos causados por la capacidad del hongo de colonizar y crecer en asociación con las raíces (Harman *et al.*, 2004) otorgándole un incremento en la resistencia a varios patógenos, por la producción de antibióticos y metabolitos secundarios que actúan activando los sistemas de defensa ante condiciones adversas bióticas y abióticas (Caballero, 2011). Estos resultados son similares a los reportados en *Lactuca sativa*, *Lycopersicon esculentum* y *Capsicum annum*, que al ser inoculadas con *Trichoderma harzianum* T22 y *Trichoderma atroviride* P1 muestran un incremento en el crecimiento vegetativo (Vinale *et al.*, 2008).

El tratamiento 4 fue el que permitió obtener estadísticamente plantas con mayor altura, mayor diámetro de tallo, mayor área foliar y mayor longitud radicular, indicando que la cepa de *Trichoderma* sp endófito TE-126 influye en el crecimiento y desarrollo equilibrado de los plántulas de cacao. Asimismo el aislamiento endofítico T-22 estadísticamente presentó plantas similares al T4, en la variable, diámetro de tallo, siendo superior en número total de hojas y mayor biomasa, pero presentó menor resistencia foliar al ataque de *Phytophthora palmivora*. Los resultados han sido favorecidos por el establecimiento y colonización de los *Trichoderma* sp, en las raíces ya que promueven el crecimiento radical, desarrollo de

follaje y disponibilidad de nutrientes, vital para aumentar la resistencia a las enfermedades y mejorar la producción (Harman *et al.*, 2004).

El tratamiento control T14 presentó el menor valor en la mayoría de variables evaluadas y es estadísticamente inferior frente al resto de los tratamientos, confirmando la influencia positiva de *Trichoderma* sp sobre el crecimiento de plántones de cacao.

Se puede corroborar los resultados obtenidos, también con otros autores que mencionan que el aumento de peso seco de la raíz, follaje y el desarrollo radicular por *Trichoderma* es debido a que acelera el desarrollo de los tejidos meristemáticos primarios, los cuales aumentan el volumen, la altura y el peso de la planta (Cupull *et al.*, 2003). Además las especies de *Trichoderma* spp producen ácido glucónico, cítrico y fumárico que disminuyen el pH del suelo y permiten la solubilización de fosfatos, micronutrientes, hierro, magnesio y manganeso, útiles para los metabolitos de la planta (Caballero, 2011). Windham *et al.*, (1986) reportan que a las 8 semanas después de la plantación de tomate y tabaco tratadas con *Trichoderma* spp se observó incrementos en el peso seco de la raíz y follaje. Asimismo, Gonzales *et al.*, (1999) observaron la influencia de *Trichoderma harzianum* sobre el crecimiento vegetativo e incrementos de masa fresca, altura y diámetro de planta en tomate.

5.2.2. Nutrición

En los reportes de los análisis nutricionales de suelo y tejido vegetal, se puede apreciar la colonización en los tratamientos con cepas de *Trichoderma* sp endófito, lo cual se puede apreciar comparándolos con el control T14, cuyo sustrato no contenía materia orgánica, puesto 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 (Harman *et al.*, 2004; Vinale *et al.*, 2008), ya que *Trichoderma* es capaz de degradar sustratos muy complejos tales como almidón, pectina y celulosa entre otros, y emplearlos como fuente de carbono para su crecimiento gracias a la variada maquinaria enzimática que posee, aunque puede emplear también ácidos orgánicos y monosacáridos como fuente de carbono; Asimismo, *Trichoderma* asimila como fuente de nitrógeno compuestos tales como aminoácidos, urea, nitritos, amoniaco y sulfato de amonio (Moore, 1996). En los resultados se aprecia que en el T6, no existió una eficiente asimilación de nitrógeno, en cambio en el T5, y el control T13, muestran una eficiente asimilación de nitrógeno en el tejido vegetal, siendo los más susceptibles al daño foliar ocasionado por *Phytophthora palmivora* L. lo que nos indicaría que probablemente a mayores cantidades de nitrógeno en tejido vegetal, las plantas son más vulnerables al ataque de *Phytophthora palmivora* L.

En cuanto al contenido de fósforo, se puede apreciar que existe un decrecimiento del nivel de fósforo en todos los tratamientos, debido a que

durante la simbiosis, la planta hospedera recibe nutrientes minerales del suelo tomados por el hongo (principalmente fósforo), mientras que éste obtiene compuestos de carbono derivados de la fotosíntesis (Brundrett *et al.*, 1996), siendo el T4, el que muestra mayor contenido de fósforo en tejido vegetal y una eficiente asimilación de este elemento; lo cual se refleja en los resultados de longitud radicular, porque *Trichoderma* produce cambio en la composición de la micro-flora en la raíz, además mejora la absorción de nutrientes, mejora solubilidad de los nutrientes del suelo, mejora crecimiento radicular, Incrementa la formación de pelos absorbentes, mejora la profundización de raíz. (Harman, 2007).

En cuanto a los niveles de potasio, se muestra un decrecimiento del nivel de potasio en todos los tratamientos con cepas de *Trichoderma* sp endófito, siendo el T4, el que muestra una eficiente asimilación de este elemento. Los resultados obtenidos, nos indican que el T4, estaría mostrando el adecuado equilibrio nutricional que un plantón necesita para que este sea resistente al ataque de *Phytophthora palmivora* L.

5.2.3. Resistencia foliar

Los resultados muestran que las cepas de *Trichoderma* sp endófito usadas en este estudio, así como las combinaciones de los mismos, superan a los controles establecidos, dichos *Trichoderma* están aportando resistencia frente al ataque de *Phytophthora palmivora* L, siendo el T.E.-126, el que obtuvo menor grado de daño foliar según la escala establecida por Nyassé et al., 1995, ya que las plantas se benefician ampliamente por la protección de estos organismos endofíticos, promoviendo el crecimiento de la planta (Compant et al., 2005) y otorgando un incremento en la resistencia a varios patógenos, por la producción de varios antibióticos y metabolitos secundarios, debido a que hay presencia de hongos endofíticos mutualistas que actúan como detonantes biológicos para activar los sistemas de defensa ante condiciones adversas bióticas y/o abióticas (Bandara et al., 2006; Shi et al., 2009). Se ha encontrado que cepas específicas del hongo del género *Trichoderma* sp endófito pueden colonizar y penetrar los tejidos de las raíces de las plantas, e inician una serie de cambios morfológicos y bioquímicos en las plantas, lo cual conlleva a la resistencia sistemática inducida de la planta (ISR), (Fonseca, 1998) y Dentro de las propiedades benéficas que se atribuyen a *Trichoderma* son el Control de patógenos en raíz y hojas (Induce a la resistencia, Control biológico por ataque directo a enfermedades fúngicas de las plantas como antagonismo). (Harman, 2007).

VI. CONCLUSIONES

- De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que: el Tratamiento 4, correspondiente a la cepa T.E.-126, influyó de manera positiva en el crecimiento y desarrollo vegetativo de los plántones de cacao en invernadero, ya que esta cepa tuvo un comportamiento como promotor del crecimiento y desarrollo vegetativo, mostrando resultados favorables en la mayoría de los parámetros biométricos evaluados.
- El presente estudio de investigación, muestra que el Tratamiento N° 4 (T.E.-126), influye satisfactoriamente en el contenido nutricional de los plántones de cacao en invernadero, lo cual está reflejado en la resistencia foliar a *Phytophthora palmivora*.
- El Tratamiento N° 4 (T.E.-126), muestra mayor resistencia foliar a *Phytophthora palmivora* L, siendo superior a todos los tratamientos establecidos, lo cual nos confirma que el T.E.-126, influye en el aporte de resistencia de patógenos.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios acerca de la extracción de nutrientes de plántones de cacao en invernadero, usando cepas de *Trichoderma* sp la cual servirá para validar el presente trabajo de investigación.
- Desarrollar estudios de investigación, para determinar la influencia de cepas de *Trichoderma* y su relación con distintos tipos de sustratos y contribuir también a la validación de este trabajo de investigación.
- Identificar la especie de la cepa T.E.-126, y realizar futuros trabajos de investigación en base a la resistencia de patógenos.
- Realizar estudios de investigación en plantaciones de cacao, a nivel de campo, usando cepas de *Trichoderma* sp y comparar resultados con este trabajo de investigación.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Aguirre, J.; Mendoza, A.; Cadena; J.; y. Avendan, C. 2007. Efecto de la biofertilización en vivero del cacao (*theobroma cacao* L) con *azospirillum brasilense* tarrand, *kriegerDöbereiner* y *glomus intraradices* smith. , Interciencia. Vol. 32 N° 8. 6PP: 541-546.
2. Alexopoulos, C.; Mims, C.; Blackwell, M. 1996. Introductory Mycology. Fourth edition. Editorial Willey. New York. 237 p.
3. APPCACAO (Asociación Peruana De Productores De Cacao). 2009 Consultado el 01 junio, 2010. Disponible en http://appcacao.org/index.php?option=com_content&task=view&id=431&Itemid=39/:
4. Attard A, Gourgues M, Galiana E, Panabières F, Ponchet M, Keller H. 2008. Strategies of attack and defense in plant-oomycete interactions, accentuated for *Phytophthora parasitica* Dastur (syn. *P. nicotianae* Breda da Haan). *Journal of Plant Physiology* 165:83-94.
5. Astudillo, M. C.; Blanco, B. 1999. Establecimiento de los parámetros semi-industrial del hongo *T. harzianum*, utilizado en control biológico. Tesis de pregrado. Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Pp. 7-11, 14, 20.

6. Bandara, W.; Seneviratne, G.; Kulasooriya, S. A. 2006. International among endophytic bacteria and fungi: effect and potentials. *J. Biosci* 31:645-650.
7. Bailey, B.A.; Bae, H.; Stream, M.D.; Crozier, J.; Thomas, S.E.; Samuels, S.J.; Vinyard, B.T.; Holmes; K.A. 2008. Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological control* 46 (2008): 24-35.
8. Bastos, C. N. 1996. Potential de *Trichoderma viride* no controle da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso*) do cacauero. *Fitopatologia Brasileira* 21, 509–512.
9. Basurto, S. M.; Núñez, B. A.; Pérez, L. R. R.; Hernández, R. O. A. 2008. "Fisiología del estrés ambiental en las plantas". Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua - México. *Synthesis - Aventuras del pensamiento*, oct.-nov. 2008:1-5
10. Bjorkman, T., Harman G. E. and Blanchard L. 1995. Root development in sweet-corn inoculated with the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. *HortScience* 30(4): 810 (Abstr.)

11. Blanchard, L. and Bjorkman, T. 1996. The role of auxin in enhanced root growth of *Trichoderma*-colonized sweet corn. *HortScience*31:688 -700.
12. Berry D, Cilas C. 1994. Etude g n tque de la réaction   la pourriture brune des cabosses de cacao yersissus d'un plan de croisement diall le. *Agronomie*14:599-609.
13. Brundrett M, Bougher N, Dell B, Grove T, Malajczuc N. 1996. Working with Micorrizas in Forestry and Agriculture. ACIAR Monograph. Camberra.
14. Caballero, E.J. 2011. Uso de hongos endofíticos de *Trichoderma* spp., para el control del Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f. sp. cubenze) raza tropical 1 en vitroplantas del cultivar Gros Michel (AAA). Tesis sometida para obtener el grado de Magister Scientiae en Agricultura Ecológica. CATIE. Costa Rica. 104 pp.
15. Cabrera, R. y Tejera, R. 2002. Evaluación de diferentes dosis de fertilización en la producción de plantines de *Eucalyptus grandis* w. Hill ex Maiden creciendo en sustrato colonizado por *Trichoderma harzianum*. Tesis. Facultad de Agronomía. Universidad de la Republica. 5pp.
16. Carroll, G.; Petrini, O. 1983. Patterns of substrate utilization by some fungal endophytes from coniferous foliage. *Mycology* 75(1):53-63.
17. Carroll, G. 1988. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. *Ecology* 69(1):2-9.

18. CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CR). 2008. Enfermedades del Cacao (diapositivas). Turrialba, CR. 109 diapositivas, color.
19. Chang, Y. C.; Baker, R.; Kleifeld, O.; Chet, I. 1986. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. *Plant Dis.*, 70: 145-148.
20. Compant, S.; Reiter, B.; Sessitsch, A.; Nowak, J.; Clément, C. 2005. Endophytic colonization of *Vitisvinifera*L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderiasp.* Strain Ps JN. *Applied and Environmental Microbiology* 71(4):1685-1693.
21. Cruz, M. y Lina. 2007. Estandarización del proceso de producción masiva del hongo *Trichoderma koningii* Th003, Mediante fermentación Bifásica a escala piloto. *Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Bogotá, D.C.* 123 p.
22. Cupull, S.R.; Andréu, R.C.; Pérez, N.C.; Delgado, P.Y. and Cupull, M.C. 2003. Efecto de *Trichoderma viride* como estimulante de la germinación, en el desarrollo de posturas de cafetos y el control de *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Centro Agrícola*, Año 30, no. 1.

23. Domsch, K.; Anderson, W.; Yersoon, T. H. 1980. Compendium of soil fungi. Revision of the genus *Trichoderma*. Academic Press, London. 136:794-810.
24. Efombagn M, Marelli J, Ducamp M, Cilas C, Nyassé S, Vefonfe D. 2004. Effect of fruiting traits in the field resistance of cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones to *Phytophthora megakarya* Journal of Phytopathology 152:557-562
25. Enríquez, G. A. 1966. Selección y estudio de las características de la flor, la hoja y lamazorca, útiles para la identificación y descripción de cultivares de cacao. TesisMag.Sc. Turrialba, CR, IICA. 97 p.
26. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT),2004. El futuro de la agricultura depende de la biodiversidad (en línea).Consultado 14 Jul. 2006. Disponible en <http://www.fao.org/newsroom/es/focus/2004/51102/index.html>
27. Fonseca, A. 1998. Estudio preliminar sobre la dinámica poblacional del bio-controlador *Trichoderma spp.* En el suelo. Tesis de pregrado. Bacteriología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad javeriana, Bogotá-Colombia. p. 29-32.

28. French, E. R.; Herbert, T. T. 1982. Métodos de Investigación fitopatológica. 1ª ed., 1ª reimpression Editorial Texto Ltda. – San José, Costa Rica: IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). 290 p.
29. Gonzales, C.H.; Rodríguez, L.; Arjona, C. Puertas, A. y Fonseca, M. 1999. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* R. sobre la composición cuantitativa de bacterias, hongos y actinomicetos de la rizosfera de solanáceas y su influencia en el crecimiento vegetativo. Invest. Agr.: Prod. Veg. 14 (1-2) 297-306.
30. Guest D. 2007. Black pod: diverse pathogens with a global impact on cocoa yield. *Phytopathology* 97:1650-1653.
31. Harman, G. and Chet, I. K. 1981. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seed of bio-control agent. *Phytopathology* 71: 579-582.
32. Harman, G. E.; Howell, C. R.; Viterbo, A.; Chet, I.; Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Review Microbiology* 2:43-56.
33. Harman, G. E., and Shores, M. 2007. The mechanisms and applications of symbiotic opportunistic plant symbionts. Pages 131-155 in: *Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management*. M. Vurro and J. Gressel, eds. Springer, Amsterdam.

34. Hata, K.; Atari, R.; Sone, K. 2002. Isolation of endophytic fungi from leaves of *Pasania edulis* and their within-leaf distributions. *Mycoscience* 43:369-373.
35. Herrera, P. 2011. Cacao: Alimento de Inclusión Social. *El peruano*. Lima, Perú. Sep. 02. Disponible en <http://www.elperuano.pe/Edicion/noticia.aspx?key=Ji0eCkFr4cs> Consultado 28 ene. 2012.
36. Holmes, K.; Schroers, H.; Thomas, S.; Evans, H.; Samuels, G., 2004. Taxonomy and biocontrol potential of a new species of *Trichoderma* from the Amazon basin in South America. *Mycological Progress* 3:199–210.
37. ICCO (The International Cocoa Organization).2005. Boletín trimestral de estadística del cacao. Volumen XXXI, N° 3 Año cacaotero. 2004-05.
38. Iwaro A, Screenivasan T, Umaharan P. 1999. *Phytophthora* resistance in Cacao (*Theobroma cacao*): Influence of pod morphological characteristics. *PlantPathology* 46:557-565.
39. Jaimes, Y.; Aranzazu, F. 2010. Manejo de las enfermedades del Cacao (*Theobroma Cacao* L) en Colombia, con énfasis en *Monilia* (*Moniliophthoraroreri*). Colombia. Corpoica. 2009. 90p.

40. Judelson H, Blanco F. 2005. The spores of *Phytophthora*: weapons of the plant destroyer. *Nature Reviews Microbiology* 3:47-58.
41. Kleifeld, O. and Chet, I. 1992. *Trichoderma harzianum*. Interaction with plants and effect on growth response. *Plant and soil* 144:267-272.
42. Lanuad, C.; Motamayor, J. C.; Resterucci, A.M. 2000. Implications of New Insight into the Genetic Structure of *Theobroma cacao* L. for Breeding Strategies. In Proceedings of the International Workshop on new Technologies and Cocoa Breeding. Ingenic. Kota Kinabalu, Malaysia. 16-17 October 2000. p 89-107.
43. Lawrence, J.S., 1978. Evaluation of methods for assessing resistance to cacao cultivars, and hybrids to *P. palmivora*. Bol Tec 62, CEPLAC, CEPIL, Itabuna, Brazil.
44. McMahon, P.; Purwantara, A. 2004. Diversity and management of cocoa in Asia: *Phytophthora* on cocoa. In Drenth, A.; Guest, D.I. eds. Diversity and management of *Phytophthora* in southeast Asia. Canberra, AU, ACIAR. p.104-115. (ACIAR, Monograph, 114)
45. MINAG y PROAMAZONÍA. 2004. Manual del cultivo de Cacao. Ministerio de Agricultura – Programa para el desarrollo de la Amazonía. Perú. 83 p.

46. Moore, E. 1996. *Fundamentals of the Fungi*. Fourth edition. Prentice Hall. New Jersey. 574 p.
47. Moya, A.; Castellano, G.; Rumbos, R.; Quevedo, H. 2005. Situación fitopatológica del cacao criollo en tres localidades del occidente Del País. Cartilla de divulgación 4. Maracaibo, VE, ene. – abr. 24p.
48. Nyasse, S., Cilas, C., He´ rail, C., Blaha, G., 1995. Leaf inoculation as an early screening test for cocoa (*Theobroma cacao* L.) resistance to *Phytophthora* black pod disease. *Crop Prot.* 14, 657–663.
49. (OIA, 2009). Oficina de Información Agraria. 2009. Plan de Acondicionamiento Territorial. Ministerio de Agricultura – Provincia San Martín. San Martín – Perú
50. Ousley, M.; Lynch, J. and Whipps, J. 1994. Potential of *Trichoderma spp.* as consistent plant growth stimulators. *Biol. Fertilization Soils* 17:85-90.
51. Ousley, M.; Lynch, J. and Whipps, J. 1994. The effects of addition of *Trichoderma* inocula on flowering and short growth of bedding plants. *Scientia Horticulturae* 59: 147- 155.
52. Papavizas, G. 1985. *Trichoderma* y *Gliocladium*. Biology, Ecology and potential for bio-control. *Annual Review of Phytopathology* 23: 23-54.

53. Pinzón, J.; Rojas, J.; Rojas, F. 2008. Guía técnica para el cultivo del Cacao. tercera edición. Bogotá, p. 26 – 28.
54. Pocasangre, L. E. 2000. Biological enhancement of banana tissue culture plantlets with endophytic fungi for the control of the burrowing nematode *Radopholus similis* and the Panama disease (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*). Ph.D. Thesis. University Bonn, DE. 95 p.
55. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. 20011. (SENASA) “Manual de producción y uso de hongos antagonistas”. Lima, Perú.
56. Shi, Y.; Lou, K.; Li, C. 2009. Promotion of plant growth by phytohormone producing endophytic microbes of sugar beet. *BiolFertil Soils*. 45:645-653.
57. Sikora, R. 1992. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for biological control of plant parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 30:245-270.
58. Vinale, F.; Sivasithamparam, K.; Ghisalberti, E. L.; Marra, R.; Woo, S. L.; Lorito, M. 2008. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Bioloy& Biochemistry* 40:1-10.

59. Wakelin, S. A.; Sivasithamparam, K.; Cole, A. L. J.; Skipp, R. A. 1999. Saprophytic growth in soil of a strain of *Trichoderma koningii*. New Zealand Journal of Agricultural research. Vol 42: 37-345.
60. Walker C, Van West P. 2007. Zoospore development in the oomycetes. Fungal Biology Reviews 21:10-18.
61. Wilson M. 1997. Biocontrol of aerial plant diseases in agriculture and horticulture: current approaches and future prospects. Journal of Industrial Microbiology&Biotechnology 19, 188–191.
62. Windham, M.; Elad, Y.; Baker, R. 1986. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. Phytopathol. 76, 518-521.

ANEXOS

Cuadro 03: Análisis de varianza de altura. Plantones inoculados con cepas de *Trichoderma* Endófito

F.V.	SC	GL	CM	F	P-VALOR
Modelo	647.99	13	49.85	20.06	<0.0001 **
TRAT.	647.99	13	49.85	20.06	<0.0001 **
Error	208.78	84	2.49		
Total	856.77	97			

CV= 3.82 % R²=76 %

Cuadro 04: Análisis de varianza de diámetro de tallo. Plantones de cacao inoculados con cepas de *Trichoderma* Endófito

F.V.	SC	GL	CM	F	P-VALOR
Modelo	6.47	13	0.5	2.74	0.0028 *
TRAT.	6.47	13	0.5	2.74	0.0028 *
Error	15.24	84	0.18		
Total	21.71	97			

CV= 7,51 % R²=30 %

Cuadro 05: Análisis de varianza del área foliar. Plantones inoculados con cepas de *Trichoderma* Endófito

F.V.	SC	GL	CM	F	P-VALOR
Modelo	22184.39	13	1706.49	70.75	<0.0001 **
TRAT.	22184.39	13	1706.49	70.75	<0.0001 **
Error	2026.12	84	24.12		
Total	24210.51	97			

CV= 5,78 % R²=92 %

Cuadro 06: Análisis de varianza del número de hojas. Plantones inoculados con cepas de *Trichoderma* Endófito

F.V.	SC	GL	CM	F	P-VALOR
Modelo	2.53	13	0.19	23.46	<0.0001 **
TRAT.	2.53	13	0.19	23.46	<0.0001 **
Error	0.7	84	0.01		
Total	3.22	97			

CV= 2,21 % R²=78 %

Cuadro 07: Análisis de varianza de la longitud radicular. Plantones inoculados con cepas de *Trichoderma* Endófito

F.V.	SC	GL	CM	F	P-VALOR
Modelo	21817.59	13	1678.28	54.65	<0.0001 **
TRAT.	21817.59	13	1678.28	54.65	<0.0001 **
Error	1289.75	42	30.71		
Total	23107.34	55			

CV= 3,47 % R²=94 %

Cuadro 08: Análisis de varianza de la biomasa. Plantones inoculados con cepas de *Trichoderma* Endófito.

F.V.	SC	GL	CM	F	P-VALOR
Modelo	729.83	13	56.14	37.9	<0.0001 **
TRAT.	729.83	13	56.14	37.9	<0.0001 **
Error	62.22	42	1.48		
Total	792.05	55			

CV= 5,46 % R²=92 %

Cuadro 09: Análisis de varianza de Resistencia foliar. Plantones inoculados con cepas de *Trichoderma* Endófito

F.V.	SC	GL	CM	F	P-VALOR
Modelo	12.72	13	0.98	97.09	<0.0001 **
TRAT.	12.72	13	0.98	97.09	<0.0001 **
Error	0.42	42	0.01		
Total	13.15	55			

CV= 6,73 % R²=97 %



INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES (ICT - NAS/CICAD-OEA)

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS, FERTILIZANTES Y ALIMENTOS

REPORTE DE ANÁLISIS DE SUELOS - CARACTERIZACION

Nº Solicitud : AS0062-13
 SOLICITANTE : Roger Aban H. Pichis Garcia
 PROCEDENCIA : San Antonio de Cumbaza-San Martín-San Martín
 Experm./cultivo actual: cacao

FECHA DE MUESTREO : 04/03/2013
 FECHA DE RECEP. LAB : 07/03/2013
 FECHA DE REPORTE : 20/03/2013

Número de la muestra				pH	C.E. dS/m	CaCO ₃ (%)	M.O. (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO			C.I.C. efectiva	C.I.C.	CATIONES CAMBIABLES					Suma de bases	% Sat. de bases	
Lab	Campo										Arena	Limo	Arcilla			CLASE TEXTURAL	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K	Na			Al ³⁺ +H ⁺
13	05	0132	1	5.49	0.51	0.00	3.53	0.16	47.83	252	74.40	7.28	18.32	Fra-Are	8.02		5.60	1.57	0.64	0.00	0.20	7.81	97.48
13	05	0133	2	4.96	0.06	0.00	2.60	0.12	5.42	90	70.40	5.28	24.32	Fra-Arc-Are	4.44		2.84	0.76	0.23	0.00	0.61	3.83	86.35

MÉTODOS :
 TEXTURA : HIDROMETRO
 pH : POTENCIOMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 1:2.5
 CONDUCT. ELÉCTRICA : CONDUCTIMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 1:2.5
 CARBONATOS : GAS - Volumétrico
 FOSFORO : OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO₃ =0.5M , pH 8.5 Esp. Vis
 POTASIO : OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO₃ 0.5M o Acetato de Amonio 1 N , pH 8.5 Esp. Absorción Atómica
 MATERIA ORGANICA : WALKLEY y BLACK y sobrelmite por gravimetría (>10%)
 CALCIO Y MAGNESO : EXTRACT. KCl 1N o Acetato de Amonio 1N Esp. Absorción Atómica
 ACIDES INTERC. : EXTRACT. KCl 1N. Volumétrica

Nota: el laboratorio no se responsabiliza por la metodología aplicada para la toma de la muestra del presente reporte

La Banda de Shilcayo, 17 de Junio del 2013

INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES
 TARAICITO, PERÚ

 Ing. Enrique Ayala Gardin
 COORDINADOR GENERAL

Figura 22: Reporte Inicial del Análisis de Suelos – Caracterización Físico - química



INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES (ICT - NAS/CICAD-OEA)

LABORATORIO DE ANÁLISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS, FERTILIZANTES Y ALIMENTOS

REPORTE DE ANÁLISIS DE SUELOS - MICRO ELEMENTOS

N° Solicitud : AS0062-13
SOLICITANTE : Roger Aban H. Pichis García
PROCEDENCIA : San Antonio de Cumbaza-San Martín-San Martín
Experiencia/cultivo actual: cacao

FECHA DE MUESTREO : 04/03/2013
FECHA DE RECEP. LAB: 07/03/2013
FECHA DE REPORTE : 20/03/2013

Número de la muestra			Fe	Cu	Zn	Mn	B	S	
Lab		Campo	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	(ppm)	
13	05	0132	1	360.7	0.60	0.50	3.90	<0.4	<10
13	05	0133	2	382.9	0.80	0.70	4.90	<0.4	<10

METODOLOGIA :
Fe, Cu, Zn y Mn : OLSEN Modificado extrac. NaHCO₃ =0.5M, pH 8.5 y lectura en Abs. Atómica
BORO : Extracción / Espectroscopia UV-Vis (λ=555 nm)
AZUFRE : Extracción / Turbidimetría

Nota: el laboratorio no se responsabiliza por la metodología aplicada para la toma de la muestra del presente reporte

La Banda de Shilcayo, 10 de Junio del 2013

INSTITUTO DE CULTIVOS TROPICALES
TARAPOTO PERU
[Firma]
Ing. Enrique Alvarado Cevallos
COORDINADOR GENERAL

Figura 23: Reporte Inicial del Análisis de Suelos – Micro Elemento

Nº Solicitud		AS0110-13												FECHA DE MUESTREO		01/08/2013							
SOLICITANTE		Roger Aban H. Pichis García												FECHA DE RECEP. LAB		01/08/2013							
PROCEDENCIA		EE Juan Bernito-Bda. De Shilcayo-San martin												FECHA DE REPORTE		15/08/2013							
Experim/cultivo actual:		Py: "Influencia de cepas de trichoderma sp endofito en el crecimiento, nutrición y resistencia foliar de phytoph																					
Número de la muestra				pH	C.E dS/m	CaCO ₃ (%)	M.O (%)	N (%)	P (ppm)	K (ppm)	ANÁLISIS MECÁNICO			C.I.C. efectiva	C.I.C.	CATIONES CAMBIABLES					Suma de bases	% Sat de bases	
											Arena %	Limo %	Arcilla %			CLASE TEXTURAL	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	Na ⁺			Al ³⁺ +H ⁺
Lab	Campe																						
13	08	0278	T1	6.40	0.13	0.00	3.70	0.17	13.74	143	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	7.38		5.65	1.37	0.37	0.00	0.00	7.38	100.00
13	08	0279	T2	6.43	0.10	0.00	3.65	0.16	11.70	125	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	7.21		5.53	1.37	0.32	0.00	0.00	7.21	100.00
13	08	0280	T3	6.32	0.13	0.00	3.53	0.16	19.74	164	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	7.63		5.76	1.45	0.42	0.00	0.00	7.63	100.00
13	08	0281	T4	6.37	0.14	0.00	3.71	0.17	10.38	113	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	6.45		4.96	1.20	0.29	0.00	0.00	6.45	100.00
13	08	0282	T5	6.41	0.11	0.00	3.41	0.15	10.23	124	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	6.82		5.23	1.27	0.32	0.00	0.00	6.82	100.00
13	08	0283	T6	6.24	0.17	0.00	3.29	0.15	20.03	164	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	7.56		5.75	1.39	0.42	0.00	0.00	7.56	100.00
13	08	0284	T7	6.34	0.18	0.00	3.48	0.16	33.33	172	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	7.51		5.65	1.42	0.44	0.00	0.00	7.51	100.00
13	08	0285	T8	6.42	0.17	0.00	3.94	0.18	15.50	138	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	7.31		5.57	1.38	0.35	0.00	0.00	7.31	100.00
13	08	0286	T9	6.51	0.15	0.00	4.29	0.19	12.87	137	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	7.06		5.37	1.33	0.35	0.00	0.00	7.06	100.00
13	08	0287	T10	6.33	0.19	0.00	3.85	0.17	16.67	166	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	6.94		5.22	1.30	0.42	0.00	0.00	6.94	100.00
13	08	0288	T11	6.35	0.02	0.00	3.34	0.15	14.33	123	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	7.44		5.76	1.37	0.31	0.00	0.00	7.44	100.00
13	08	0289	T12	6.48	0.12	0.00	3.62	0.16	30.12	154	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	7.39		5.64	1.36	0.39	0.00	0.00	7.39	100.00
13	08	0290	T13	6.43	0.14	0.00	3.19	0.14	11.11	90	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	6.82		5.29	1.30	0.23	0.00	0.00	6.82	100.00
13	08	0291	T14	5.22	0.05	0.00	2.32	0.10	<4	30	69.96	6.00	24.04	Fra-Arc-Are	2.03		1.65	0.30	0.08	0.00	0.00	2.03	100.00
MÉTODOS:																							
TEXTURA				: HDROMETRO																			
pH				: POTENCIOMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 12.5																			
CONDUC. ELECTRICA				: CONDUCTIMETRO Suspensión Suelo-Agua relación 12.5																			
CARBONATOS				: GAS - Volumétrico																			
FOSFORO				: OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO ₃ 0.5M , pH8.5 Esp. Vis																			
POTASIO				: OLSEN MODIFICADO EXTRACT. NaHCO ₃ 0.5M o Acetato de Amonio 1N , pH8.5 Esp. Absorción Atómica																			
MATERIA ORGANICA				: WALKLEY y BLACK y sobrelimite por gravimetría (>10%)																			
CALCIO Y MAGNESIO				: EXTRACT. KCl 1N o Acetato de Amonio 1N Esp. Absorción Atómica																			
ACIDES INTERC.				: EXTRACT. KCl 1N, Volumétrica																			
															Ing. MSc. Luis Zúñiga Cernades								
Nota: el laboratorio no se responsabiliza por la metodología aplicada para la toma de la muestra del presente reporte															Especialista Suelos ICT								
La Banda de Shilcayo, 15 de Agosto del 2013																							

Figura 24: Reporte Final del Análisis y Caracterización de Suelos

Nº Solicitud:	AF010-13										FECHA DE MUESTREO :	01/08/2013			
SOLICITANTE	Roger Aban H. Pichis García										FECHA DE RECEP. LAB :	01/08/2013			
PROCEDENCIA:	E.E. Juan Bernito-Bda. De Shilcayo-San Martín-San Martín										FECHA DE REPORTE :	09/09/2013			
EXPERIMENTO:	Py. "Influencia de cepas de trichoderma sp endofito en el crecimiento, nutrición y resistencia foliar a phytophthora palviv...."														
Número de Muestra				N	P	S-SO ₄ ²⁻	Potasio	Calcio	Magnesio	Sodio	Zinc	Cobre	Manganeso	Hierro	Boro
Laboratorio		Campo		%	%	%	%	%	%	%	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
13	08	095	M1	2.27	0.42	0.07	2.34	1.52	0.49	0.00	56.81	24.35	876	132.9	12.47
13	08	096	M2	2.29	0.35	0.06	2.25	1.52	0.48	0.00	49.46	24.73	1009	163.2	11.40
13	08	097	M3	2.37	0.35	0.07	2.22	1.52	0.49	0.00	49.87	16.96	504	128.7	10.73
13	08	098	M4	2.26	0.41	0.06	2.25	1.69	0.49	0.00	50.75	15.92	887	131.3	10.71
13	08	099	M5	2.46	0.32	0.06	2.23	1.64	0.50	0.00	50.86	18.95	444	140.6	11.50
13	08	100	M6	2.14	0.30	0.06	2.25	1.55	0.51	0.00	48.89	16.96	731	134.7	12.27
13	08	101	M7	2.39	0.31	0.07	2.26	1.43	0.47	0.00	53.55	20.83	596	135.9	12.19
13	08	102	M8	2.33	0.28	0.06	2.31	1.58	0.48	0.00	49.89	15.96	516	145.7	13.04
13	08	103	M9	2.34	0.30	0.07	2.23	1.39	0.49	0.00	54.78	16.93	796	148.4	11.48
13	08	104	M10	2.35	0.33	0.06	2.32	1.53	0.49	0.00	53.00	23.00	444	148.0	9.99
13	08	105	M11	2.18	0.26	0.06	2.25	1.54	0.49	0.00	50.76	20.90	753	142.3	13.00
13	08	106	M12	2.38	0.35	0.05	2.22	1.41	0.46	0.00	52.63	19.86	943	164.8	10.68
13	08	107	M13	2.44	0.27	0.06	2.26	1.41	0.47	0.00	52.88	16.96	768	145.7	9.97
13	08	108	M14	2.14	0.23	0.05	1.47	0.77	0.47	0.00	43.97	23.99	658	195.9	9.22
METODOLOGIA:															
NITROGENO				: Kjeldhal											
FOSFORO				: Digestion HNO ₃ .HClO ₄ (4:1) / Espectroscopia UV-Vis (λ=420 nm)											
AZUFRE				: Digestion HNO ₃ .HClO ₄ (4:1) / Turbidimetria											
SODIO, POTASIO, CALCIO, MAGNESIO				: Digestion HNO ₃ .HClO ₄ (4:1) / Espectroscopia Absorción Atómica											
HIERRO, COBRE,ZINC,MANGANESO				: Digestion HNO ₃ .HClO ₄ (4:1) / Espectroscopia Absorción Atómica											
BORO				: Digestion HNO ₃ .HClO ₄ (4:1) / Espectroscopia UV-Vis (λ=555 nm)											
MATERIA SECA				: Gravimetria											
Nota: el laboratorio no se responsabiliza por la metodología aplicada para la toma de la muestra del presente reporte															
												Ing. MSc. Luis Zúñiga Cernades			
La Banda de Shilcayo, 9 de Setiembre del 2013												Especialista Suelos ICT			

Figura 26: Reporte De Análisis Nutricional De Tejido Vegetal

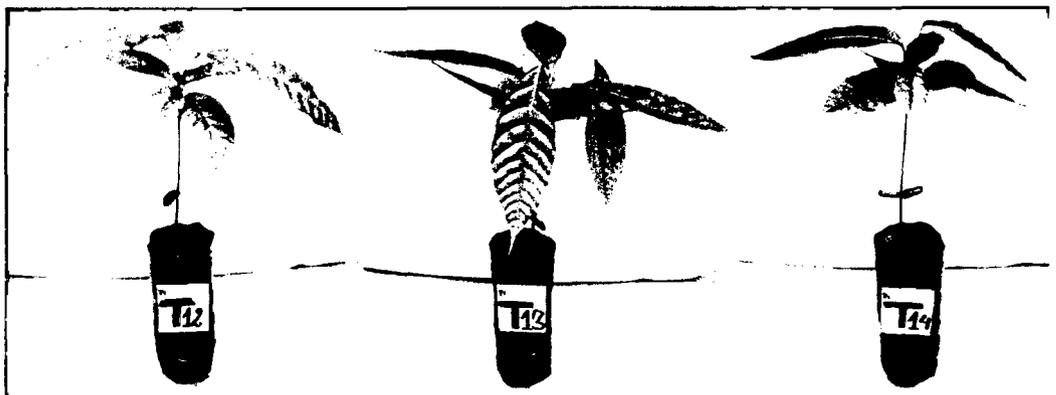
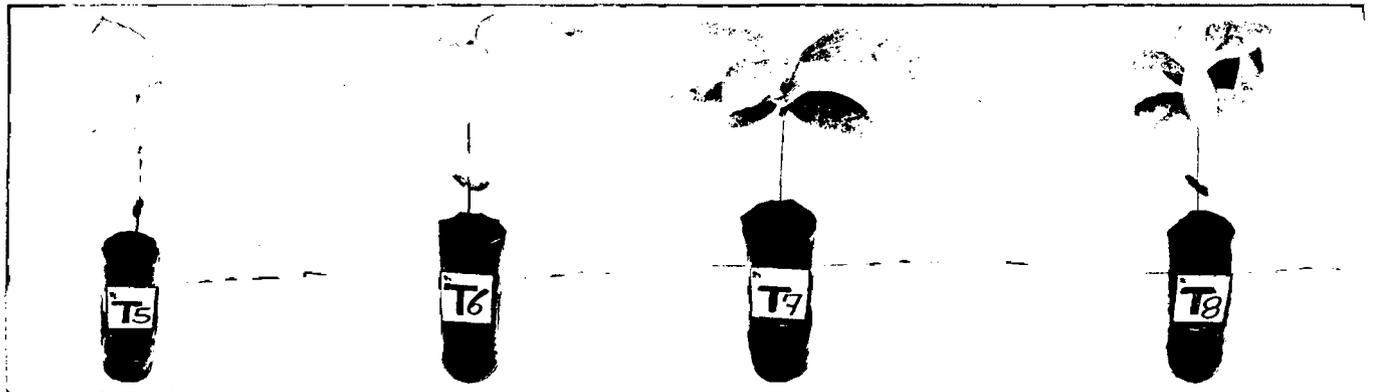


Figura 27: Comparación de plantones de dos meses.

CONTROLES

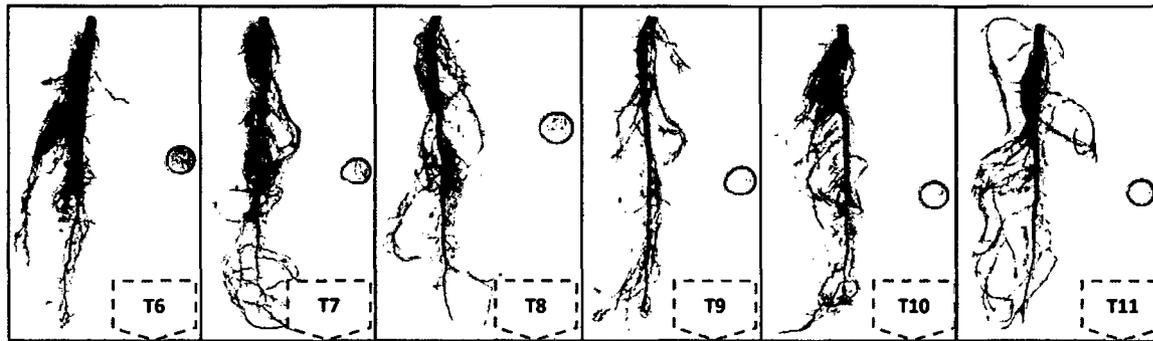
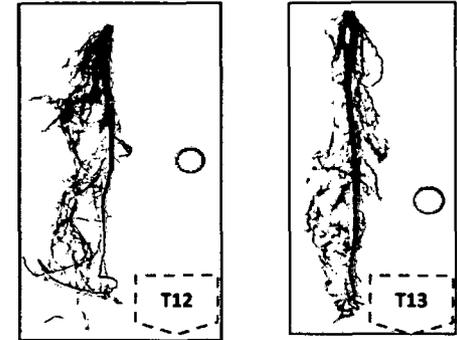
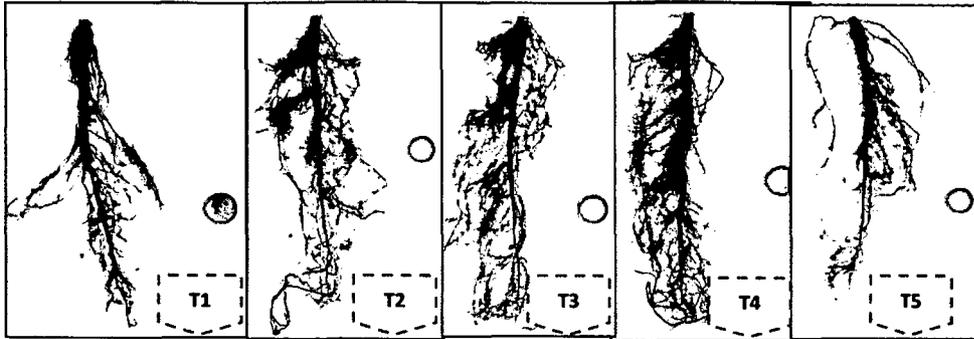


Figura 28: Comparación de raíces representativas. (04 meses de edad) con monedas respectivas para calibración en el programa ASSES, para evaluación de longitud y área radicular.

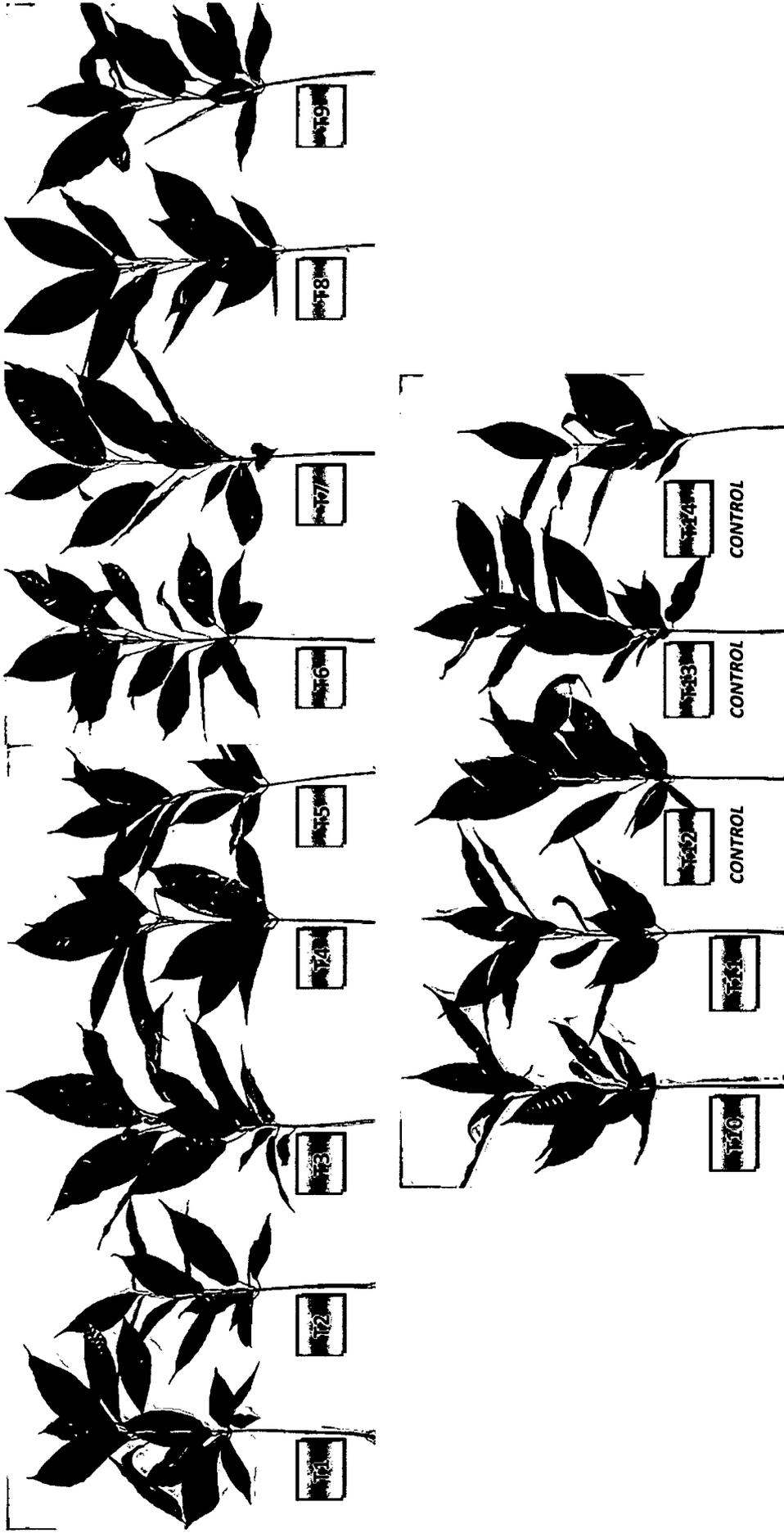


Figura 29: Comparación de plantones representativos. (04 meses de edad)

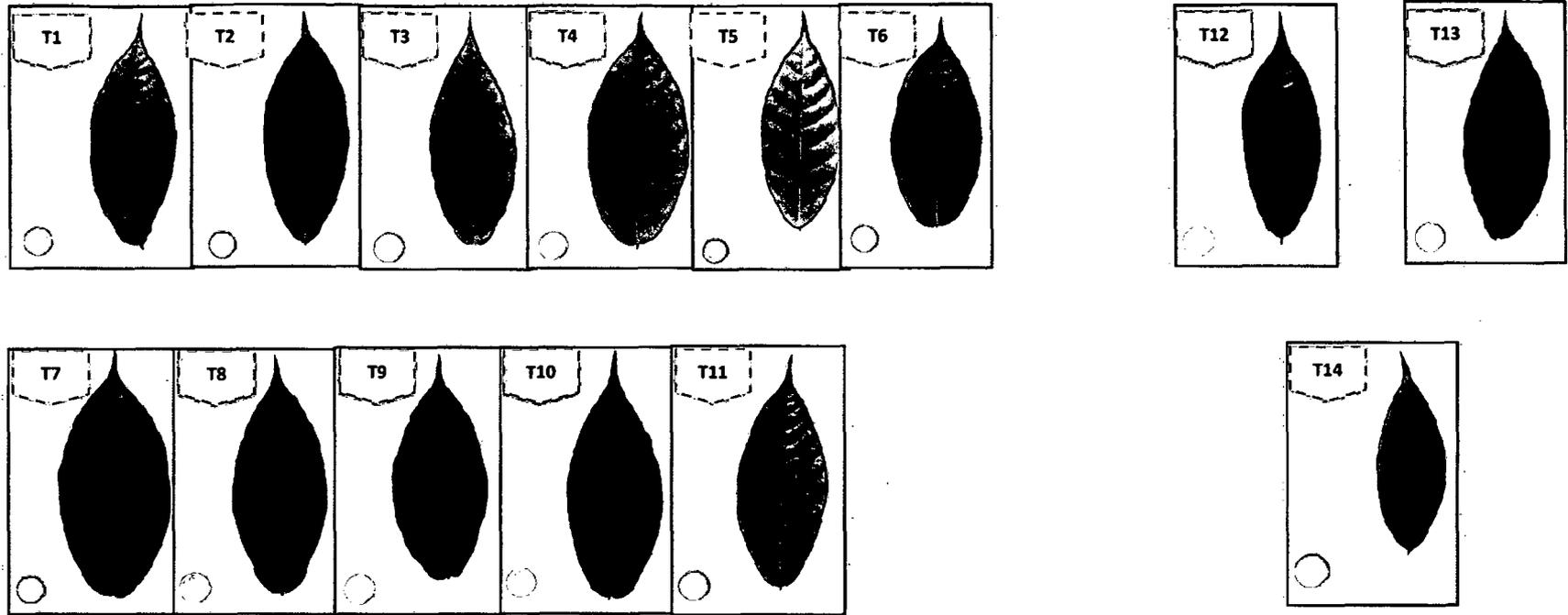


Figura 30: Comparación de hojas representativas. (04 meses de edad) con monedas respectivas para calibración en el programa ASSES, para evaluación de Área foliar.

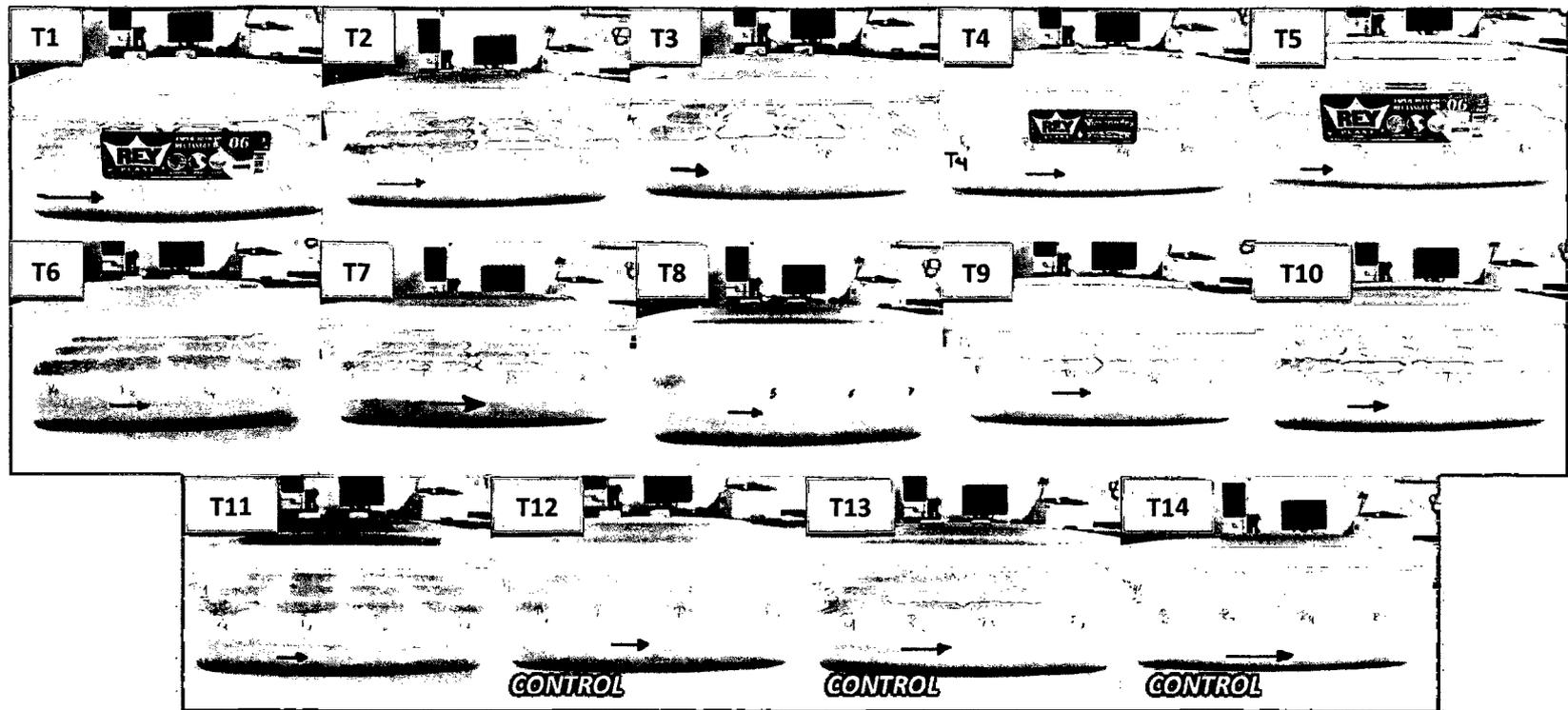


Figura 31: Bandejas en incubación con discos de hojas. Inoculados con *Phytophthora palmivora* para Prueba de Resistencia Foliar

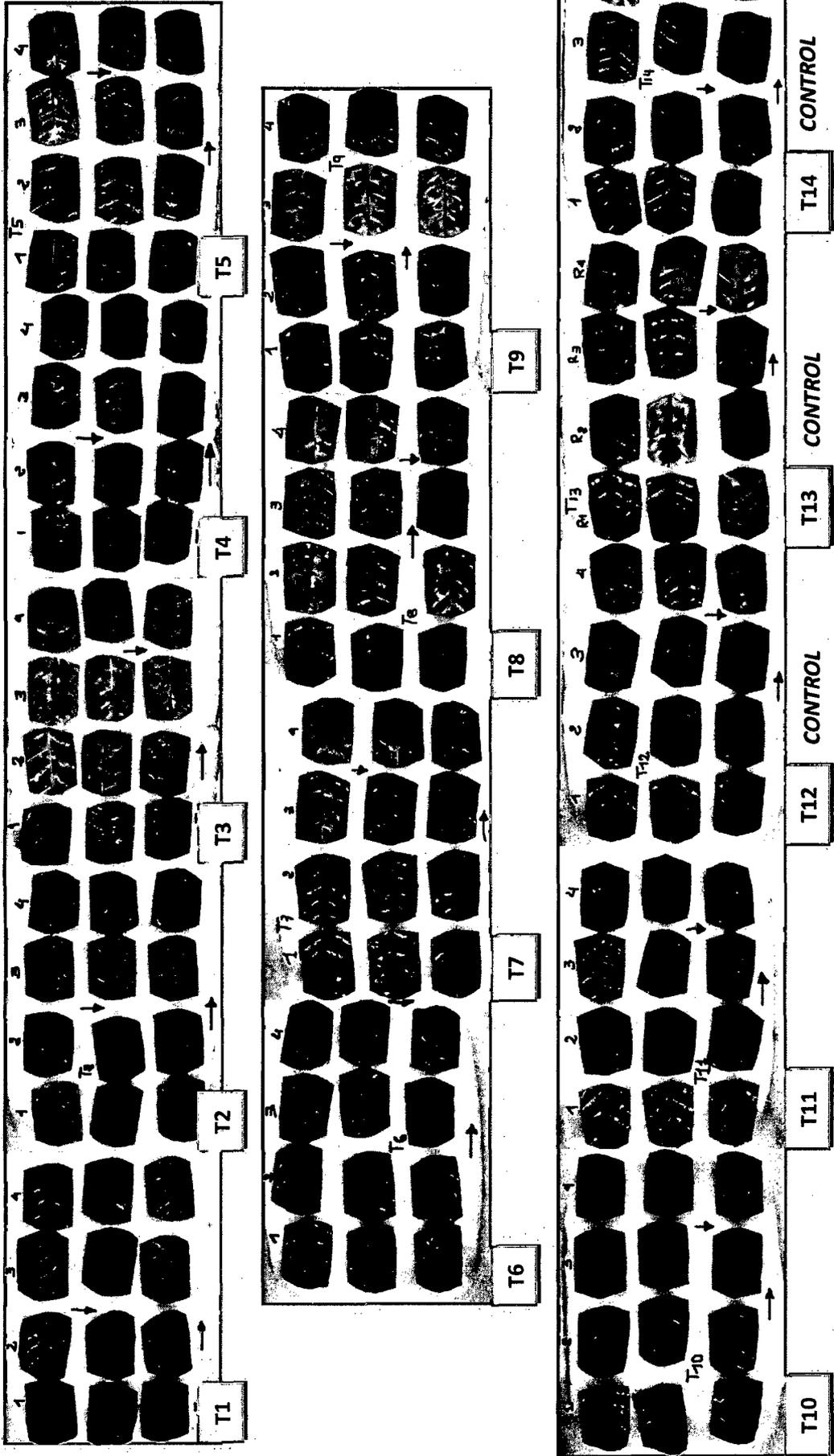


Figura 32: Discos de hojas inoculados *Phytophthora palmivora*. Prueba de Resistencia Foliar

