



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN SIMÓN

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y

PECUARIAS

“Dr. MARTÍN CÁRDENAS”



**EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp.
COMO INDUCTORAS DE RESISTENCIA
SISTÉMICA A *Globodera* spp. EN EL CULTIVO DE
PAPA**

Responsable: Olga Ruth Cabrera Trujillo

Tutor: M.Sc. Noel Ortuño Castro

COCHABAMBA-BOLIVIA

2021

EVALUACIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp. COMO INDUCTORAS DE RESISTENCIA SISTÉMICA A *Globodera* spp. EN EL CULTIVO DE PAPA

Tesista: Olga Ruth Cabrera Trujillo correo: ruthct.1994@gmail.com

Tutor: Noel Ortuño Castro correo: n.ortuno@umss.edu.bo

RESUMEN

La investigación se realizó en la FCAP y F. de la UMSS. en lo cual es necesario aplicar el control biológico de nematodos, disminuyendo la utilización de nematicidas. Para ello se utilizó 19 cepas de *Trichoderma* spp. provenientes del laboratorio de biotecnología de la FCAP y F UMSS, como un mecanismo a la inducción de tolerancia al ataque de nematodos. En lo cual se establecieron ensayo en macetas, donde en la siembra se inoculó con 1 gr de suelo que contenía 10 quistes de *Globodera* spp. por cada maceta, los cuales tenían huevos con el 95% de viabilidad, a los 30 días después de la siembra (DDS) fueron inoculadas las 19 cepas de *Trichoderma* spp. provenientes del laboratorio de biotecnología. La investigación se llevó a cabo bajo un diseño experimental completamente aleatorio (DCA) con 21 tratamientos y dos testigos (testigo absoluto y testigo con nematodo) con 8 repeticiones. La aplicación de *Trichoderma* spp. ayudaron en el desarrollo de plantas de papa atacadas con *Globodera* spp. donde se mostraron mayor altura de planta con la inoculación de las cepas T7, T11, T19, T8, T15, T12, y T4. de *Trichoderma* spp. en comparación al testigo con nematodo y el testigo absoluto. A si mimo con la inoculación de la cepa T1 de *Trichoderma* spp. se observó mayor número de tubérculos en relación al testigo con nematodo, el cual desarrolló menor número de tubérculos. En el rendimiento se observó mayor peso de tubérculos con la inoculación de la cepa T11 a pesar de tener el ataque de nematodo demostrando que la cepa de *Trichoderma* spp. induce tolerancia a través del mecanismo de ISR. Asimismo, el testigo absoluto desarrolló relativamente mayor peso de tubérculos. Por lo que los hongos de *Trichoderma* spp. son un gran potencial para el manejo biológico de nematodos en el cultivo de la papa.

Palabras Claves: *Solanum tuberosum* spp. promotores de crecimiento (PGPR).

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de la papa es originario de la región andina de Bolivia y Perú; en la actualidad se encuentra propagada por todo el mundo. En Bolivia este cultivo es de alta importancia económica y social, constituyéndose en uno de los cultivos más importantes para la alimentación de la población urbana y rural, por ser en una fuente de ingresos económicos para una gran parte de los pobladores que radican en el área rural.

Sin embargo, la producción de la papa se ve afectada por múltiples factores bióticos, siendo uno de ellos los nematodos parásitos de plantas, debido a la frecuencia con que se los encuentra en las diversas zonas semilleras y regiones de siembra de papa para consumo, convirtiéndose en un factor limitante para la elección de zonas potenciales para la producción de semilla de papa de buena calidad (Martínez 2017).

En Bolivia, los nematodos vienen a ser uno de los grupos que ocasionan daños severos, siendo los géneros *Globodera* y *Nacobbus* los máximos representantes de aquellos nemátodos formadores de agallas o nódulos y de quistes en raíces, respectivamente. Fundamentalmente el género *Globodera*, conocido como el nematodo quistes de la papa, está constituido por dos especies, *Globodera rostochiensis* y *Globodera pallida*, estas especies están ampliamente distribuidas en la región Andina de Bolivia, causando importantes pérdidas económicas en el rendimiento de papa (US \$ 128.393.257) (Franco 2008).

Por otro lado, las plantas interactúan constantemente con patógenos (virus, bacterias, hongos, *oomicetos*) y parásitos (insectos herbívoros, nemátodos) por lo que han desarrollado mecanismos que les permiten defenderse de estas plagas, mediante un complejo sistema que incluye múltiples niveles de protección. Esta protección puede ser física o química y constitutiva o inducida. Por ejemplo, la pared celular es una defensa física constitutiva; mientras que la formación de callos es una defensa física inducida. De igual forma, las saponinas son una protección química constitutiva, mientras que las fitoalexinas y quitinasas son inducidas (Díaz 2012).

A las interacciones con microorganismos patógenos se les denomina incompatibles o compatibles dependiendo del éxito de la infección. En las primeras, la planta bloquea al patógeno inmediatamente después de su reconocimiento evitando la infección; mientras que en

las segundas el microorganismo suprime o retrasa el reconocimiento de éste por la planta, permitiendo la infección. La interacción entre un patógeno particular y una especie de planta es específica e invariable. Los microorganismos capaces de infectar a la planta, es decir de interactuar compatiblemente, son denominados biotróficos, hemibio-trófico, necrotrofico o endófitos. Los biotróficos y endófitos invaden la planta por aberturas naturales y no causan la muerte celular de su hospedante o simbiote, por lo que las plantas no presentan síntomas obvios de infección. Los necrotrofico invaden la planta a través de heridas o de tejido muerto, matan las células y se alimentan de sus restos. Los hemibiotrofico combinan la forma biotrofica y necrotrofica de crecimiento (Diaz 2012).

Con todos esos antecedentes en la relación planta-parásitos-microorganismos benéficos, es necesario explorar la diversidad microbiana nativa para desarrollar o verificar estos nuevos principios microbianos para el manejo de fitonematodos, para eso será necesario explorar si existen cepas de *Trichoderma* spp. nativo que tengan la capacidad de inducir resistencia sistémica en plantas de papa a *Globodera* spp.

1.1. **Objetivos**

1.1.1. *Objetivo general*

- Establecer el efecto de cepas nativas de *Trichoderma* spp. en plantas atacadas por *Globodera* spp.

1.1.2. *Objetivos específicos*

- Evaluar el efecto de 19 cepas nativas de *Trichoderma* spp. en el desarrollo de plantas de papa atacadas con *Globodera* spp.
- Determinar el efecto de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre el rendimiento de papa atacadas con *Globodera* spp.

II. METODOLOGIA

2.1. Ubicación

La investigación se realizó en los predios de la Facultad de Ciencias Agrícolas Pecuarías y Forestales “Dr. Martín Cárdenas” de la Universidad Mayor de San Simón, ubicada en km 5 de la Av. Petrolera zona Tamborada en la Provincia de Cercado, del Departamento de Cochabamba, geográficamente entre los 17°26' de latitud sur y 66°19' de longitud oeste, a una altitud de 2582 msnm, con una temperatura promedio anual de 16°C y una precipitación pluvial de 560 mm por año. (Google maps 2020).

2.2. Metodología

2.2.1. Preparación de inóculo con *Globodera*

Este procedimiento se realizó con el método de flotación.

Los quistes de *Globodera* spp. fueron extraídos y cuantificados en el laboratorio de Biotecnología y Microbiología de la FCAP y F., de muestras de suelo infestados, provenientes de la zona de Lope Mendoza de la Provincia Carrasco.

2.2.2. Preparación de inóculo de *Trichoderma* spp.

Las 19 cepas de *Trichoderma* spp. provenientes del Cepario del Laboratorio de Biotecnología y Microbiología de la FCA y P-UMSS, fueron multiplicadas en placas petri, con medio de cultivo de PDA estéril, para obtener inóculo en estado líquido (Figura 4).



Figura 1. A) Multiplicación *in vitro* de cepas de *Trichoderma* spp. B) Preparación del inóculo inicial de *Trichoderma* spp.

2.2.3. Preparación de sustrato

Se realizó la preparación del sustrato con materia orgánica, arena y cascarilla de arroz en una relación de 2:1:1, luego fue esterilizado a 121°C y 1 Bar de presión, durante 40 minutos (Figura 5).



Figura 2. A) Preparación de sustrato. B) Embolsado de sustrato en bolsas polietileno.

2.2.4. Siembra

La siembra se realizó en bolsas de polietileno de 40x50 con sustrato estéril de 6 kg, donde se sembró una semilla de papa por maceta, e inmediatamente se inoculó con 1 gr de suelo que contenía 10 quistes de *Globodera* spp. por cada maceta, los cuales tenían huevos con el 95% de viabilidad (Figura 6).



Figura 3. A) Siembra de papa variedad Desiré. B) inoculación de población inicial de *Globodera* spp.

2.2.5. Aplicación de *Trichoderma* spp.

Las 19 cepas de *Trichoderma* spp. a los 30 días después de la siembra (DDS), fueron inoculadas en una dosis de 5 cc por planta, (el cual tenía una concentración de 2×10^9 conidas/ ml), por cada tratamiento, con la ayuda de una jeringa se aplicó la dosis indicada en la parte superior del cuello de la planta de papa (Figura 7).



Figura 4. A) Inóculo de *Trichoderma* spp. B) Aplicación del inóculo de *Trichoderma* spp. en una planta de papa variedad DESIRÉE.

2.3. Tratamientos

T0= testigo absoluto.

Testigo =testigo con nematodo.

T1- T19= 16 diferentes cepas de *Trichoderma* spp.

2.3.1. Análisis de datos

Los tratamientos fueron evaluados bajo un diseño experimental completamente aleatorio (DCA), con 19 tratamientos y 2 testigos, con 8 repeticiones. Donde cada unidad experimental estuvo constituida por una maceta con dimensiones de 40 x 50 cm, de 6 kg de capacidad con un solo tubérculo de papa de la variedad DESIRÉE.

2.4. Unidad experimental

La unidad experimental consistió en una maceta de 40x50 cm, con una planta de papa.

2.5. Variables de respuesta

Se evaluaron las siguientes variables de respuesta.

2.5.1. Variables Fisiológicas

2.5.1.1. Altura de planta (cm)

Esta variable se evaluó midiendo con un flexómetro desde el cuello de la planta hasta el ápice vegetativo en cada unidad experimental (Figura 8).



Figura 5. Evaluación de la altura de la planta de papa variedad DESIRÉE.

2.5.1.2. Diámetro del tallo (cm)

Esta variable se evaluó midiendo con un vernier de la parte inicial del cuello del tallo de la planta en cada unidad experimental por tratamiento (Figura 9).



Figura 6. Evaluación del diámetro del tallo de la planta de papa variedad DESIRÉE.

2.5.1.3. Peso de follaje materia seca (g)

Esta variable se determinó a los 90 DDS, pesando con ayuda de una balanza el peso total del follaje de materia seca.

2.5.1.4. Peso de la raíz (g)

Se determinó el peso total de la raíz en una balanza.

2.5.1.5. Longitud de la raíz (cm)

Se evaluó la longitud de la raíz desde el cuello de la planta hasta el ápice de la raíz (Figura 10).



Figura 7. Evaluación de la longitud de la raíz de la planta de papa variedad DESIRÉE.

2.5.2. Variables agronómicas

2.5.2.1. Número de tubérculos

Se cosecharon todos los tubérculos desarrollados por cada unidad experimental (Figura 11).



Figura 8. Evaluación de número de tubérculos de la planta de papa variedad DESIRÉE.

2.5.2.2. Rendimiento del tubérculo

Esta variable se determinó pesando en una balanza los tubérculos.

2.5.3. Variables Nematológicas

2.5.3.1. Población final de nematodos

La población final de nematodos se determinó por el método de flotación.

Al momento de la cosecha se tomó una muestra de 300 gramos de suelo cerca de la raíz de la planta de cada unidad experimental, para la cuantificación de quistes, se pesó 20 gramos de suelo en un vaso plástico, seguidamente se añadió 150 cc de agua y fue remojada por 10 minutos, cada muestra fue lavada con agua corriente en un tamiz de 80 y 100 mesh, posteriormente se extrajo la solución sobrenadante sobre el papel filtro en forma de cono puesto sobre un vaso y con la ayuda de un estereoscopio se procedió a cuantificar el número total de quistes/maceta (Figura 12).



Figura 9. A) Lavado de la muestra B) Muestra lavada, puesta en papel filtro C) Conteo de quistes en estereoscopio.

2.5.4. Análisis de meso fauna

Se utilizó la técnica del embudo de Berlesse, es el principio de fototropismo negativo, los micro artrópodos que se encuentran en el sustrato, migraron hacia abajo, escapando de la luz, para eso se usó focos de 60 watts, con embudos colectores como equipo extractor de mesofauna

- Se pesó 100 g de muestra de suelo.
- Se preparó alcohol al 40 % y dispensando 30 cc por vaso, uno por muestra.
- Se montaron las muestras teniendo cuidado de no hacer caer tierra en los colectores.

- Se colectó después de 24 horas.
- Luego se identificó la mesofauna (colémbolos y ácaros) con la ayuda de un estereoscopio.



Figura 10.

A) Evaluación de la población de ácaros y colémbolos en papa, mediante el extractor de mesofauna. B) Ácaros y Colémbolos.

2.6. Análisis estadístico

Los datos de cada una de las variables cualitativas, fueron analizados con el PROC GLM del SAS versión 8.2, previa verificación de los supuestos de distribución normal y homogeneidad de varianzas bajo el siguiente modelo estadístico:

2.6.1. Modelo estadístico

$$Y = \mu + t_i + \epsilon_{ij}$$

$i = 1, 2, 3, 4, \dots, 19$ Cepas de *Trichoderma* spp.

$j = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8$ macetas/ tratamiento.

μ = Media general.

Y_{ij} = Valor de una variable de respuesta observado en una planta de papa de la j -ésima maceta donde se aplicó la i -ésima cepa de *Trichoderma* spp.

t_i = Efecto fijo de la i -ésima cepa de *Trichoderma* spp.

ϵ_{ij} = Efecto aleatorio de los residuales.

$$\epsilon_{ij} \sim \text{NIID} (0, \sigma_e)$$

En base a este modelo estadístico se realizó el análisis de varianza, comparación de medias en datos cualitativos dentro de los tratamientos, mediante contraste de 1 grado de libertad de acuerdo al estadístico de t.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Variables Fisiológicas

3.1.1. Peso de la raíz

Por otra parte, para la variable peso de la raíz, se estimaron diferencias significativas con la inoculación de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. ($P=0,05$), por lo que la formación de las raíces difirió entre tratamientos en el cultivo de la papa con la inoculación de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp.

Al observar diferencias en el desarrollo radicular, con la inoculación de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. a través de la comparación de medias, se observó que las plantas a las que se inoculó las cepas T5 (6,43 gr) favorecieron relativamente mayor desarrollo radicular en relación al testigo con nematodo (3,25 gr) y el testigo absoluto (4,17 gr) (Figura 14).

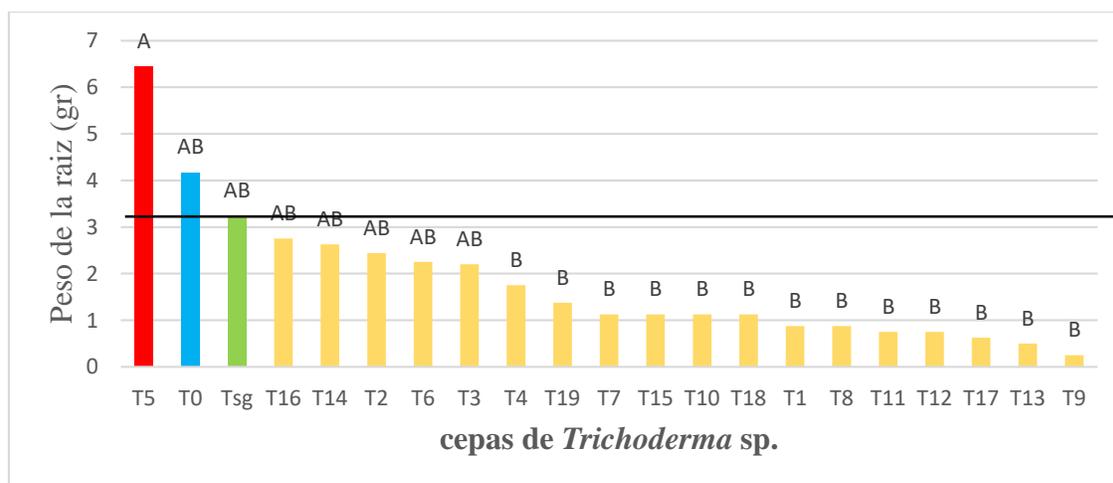


Figura 11. Efecto de las cepas de *Trichoderma* spp. sobre el peso de la raíz en gr. de la papa variedad DESIRÉE.

El efecto de *Trichoderma*, en cuanto a los incrementos en el crecimiento y desarrollo de las raíces, se explica a través de varios mecanismos de acción. El hongo *Trichoderma* regula los niveles de auxinas en la rizósfera (Contreras *et al.* 2009), además de proteger el sistema radical

con habilidad para modificar su ambiente circundante, pudiendo acidificar el suelo mediante la secreción de ácidos orgánicos, lo que resulta en el metabolismo de otras fuentes de carbono (glucosa), capaces de solubilizar fosfatos e intervenir en el equilibrio de micronutrientes y minerales. Por consiguiente, la adición de *Trichoderma* al suelo, resulta en la biofertilización por la solubilización del metal, incrementando la riqueza del mismo, en forma tal, que puedan ser asimiladas por las plantas (Altomare *et al.* 1999).

3.1.2. Altura de planta (cm)

Para la altura de planta de papa, se estimaron diferencias significativas a través del análisis de varianza ($P=0,05$). Por lo que el desarrollo del tamaño de la planta fue diferente con la inoculación de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp.

A través de la comparación de medias, se observó plantas más altas con la inoculación de las cepas T7 (14,17 cm), T11 (13,52 cm), T19 (13,43 cm), T8 (13,43 cm), T15 (13,18 cm), T12 (13,04 cm) y T4 (12,9 cm) de *Trichoderma* spp. en comparación al testigo con nematodo (10,89 cm) y el testigo absoluto T0 (12,80 cm) (Figura 14). Por lo que estas cepas podrían utilizarse para promover el desarrollo de plantas.

Por tanto, al comparar los tratamientos respecto al testigo con nematodo, se observa que las plantas pueden crecer a pesar de ser atacadas por el nematodo. Lo cual se denota con la línea negra en la figura 15.

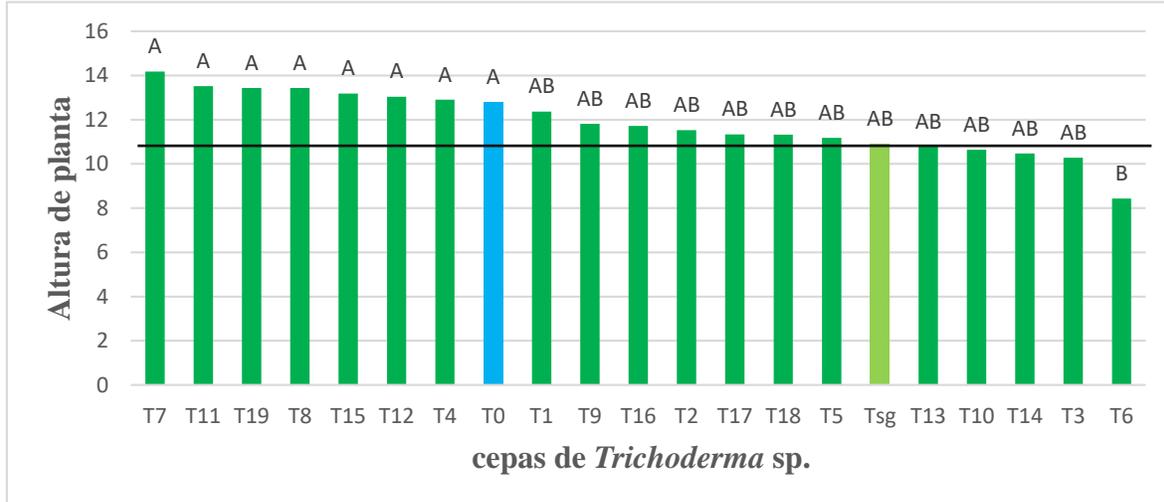


Figura 12. Efecto de las cepas de *Trichoderma* spp. sobre la altura de la papa variedad DESIRÉE.

Estudios reportan que las especies de *Trichoderma* spp. actúan como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas que causan cambios estructurales a nivel celular del patógeno, tales como vacuolización, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular (Ezziyyani *et al.* 2004).

Además del efecto biocontrolador de patógenos, se ha reportado que la inoculación de *Trichoderma harzianum*. aporta otros beneficios a las plantas a través de la descomposición de materia orgánica, libera nutrientes en formas inmediatamente disponibles (Howell 2003). *Trichoderma harzianum*. ha sido destacado como promotor del crecimiento vegetal en cultivos de berenjena, frijol, café, tomate, papa y especies forestales, entre otros (Börkman *et al.* 1998).

3.1.3. Diámetro del tallo

Con la inoculación de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. no se estimaron diferencias a través del análisis de varianza para el desarrollo del diámetro del tallo (Pr=0,05). Por lo que el desarrollo del diámetro del tallo fue diferente con la inoculación de las diferentes cepas *Trichoderma* spp. nativa.

Por tanto, a través de la comparación de medias, se observaron tallos más gruesos con la inoculación de todas las cepas de *Trichoderma* spp. incluyendo el testigo con nematodo y el

testigo absoluto (T0) y solo las plantas a las que se inoculó la cepa T1 desarrollaron tallos más delgados (Figura 16).

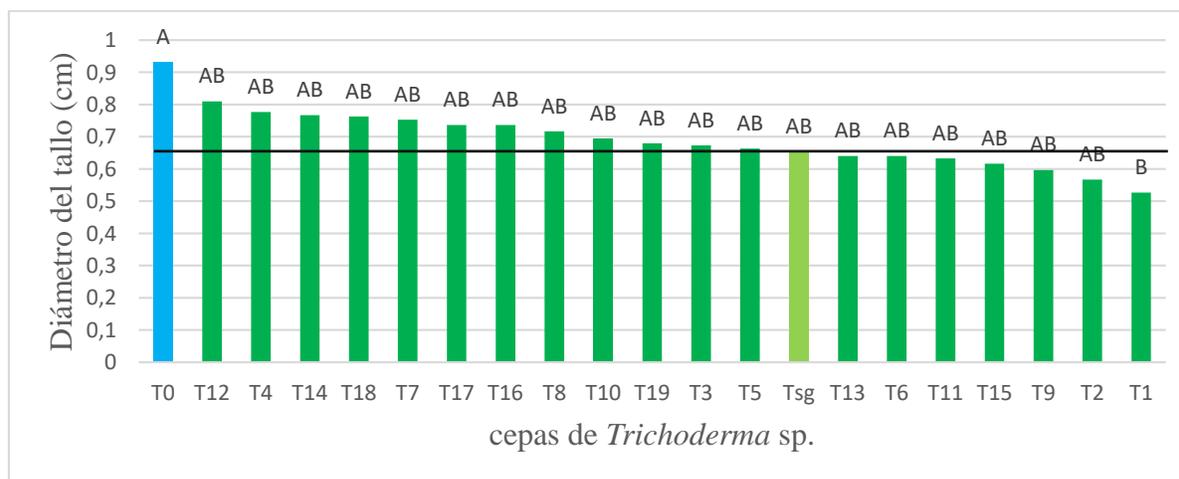


Figura 13. Efecto de las cepas de *Trichoderma* spp. sobre el diámetro del tallo de la papa variedad DESIRÉE.

Ciertos microorganismos, propios de la rizósfera, favorecen el desarrollo radicular, la fijación del N atmosférico, la solubilización del P del suelo y la producción de ácidos orgánicos y metabolitos secundarios que actúan análogamente a las fitohormonas, por lo que influyen directamente en la disponibilidad de nutrientes y en la estimulación del crecimiento vegetal este es el caso de *Pseudomonas* spp. y *Trichoderma* spp. (Cano 2011). Los biofertilizantes a base de esos microorganismos minimizan notablemente el impacto ambiental que producen los fertilizantes químicos y mejoran el rendimiento de los cultivos, por lo que pueden limitar el uso de los productos tóxicos (Hernandez *et al.* 2011).

3.2. Variables Nematológicas

3.2.1. Población final de quistes de *Globodera* spp.

Para la variable número de quistes se estimaron diferencias significativas entre las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. ($Pr=0.05$). Por lo que la inoculación de las cepas de *Trichoderma* spp. tiene efecto sobre la reducción del número de quistes de nematodo en el cultivo de la papa.

Se observó menor cantidad de quistes del nematodo con la inoculación de las cepas de *Trichoderma* spp. T1(2,3), T11(1), T12(1,33), T13(2), T15(1,66), T16 (2,33) T17(0,66), T18 (1,66), T19(1,66), T2(0,66), T3(1,33) y T4(2) en comparación al Testigo con nematodo (12,66),

spp. el que presentó el mayor número de quistes. Sin embargo, en el testigo absoluto T0 al cual no se inoculó quistes de nematodo tuvo cero quistes (0) en la muestra evaluada (Figura 17). Por lo que estas cepas de *Trichoderma* spp. podrían estar inhibiendo la multiplicación del nematodo, lo cual debe ser verificada con estudios complementarios en laboratorio para establecer el mecanismo de acción del hongo respecto a la inhibición de reproducción del nematodo, bajo las condiciones de estudio. Constituyéndose este factor como un potencial mecanismo para el manejo de las poblaciones del nematodo quiste de la papa.

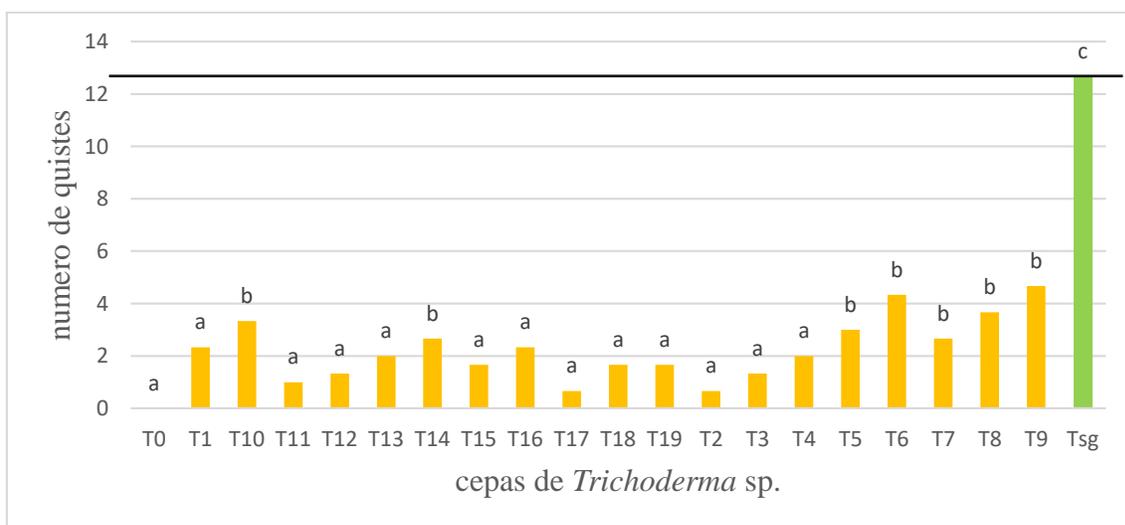


Figura 14. Efecto de las cepas de *Trichoderma* spp. sobre el número de quistes de *Globodera* spp. en papa de la variedad DESIRÉE.

Teniendo en cuenta que las especies de *Trichoderma* spp. son muy usadas en el control biológico de hongos fitopatógenos; y que además se ha demostrado que *Trichoderma* spp. también puede controlar nematodos, permitiendo que los agricultores empleen *Trichoderma* spp. no solo como hongo antagonista, sino también como hongo biocontrolador de nematodos, haciendo que los costos del tratamiento de sus cosechas disminuyan ya que necesitarían aplicar un solo tipo de controlador biológico. Recientemente, se han reportado trabajos sobre el uso potencial de *Trichoderma* spp. en el control de *Meloidogyne* spp. Aunque, las especies del género *Trichoderma* spp. son más conocidas por estar entre los antagonistas más utilizados para el control de un grupo importante de patógenos del suelo, principalmente de los géneros *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia* spp., *Sclerotium* spp., *Pythium* spp. y *Fusarium* spp., entre otros (Harman 2004).

Asimismo, existe poca información sobre los mecanismos utilizados por las especies de *Trichoderma* spp. en el control de nematodos. Sin embargo, se hablan de dos mecanismos, el primero es el parasitismo directo de huevos o larvas mediante el aumento de la actividad de quitinasas o proteasas, siendo este un indicativo de infectar huevos de nematodos y el segundo es la inducción de los mecanismos de defensa de la planta (Howell 2003).

3.3. Variables agronómicas

3.3.1. Número de tubérculos

Para la variable número de tubérculos se estimaron diferencias significativas a través del análisis de varianza ($P=0,05$). Lo cual muestra que el desarrollo del número de tubérculos fue similar con la inoculación de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp.

Se observó mayor número de tubérculos con la inoculación de la cepa T1 (13,37), en relación al Testigo con nematodo (9,5) con inoculación solo de quistes de nematodos, el cual desarrolló menor número de tubérculos. Por otra parte, el testigo absoluto T0 (11,25) sin inóculo tanto de quistes de nematodos y *Trichoderma* spp. desarrolló mayor cantidad de tubérculos (Figura 18). Por lo que la cepa T1 podría utilizarse para favorecer el desarrollo del número de tubérculos en el cultivo de la papa.

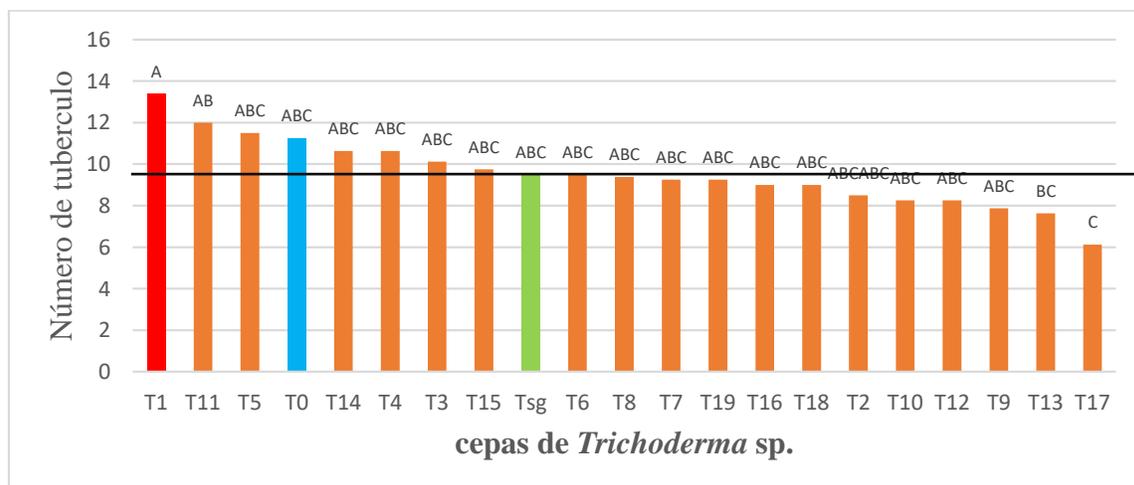


Figura 15. Efecto de las cepas de *Trichoderma* spp. sobre el número de tubérculos en papa de la variedad DESIRÉE.

Sin embargo, en otros estudios *Trichoderma* ThzID1-M3 redujo significativamente la infección y reproducción de *G. pallida* en las raíces de la papa. Similarmente *T. harzianum* ThzID1 redujo la tasa de reproducción de *G. pallida* en 43% y 48% durante dos ciclos de producción de papa consecutivamente en experimentos bajo invernadero (Dandurand *et al.* 2016)

El efecto favorable de *T. harzianum*, *B. subtilis* y *P. fluorescens* en el desarrollo fue evidente con el número de tubérculos mayor en T2 y T3. Este efecto se debe a que los microorganismos producen hormonas de crecimiento, que favorecen el desarrollo del sistema radicular y mejoran la nutrición. También señaló que la presencia de hormonas de crecimiento incrementó la tuberización; por lo que T1, sin inocular, mostró número menor de tubérculos (Cubillos *et al.* 2009).

3.4. Rendimiento

Para la variable peso de tubérculos se observaron diferencias estadísticas a través del análisis de varianza con la probabilidad con 95 %. Lo cual indica que el peso de los tubérculos fue diferente con la inoculación de las distintas cepas de *Trichoderma* spp.

Donde a través de la comparación de medias, se observó un mayor peso de tubérculos con la inoculación de la cepa T11 (8,06 tn/ha), en relación al Testigo con nematodo (4,4 tn/ha), donde las plantas desarrollaron menor peso en los tubérculos. Asimismo, el testigo absoluto T0 (7,6 tn/ha) desarrolló relativamente mayor peso de tubérculos (Figura 19). Por lo que estas cepas T11 podrían emplearse para favorecer el desarrollo de tubérculos con más peso en el cultivo de la papa.

Estos hechos demuestran que las plantas de papa, siendo atacadas por el nematodo, con la inoculación de cepas nativas de *Trichoderma* spp. rindieron mejor que las plantas afectadas con *Globodera* spp. Demostrando así que *Trichoderma* spp. induce tolerancia al ataque del nematodo en plantas de papa.

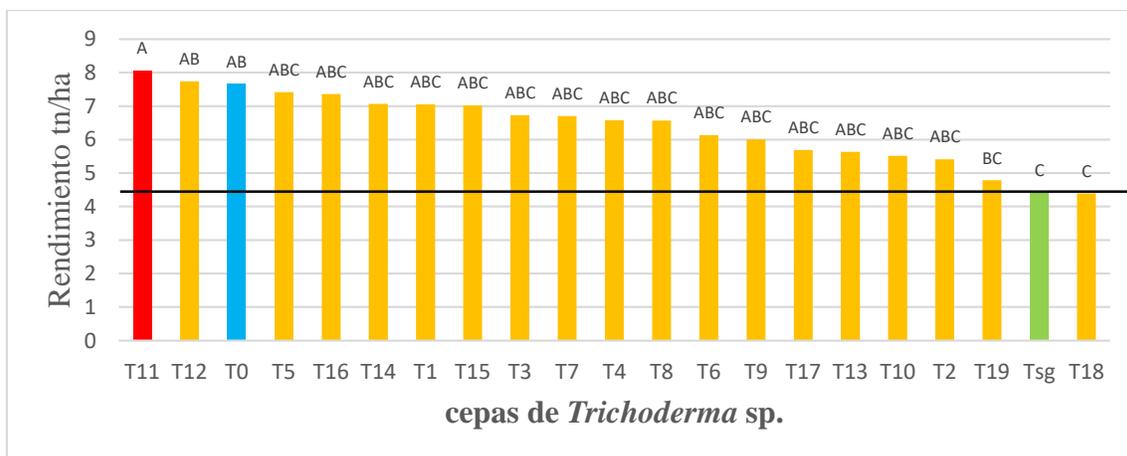


Figura 16. Efecto de las cepas de *Trichoderma* spp. sobre el rendimiento en tn/ha de la papa variedad DESIRÉE.

Rodríguez (2007), expresa que, los nematodos ocupan un lugar importante como responsable en las pérdidas de rendimiento de los cultivos, a más de la infestación en los suelos por varios años. Los nematodos provocan alteraciones en la conducción de las raíces de la planta, disminuyendo el transporte de fluidos y nutrientes en ambas direcciones, lo que favorece la muerte de las raíces y la reducción del crecimiento y rendimiento de las plantas.

Los pesos totales de tubérculos obtenidos en la cosecha, para los diferentes tratamientos, mostraron un incremento positivo respecto al testigo absoluto y testigo con nematodo, es decir, las plantas a pesar de ser atacados con *Globodera* spp. y tratadas con microorganismo promotores de crecimiento (PGPR) rindieron mejor que el testigo absoluto (T01) y testigo con nematodo (T0). los mejores tratamientos son el T13 (*Trichoderma* + *Pochonia* + *Pleurotus*) con 27.8 t/ha, T5 (*Trichoderma* + *Bacillus*), T11 (*Trichoderma* + *Bacillus* + *Pochonia*) y T7 (*Tichoderma* + *Pleurotus*) con rendimientos de 27.7, 27.6, y 26.6 t/ha, respectivamente en comparación al testigo absoluto (T01) que produjo 24.5 t/ha y el testigo con nematodo(T0) produjo 23.6 t/ha (Soria 2019).

3.5. Peso de follaje

Para la variable peso del follaje se estimaron diferencias significativas con la inoculación de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. ($Pr=0,05$). Por lo que las cepas de *Trichoderma* spp. presentaron efecto sobre el desarrollo foliar de la planta.

Entre las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. el T6 (9,5 gr) y T2 (9 gr), fueron los que favorecieron mayor desarrollo foliar en la planta (Figura 20) en comparación al testigo con nematodo (4,12 gr) y el testigo absoluto T0 (8,62 gr). Por lo que estas cepas podrían utilizarse para favorecer el desarrollo foliar de la planta en el cultivo de la papa.

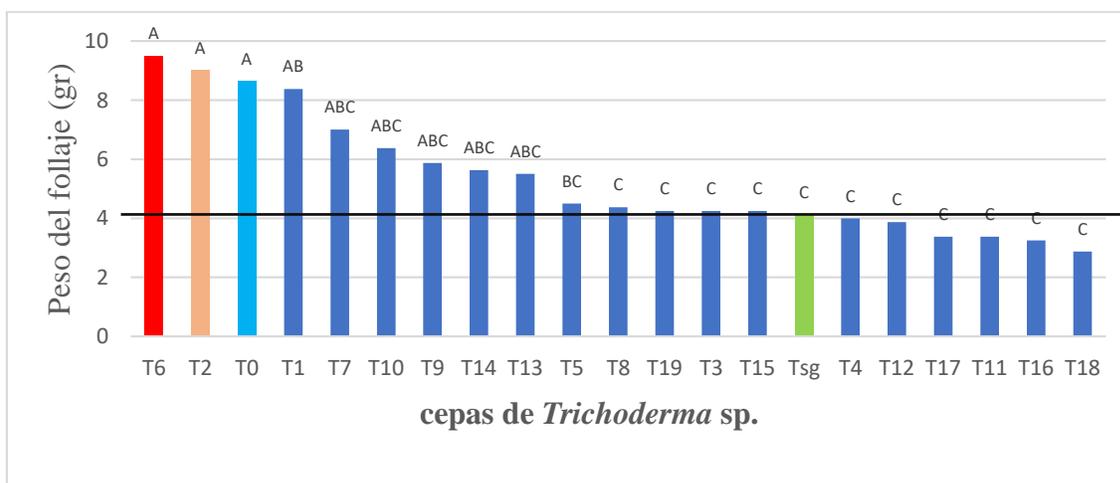


Figura 17. Efecto de las cepas de *Trichoderma* spp. sobre el peso del follaje en gr. de la papa variedad DESIRÉE.

Baños *et al.* (2010), en una investigación menciona que *Trichoderma harzianum* produce metabolitos estimuladores del crecimiento vegetativo en las plantas y según Harman (2006), incrementa los mecanismos de defensa de las plantas.

3.6. Longitud de la raíz

Para la variable longitud de la raíz se estimaron diferencias significativas a través del análisis de varianza ($Pr=0.05$). Por lo que la inoculación de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. presentó el mismo efecto sobre el desarrollo de la longitud radicular.

Sin embargo, a través de la comparación de medias, se evidenció que las cepas T2 (23,12 cm) favorecen el desarrollo de raíces más largas en relación al Testigo con nematodo (18 cm) y el testigo absoluto (18,68 cm) (Figura 21). Razón por la cual esta cepa podría ser empleada para favorecer el desarrollo de raíces más largas en el cultivo de la papa en las épocas de sequía o en lugares donde hay escasas de agua.

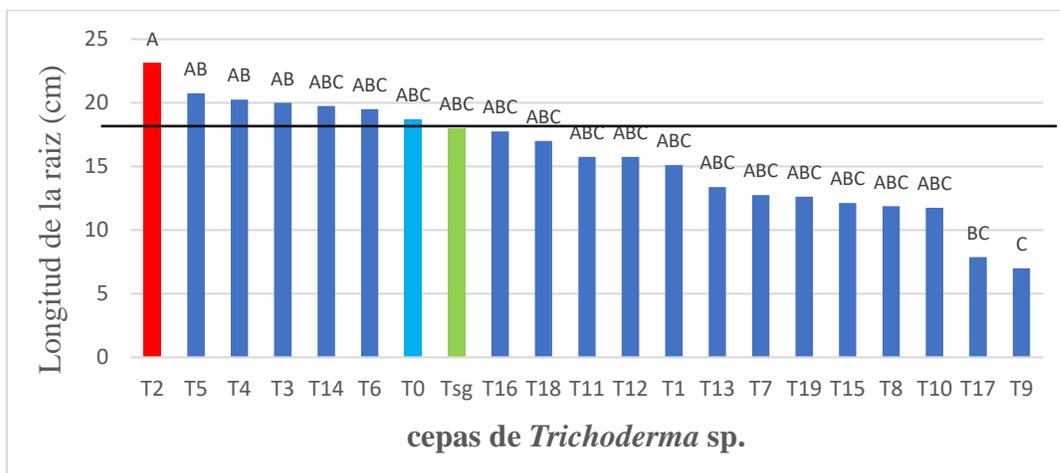


Figura 18. Efecto de las cepas de *Trichoderma* spp. sobre la longitud de la raíz de la papa variedad DESIRÉE.

Las especies de *Trichoderma* spp. son hongos libres que son comunes en el suelo y en el ecosistema radicular. Son oportunistas, simbiotes a virulentos de las plantas como parásitos de otras plantas. La colonización de las raíces por *Trichoderma* spp. frecuentemente mejora el crecimiento radicular, productividad de las cosechas, resistencia a factores abióticos y toma de nutrientes (Harman *et al* 2004).

3.7. Análisis de Mesofauna

3.7.1. Número de colémbolos

Asimismo, para la variable número de colémbolos se estimaron diferencias significativas con la inoculación de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. Por lo que el número de colémbolos varió con la inoculación de las diferentes cepas de *Trichoderma* sp.

Las cepas de *Trichoderma* spp. T1 (9), T15 (4), T6 (4) y T8 (6), son los que favorecieron a la formación de mayor número de colémbolos en el cultivo de la papa, en relación al Testigo con nematodo (3) y el testigo absoluto T0 (1) (Figura 22). Por lo estas cepas podrían ser utilizadas para favorecer la calidad del suelo por un incremento en el desarrollo de colémbolos en el sustrato del cultivo de la papa.

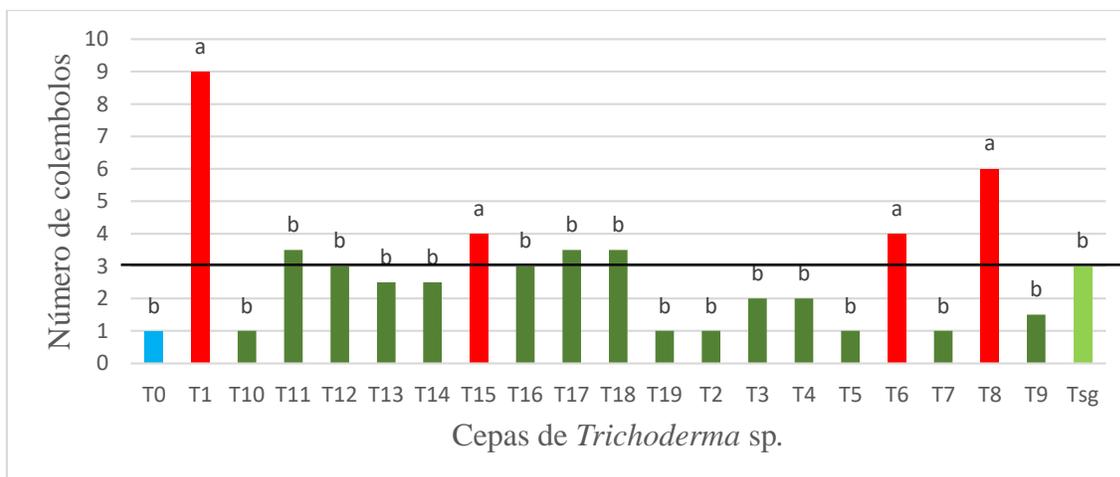


Figura 19. Efecto de las cepas de *Trichoderma* spp. sobre el número de colémbolos de la papa variedad DESIRÉE.

Guillen *et al.* (2006), señalan que algunas poblaciones de colémbolos se distribuyen verticalmente en el perfil del suelo como respuesta a un patrón de humedad y lo atribuyen a una relación estrecha con el establecimiento de hongos y bacterias, que son fuente de alimento para muchos de ellos.

3.7.2. Número de ácaros

Para la variable número de ácaros también se estimaron diferencias significativas con la inoculación de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. ($Pr < 0,05$). Por lo que el desarrollo de la población de ácaros varió con la implementación de los diferentes aislados de *Trichoderma* sp.

Así, se observó una mayor población de ácaros con la inoculación de las cepas de *Trichoderma* spp. T4 (54) y T17 (50) en relación al Testigo con nematodo (2) y el testigo absoluto T0 (3,5) (Figura 23). Por lo que estas cepas podrían emplearse para favorecer el desarrollo de poblaciones de ácaros en el cultivo de la papa.

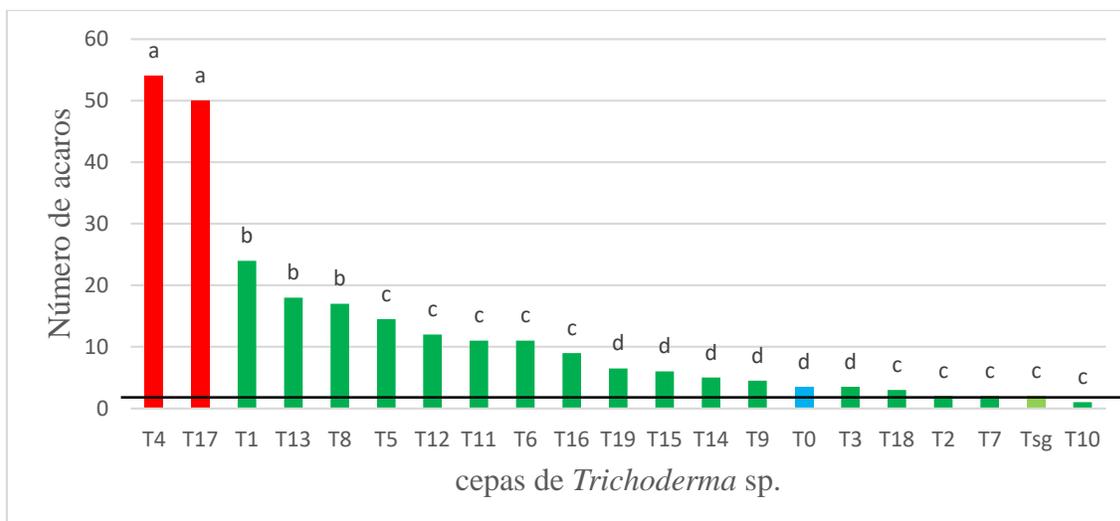


Figura 20. Efecto de las cepas de *Trichoderma* spp. sobre el número de ácaros en el cultivo de la papa variedad DESIRÉE.

Los ácaros oribátidos, constituyen uno de los grupos de microartrópodos edáficos numéricamente predominantes en el horizonte orgánico de la mayoría de los suelos, donde sus densidades pueden alcanzar los 50000 ácaros por metro cuadrado en los primeros diez centímetros del suelo. Se han descrito alrededor de 7000 especies, representando cerca de 1000 géneros que se atribuyen a más de 150 familias (Yina *et al.* 2013).

V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados y los resultados obtenidos en la investigación realizada se tienen las siguientes conclusiones:

El efecto que presentaron las diferentes cepas nativas de *Trichoderma* spp. en plantas de papa variedad DESIRÉE atacadas por *Globodera* spp., se observó menor cantidad de quistes de nematodos con la inoculación de las cepas de *Trichoderma* spp., respecto al testigo con nematodo.

En el desarrollo de plantas de papa atacadas con *Globodera* spp. se observó una mayor altura de planta con la inoculación de las cepas T7, T11, T19, T8, T15, T12, y T4. de *Trichoderma* spp. en comparación a ambos testigos, para diámetro de tallo las cepas no mostraron diferencias, excepto la cepa T1, donde se evaluó plantas con tallos más delgados.

El número de tubérculos fue similar con la inoculación de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp. excepto con la inoculación de la cepa T1, donde se observó un mayor número de tubérculos en relación al testigo con nematodo, el cual desarrolló menor número de tubérculos. Por otra parte, el testigo absoluto desarrolló mayor cantidad de tubérculos.

En el rendimiento se observó mayor peso de tubérculos con la inoculación de la cepa T11 a pesar de tener el ataque de nematodo, demostrando que la cepa de *Trichoderma* spp. induce tolerancia a través del mecanismo de ISR. Asimismo, el testigo absoluto desarrolló relativamente mayor peso de tubérculos.

En general, estos resultados demuestran que el hongo nativo *Trichoderma* spp. tiene la capacidad de inducir tolerancia a través de un mecanismo poco comprendido, el cual será necesario ampliar posteriormente en este estudio.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña I. y P. Tejada. 2020. Enfermedades causadas por nemátodo. manual interactivo de la papa INIAF-Chile. _nemátodo del quiste nemátodo dorado: (*Globodera rostochiensis*) nemátodo pálido (*Globodera pallida*). Sintomatología.
- Altomare C. A. Norvell.T Björkman, G Harman. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. 1999.
- Baños Y. A. Concepción Lazo. Gonzales R. Morejón L. 2010. Efecto de enmiendas orgánicas y *Trichoderma* spp. en el manejo de *Meloidogyne* spp. Rev. Bras. de Agroecología. vol 5 N2: 224 – 233 P.
- Belkis P. O. Delgado. 2020. La resistencia inducida como alternativa para el manejo de plagas en las plantas de cultivo. Grupo de Fitopatología. Dirección de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.
- Börkman T. L. Blanchard. G. Harman. 1998. Growth enhancement of shrunken-2 sweet corn by *Trichoderma harzianum*: effect of environmental stress. Amer J. Soc. Hort. Sci 1998: Vol 23N. 295-322 p.
- Cano M. 2011. Interacción de microorganismos benéficos en plantas: micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica. 14: 15-31 p.
- Cárdenas Y. 2010. Métodos de conservación y formulación de *Trichoderma harzianum* rifai. (en línea) consultado: 26 de marzo de 2010.
- Carrión Y. D. Rojas. C. Reno. 2013. Distribución poblacional del nematodo quiste de la papa (*Globodera* sp) en dos zonas productoras de los municipios de Tausa (Cundinamarca) y Ventaquemada (Boyacá), Tesis de pregrado. Corporación Universitaria Minuto de Dios, Bogotá D.C.

- Cid del PI. 2015. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria.FICHA TECNICA. Nematodo dorado *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) (Skarbilovich, 1959). 5-6 p.
- Coca M. 2012. Una mirada al cultivo de la papa en Bolivia. Resumen, Departamento de Fitotecnia y Producción Vegetal. Facultad de Ciencias Agrícolas, Pecuarias, Forestales y Veterinarias. Universidad Mayor de San Simón. Cochabamba, Bolivia. 19 p.
- Contreras C. Macías. L. Rodríguez. C. Cortes. P. López. J. Bucio. 2009. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth an auxin-dependent mecanismo in Arabidopsis.Plant Physio vol. 1:149 p.
- Coto A. 2005. Ministerio de Agricultura y Ganadería. El nematodo blanco de la papa (*Globodera pallida* Stone), Cartago Costa Rica, Ministerio de Agricultura y Ganadería. Servicio fitosanitario del Estado. 1-6 p.
- Cubillos J.L. Mejía y N. Valero. 2009. *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener). Agron. Colomb. 27: 81-86 p.
- Dandurand L. y M. Knudsen. 2016. Effect of the trap crop *Solanum sisymbriifolium* and two biocontrol fungi on reproduction of the potato cyst nematode, *Globodera pallida*. Ann. Appl. Biol. 169, 180–189 p.
- Delgado R. P. Jatala, E. Gineau. 1991. Distribución del nematodo quiste de la papa (*Globodera pallida*) en el Departamento de Cusco, Perú. Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú.
- Diaz N. 2012. Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos una revisión de agentes bióticos y abióticos como inductores de resistencia a enfermedades en el cultivo de papa, Saltillo México. Vol.- 2: 257-267 p.
- Ezziyyani M., C. Pérez., A. Sid., M. Candela., 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum*

- annuum* L.). Tesis de Maestría, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Biología, Universidad de Murcia. Murcia, España.
- Franco J. J. Ramos. R. Oros. G. Main y N. Ortuño. 1998-1999. Pérdidas económicas causadas por *Nacobbus aberrans* y *Globodera* spp. En el cultivo de la papa en Bolivia. Revista Latinoamericana de la Papa 11: 40-66 p.
- Franco J. 1986. Nematodo de quites de la papa *Globodera* sp Boletín de Formación Técnica, Centro Internacional de la Papa, Lima, 21 p.
- Franco J. 2008. Manejo integrado de los nematodos de la papa. Fundación PROINPA. XXIII Congreso de ALAP. Mar de Plata, Argentina. Pérdidas causadas por el nematodo Quiste de la papa (*Globodera* sp.) en Bolivia y Perú. Revista Latinoamericana de la Papa. Fundación PROINPA.
- Franco J. G. Main. Y N. Ortuño 2009. *GLOBODERA Globodera rostochiensis* y *Globodera padilla*. In Gandarillas, A y Ortuño, N. “Compendio de enfermedades insectos, nematodos, factores abióticos que afectan el cultivo de papa en Bolivia” Fundación PROINPA. Cochabamba, Bolivia. 140 p.
- Grego N. y R. Crosinglio. 1995. nematodos del quiste de la papa, *Globodera rostochiensis* y *G. pallida*: aspectos generales. Fitopatología venezolana. Vol.-8- 2:26-32.
- Guillen C. A. Soto. y M. Springer. 2006. variables físicas, químicas y biológicas del suelo sobre las poblaciones de colémbolos en Costa Rica. En: Agronomía Costarricense, 30(2), 19-29 p.
- Harman G. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 190p.
- Harman G. C. Howell. A. I. Chet. Y M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species: opportunistic, avirulent plant symbionts. Nat. Rev. 2, 43–56p.
- Hernández T. I. Carrión, y G. Heredia. 2011. Solubilización *in vitro* de fosfatos por una cepa de *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson. *Agrociencia* 45: 881-892 p.
- Howell R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts.

- Infante D. Martínez, B. Gonzales, N. Reyes, Y. 2009. Mecanismos de Acción De *Trichoderma* Frente a Hongos Fitopatógenos. Dpto. Fitopatología, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). La Habana Cuba. Revista Protección Vegetal 24(1). 8 p.
- Martínez C. y C. Huaman. 2017. Programa de papa: aspectos fisiológicos en el cultivo de papa. Perú. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima - Perú. p. 37.
- Martínez SPP.E. Solórzano. Sosa del Castillo. D. Martínez. 2011. Efecto De Activadores Biológicos y Químicos En La Inducción de Resistencia Sistémica Adquirida y Parámetros Productivos Del Tomate Frente a *Alternaria solani* en Campo. Estudios Interdisciplinarios, 19-33 p.
- Momo F. y L. Falco. 2015. LA MESOFAUNA DEL SUELO. BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA Biology and ecology of the soil mesofauna. Ecología. Universidad Nacional de Luján. Departamento de Ciencias Básicas. CC 221 – B6700ZAB Luján – Argentina.
- Ortuño N. R. Oros. y G. Main. 2005. Desarrollo del Manejo Integrado del Nematodo rosario de la papa *Nacobbus aberrans* en Bolivia.
- Patiño L. 2008. Resistencia inducida mediante sustancias químicas a enfermedades en plantas causadas por hongos. POLITÉCNICA Colombiano Jaime Isaza cadavid No.7. 103 – 115 p.
- PROINPA (Promoción e Investigación de Productos Andinos). 2009. Informe Anual. Fundación PROINPA. Cochabamba, Bolivia p irr.
- Reyes I. 2016. Inducción de resistencia (IDR) versus inducción de susceptibilidad (IDS) en el cultivo de la papa. 216. Univ. San Francisco de Quito – USFQ. Quito, Ecuador.
- Rivas E. 2005. Determinación de la presencia de nematodos de quiste asociados al cultivo de papa *Solanum tuberosum* L. en los Municipios de Patzún y Zaragoza, Chimaltenango. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Agronomía Instituto de Investigaciones Agronómicas. 20-30 p.
- Rodríguez L. 2010. Origen y evolución de la papa cultivada. Departamento de Agronomía, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá (Colombia). Fitomejoramiento, recursos genéticos y biología molecular. Vol. I. 87 p.

- Rodríguez R. 2007. El cultivo moderno del tomate. 4 ed. Leo prensa, Madrid. 132 p.
- Salazar L. Aponte, María de J. Alcano. H. Nelly. Jessica J. Guzmán. 2012. Importancia de las especies de *Trichoderma* para el control de *Macrophomina phaseolina* en las áreas agrícolas del Estado Aragua, Venezuela. Investigadores. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-CENIAP). Maracay 2101. Estado Aragua. Venezuela.
- Socarrás A. 2013. Mesofauna edáfica: indicador biológico de la calidad del suelo. Soil mesofauna: biological indicator of soil quality. ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN. Instituto de Ecología y Sistemática, CITMA. Carretera de Varona km 3 ½, Capdevila, Boyeros, CP 10800, La Habana, Cuba.
- Soria E. 2019. Inducción de tolerancia al ataque de *Globodera* spp. con microorganismos promotores de crecimiento en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum tuberosum*). 1-45 p.
- Suarez Y. C. Reno, y A. Cotes. 2009. Introducción de resistencia sistémica contra *Fusarium oxysporium* en tomate por *Trichoderma koningiopsis* Th003. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA A. A. 240142, Las Palmas, Bogotá D.C; Colombia. S.
- Talavera M. 2003. Manual de nematología agrícola. Introducción al análisis y al control nematológico para agricultores y técnicos de agrupaciones de defensa vegetal. Institut de Recerca i Formacio Agraria i Pesquera Conselleria d Agricultura i Pesca de les Illes Balears libro. 2-5 p.
- Tovar J. 2008. Evaluación de la capacidad antagonista "in vivo" de aislamiento de *Trichoderma* spp. frente al hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani*. Tesis de pregrado. Pontificia Universidad Javeriana.
- Ugarte ML. 1992. Descripción y clasificación morfológica de especies y cultivares de papa del Banco de Germoplasma de Bolivia. Tesis Lic. Ing. Agr. Cochabamba. Bolivia Universidad Mayor de san Simón.
- Valencia E. 1998. Inducción de resistencia sistémica (ISR) a *Sclerotinia* en lechuga por *Trichoderma* sp. G 98-6-171-173. p.

Yina M. Y J. Antonio. 2013. Bacca ácaros oribátidos presentes en seis sistemas de uso del suelo en obouco, pasto (Nariño). Boletín científico centro de museos museo de historian. N 61-68. P.

Zeballos H. F. Balderrama. B. Condori. J. Blajos. 2009. Economía de la papa en Bolivia (1998 – 2007). Fundación PROINPA. Cochabamba, Bolivia. 129 p.