

Efecto de Métodos y Dosis de Aplicación de *Trichoderma Viride* en la Aclimatación y Crecimiento de Vitroplantas de Papa Variedad Imilla Negra Durante las Épocas de Invierno y Primavera.

Effect of the methods and application rates of *Trichoderma viride* on acclimatization and growth of vitroplants of potato variety black Imilla during periods of winter and spring.

Ing. M. Sc. Juan Larico Vera^{a*} Ing. M. Sc. Betsabe Leon^b

^{ab}Docentes, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno

*Correspondencia e-mail: juanlaricovera@yahoo.es

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Artículo recibido 30-10-2015
Artículo aceptado 14-03-2016
Online: 25-03-2016

PALABRAS CLAVES:

Trichoderma,
micropropagación,
vitroplantas,
aclimatación

ARTICLE INFO

Article received 30-10-2015
Article accepted 14-03-2016
Online: 25-03-2016

KEY WORDS:

Trichoderma,
micropropagation,
vitroplants,
acclimatization

RESUMEN

La investigación se realizó con el objetivo de determinar efecto de los métodos y dosis de aplicación de *Trichoderma viride* en la aclimatación y crecimiento de vitroplantas de papa variedad Imilla negra establecidas en el invernadero durante las épocas de invierno y primavera en el Laboratorio de Cultivo de tejidos e invernadero de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano, durante los meses de octubre del 2014 a mayo 2015. Las vitroplantas papa variedad Imilla negra Para lo cual, se aplicó tres dosis de *T. viride* como unidades formadoras de colonia (ufc) (D0: 0, D1: 1x107 y D2: 1x106ufc) a través de dos métodos: M1: infestación al suelo (ufc.gr de suelo-1) y M2: inmersión de raíces de vitroplantas de 25 días de edad (1x107ufc.ml de agua-1). Las vitroplantas de 25 días de edad fueron aclimatadas y mantenidas en el invernadero durante seis meses. Se evaluó el porcentaje de sobrevivencia de plántulas (S), altura de planta (AP), y número (NT) y peso de tubérculos (PT) por planta. Los valores más altos de S, AP, NT y PT se presentó en la época de primavera con 53.33%, 21.72cm, 7.87 tubérculos.planta-1 y 70.09 gr.planta-1 respectivamente en comparación a la época de invierno que presento los valores más bajos. Los valores más altos de S se dieron en el M1 con 49.26% en comparación del M2 con 40%; sin embargo, en la variable PT de vitroplantas, en el M2 se presentó los valores más altos con 40.81 gr.planta-1. La D1 de *T. viride* tuvo mejor efecto en la S y PT con 56.67% y 52.80 gr.planta-1 respectivamente en comparación a la D2 y D0 que mostraron menor efecto.0

ABSTRAC

La investigación se realizó con el objetivo de determinar efecto de los métodos y dosis de aplicación de *Trichoderma viride* en la aclimatación y crecimiento de vitroplantas de papa variedad Imilla negra establecidas en el invernadero durante las épocas de invierno y primavera en el Laboratorio de Cultivo de tejidos e invernadero de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano, durante los meses de octubre del 2014 a mayo 2015. Las vitroplantas papa variedad Imilla negra Para lo cual, se aplicó tres dosis de *T. viride* como unidades formadoras de colonia (ufc) (D0: 0, D1: 1x107 y D2: 1x106ufc) a través de dos métodos: M1: infestación al suelo (ufc.gr de suelo-1) y M2: inmersión de raíces de vitroplantas de 25 días de edad (1x107ufc.ml de agua-1). Las vitroplantas de 25 días de edad fueron aclimatadas y mantenidas en el invernadero durante seis meses. Se evaluó el porcentaje de sobrevivencia de plántulas (S), altura de planta (AP), y número (NT) y peso de tubérculos (PT) por planta. Los valores más altos de S, AP, NT y PT se presentó en la época de primavera con 53.33%, 21.72cm, 7.87 tubérculos.planta-1 y 70.09 gr.planta-1 respectivamente en comparación a la época de invierno que presento los valores más bajos. Los valores más altos de S se dieron en el M1 con 49.26% en comparación del M2 con 40%; sin embargo, en la variable PT de vitroplantas, en el M2 se presentó los valores más altos con 40.81 gr.planta-1. La D1 de *T. viride* tuvo mejor efecto en la S y PT con 56.67% y 52.80 gr.planta-1 respectivamente en comparación a la D2 y D0 que mostraron menor efecto.0

INTRODUCCIÓN

El cultivo de tejidos *In vitro* es una alternativa eficiente para obtener nuevas plantas en cantidad y calidad libre de enfermedades y con mejores condiciones orientadas a reducir costos en cultivos convencionales (Razdan, 2003). La forma convencional de producción de semilla pre básica de papa es multiplicando material limpio de cultivos *In vitro* en el invernadero, usando sustrato esterilizado. Siendo, uno de los mayores problemas de los productores de papa, es el limitado acceso a la semilla certificada, debido a que existen instituciones que producen estas semillas pero no abastecen a la Región Puno, lo que condiciona a los productores a utilizar semilla de papa de mala calidad en las épocas donde no hay disponibilidad, con riesgo de contaminarse con enfermedades y plagas; y a veces hasta usan papa de consumo como semilla tubérculo para la siembra; así mismo, su costo de la semilla certificada en la actualidad es alto.

El proceso de producción de semilla de papa certificada inicia con el cultivo de tejidos vegetales (cultivo *In vitro*), y el manejo de plántulas en invernadero, y estas son multiplicadas con alta tecnología en el campo, para las categorías: básica, registrada y certificada, en lotes establecidos con productores de semillas, que cumplan con los estándares establecidos en la Ley de Semillas y la Normativa de la Semilla de la Papa (Lizárraga et al., 1991).

Así mismo, la baja producción de semilla pre-básica de papa y las condiciones climáticas de la época de invierno en la Región de Puno, desfavorecen la producción de estas semillas en condiciones de invernadero, motivo por el cual en el presente trabajo de investigación, se utilizó *Trichoderma viride*, para desinfectar el sustrato suelo y tener un éxito en la aclimatación y desarrollo de vitroplantas en época de invierno y primavera. Siendo, *Trichoderma* un hongo que induce a la planta resistencia a factores bióticos y abióticos, 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.

Las especies de *Trichoderma* normalmente son consideradas como habitantes saprofitos del suelo, pero algunos existen en las plantas hospedantes como simbioses que interactúan con la planta. Así mismo, se cree que estas especies influyen el crecimiento de la planta, aumentando el sistema radicular mediante la

formación de pelos absorbentes, y hace que la planta tenga mayor área radicular y así mejorar el desarrollo fisiológico (Harman et al., 2004; Vinale et al., 2008). Además, especies de *Trichoderma* tienen una actividad antagónica sobre patógenos del suelo como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium ultimum* y *Fusarium oxysporum*, causantes de enfermedades importantes en cultivos rábano, clavel, frijol, tomate, café, haba y cítricos entre otros (Tovar, 2008). Esta situación condujo a la realización del presente trabajo de investigación con los siguientes objetivos: Determinar el efecto de los métodos y dosis de aplicación de *Trichoderma viride* en la aclimatación y desarrollo de vitroplantas de papa establecidas en el invernadero durante las épocas de invierno y primavera.

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MICROPROPAGACIÓN DE PLANTAS

Para la producción de plántulas de papa *In vitro*, se preparó medio de cultivo a base de Sales basales de Murashige y Skoog (Sales MS), sobre este medio se transfirió tejidos de las yemas de vitroplantas provenientes de plantas madres libre de enfermedades y fueron incubados en una cámara de cultivo a 20°C y un fotoperiodo de 16 horas luz durante 25 días (Rigato et al., 2000).

2.2. ACLIMATACIÓN DE VITROPLANTAS Y APLICACIÓN DE *Trichoderma viride*

La fase de aclimatación y establecimiento de vitroplantas se realizó en el invernadero del Programa de papa, localizado en la escuela profesional de Ingeniería Agronómica de la Facultad de Ciencias Agrarias – UNA Puno durante los meses de noviembre 2014 a mayo del 2015.

2.2.1. Preparación de sustrato suelo

El sustrato de suelo que se utilizó estuvo compuesto de suelo agrícola, materia orgánica y humus de lombriz a una proporción de 7:1:1 respectivamente. El suelo agrícola fue utilizado por 7 años consecutivos para la producción de semilla pre básica de papa. El sustrato (120 kg) fue depositado en las cama de propagación de 1.5 m² por cada repetición.

2.2. Aplicación de *Trichoderma*

Previo a la aplicación de la cepa comercial de *Trichoderma viride*, se produjo conidias del hongo en sustrato arroz según la metodología propuesta por Stefanova (1997), se llegó a obtener una concentración de 5.8 x 10⁹ ufc. gr de arroz-1. Posteriormente, se obtuvo una suspensión de conidias del hongo para la aplicación mediante dos métodos y tres dosis (Cuadro 1).

Cuadro 1. Métodos y dosis de *T. viride* para el establecimiento de vitroplantas durante las épocas de invierno y primavera.

METODO DE INOCULACION DE <i>T. viride</i>	DOSIS
METODO 1: INFESTACION DEL SUELO	D1: 210 gr arroz/ 120 kg suelo (1x10 ⁶ ufc de <i>Trichoderma</i> .gr de suelo ⁻¹)
METODO 1: INFESTACION DEL SUELO	D2: 21 gr arroz/ 120 kg suelo (1x10 ⁶ ufc de <i>Trichoderma</i> .gr de suelo ⁻¹)
METODO 1: INFESTACION DEL SUELO	D0: Agua
METODO 2: INMERSION RAICES	D1: 17 ml de suspensión de conidias (1x10 ⁷ ufc de <i>Trichoderma</i> .ml de agua ⁻¹). 100 ml de agua ⁻¹
METODO 2: INMERSION RAICES	D2: 1.7 ml de suspensión de conidias ¹ (1x10 ⁶ ufc de <i>Trichoderma</i> .ml de agua ⁻¹). 100 ml de agua ⁻¹
METODO 2: INMERSION RAICES	D2: 1.7 ml de suspensión de conidias ¹ (1x10 ⁶ ufc de <i>Trichoderma</i> .ml de agua ⁻¹). 100 ml de agua ⁻¹
METODO 2: INMERSION RAICES	D0: Agua

Fuente: Elaboración propia

- Método 1: Infestación del suelo

La aplicación de *Trichoderma* al suelo se realizó un día antes del trasplante de las vitroplantas en el invernadero. Se aplicó una suspensión de conidias de este hongo al sustrato suelo con un volumen de agua para que el suelo se encuentre a capacidad de campo hasta el momento del trasplante.

- Método 2. Inmersión de raíces

El día del trasplante de vitroplantas, las raíces fueron sumergidas en una suspensión de conidias de *T. viride* de 100 ml de agua destilada estéril durante 5 min, luego fueron trasplantadas en las camas ubicadas en el invernadero.

2.2.3 Trasplante de vitroplantas

Previamente se retiró las vitroplantas de 25 días de edad de los frascos y se colocaron en una bandeja con agua durante 48 horas. Posteriormente fueron llevadas al invernadero, para ser trasplantadas en el sustrato a un distanciamiento de 20 cm entre plantas y 25 cm entre surcos, y fueron cubiertas con tela blanca durante una semana. Por cada repetición se empleó 45 vitroplantas. Se realizó riegos interdiarios hasta la floración. Se evaluó el porcentaje de sobrevivencia de plántulas a los 10 días de establecido; así mismo, se realizó mediciones de altura de planta a las 10 semanas después del trasplante.

2.3. DISEÑO ESTADÍSTICO

El experimento se realizó bajo un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial de 2x2x3 (dos épocas de trasplante, dos métodos de aplicación de *Trichoderma viride* y tres dosis) con 3 repeticiones y cada repetición constituida por 15 vitroplantas de papa (unidad experimental). Los datos fueron expresados como porcentaje de sobrevivencia de vitroplantas, altura de planta, número y peso de tubérculos. Estos datos fueron ajustados a una prueba ANOVA y la comparación de medias a una prueba de Duncan, con un nivel de significancia de p=0.05.

Cuadro 2. Número total de tratamientos para el establecimiento de vitroplantas de papa durante las épocas de invierno y primavera con la aplicación de dos métodos y tres dosis de *Trichoderma viride*.

TRATAMIENTO	EPOCA	METODO	DOSIS
T1	INVIERNO	M1-SUELO	D1
T2	INVIERNO	M1-SUELO	D2
T3	INVIERNO	M1-SUELO	D0
T4	INVIERNO	M2-RAIZ	D1
T5	INVIERNO	M2-RAIZ	D2
T6	INVIERNO	M2-RAIZ	D0
T7	PRIMAVERA	M1-SUELO	D1
T8	PRIMAVERA	M1-SUELO	D2
T9	PRIMAVERA	M1-SUELO	D0
T10	PRIMAVERA	M2-RAIZ	D1
T11	PRIMAVERA	M2-RAIZ	D2
T12	PRIMAVERA	M2-RAIZ	D0

2.4 PARÁMETROS DE EVALUACIÓN

- Sobrevivencia.
- Se contó el número de vitroplantas que sobrevivieron durante la aclimatación en el invernadero.
- Altura de planta.
- Se registró la altura desde la base del tallo hasta el ápice de la planta, esto con ayuda de una regla metálica milimetrada de 30 cm.
- Número de tubérculos.
- Se contó el número de tubérculos producido por cada planta que permaneció viva hasta dos semanas antes de la cosecha.
- Peso de tubérculos.
- Se pesó el total de tubérculos por cada planta que permaneció viva hasta dos semanas antes de la cosecha.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Efecto de los métodos de aplicación de *Trichoderma viride* en la aclimatación y crecimiento de vitroplantas de papa establecidas en el invernadero durante las épocas de invierno y primavera.

Los resultados del análisis de varianza (Anexos 1, 2, 3 y 4), muestran que: para el factor época, existen diferencias significativas, lo que indica que las épocas en estudio tienen influencia en los cuatro parámetros de evaluación; mientras que, en el factor método solo existen diferencias significativas en el parámetro porcentaje de sobrevivencia y peso de tubérculos a diferencia de altura de planta y número de tubérculos no hubo diferencias significativas, cuyo comportamiento del hongo *Trichoderma viride* fue igual en ambos métodos, y en el factor dosis existen diferencias significativas en el parámetro porcentaje de sobrevivencia, altura de planta y peso de tubérculos.

La época de primavera fue el que presentó los valores más altos de sobrevivencia, altura de planta, número y peso de tubérculos con 53.33 %, 21,72 cm, 7.87 tubérculos/planta y 70.09 gr. / planta respectivamente en comparación a la época de invierno donde se presentaron los valores más bajos (cuadro 3), debido a los factores climáticos que se presentaron durante el invierno que fueron desfavorables para el desarrollo de las vitroplantas a diferencia de la época de primavera donde se desarrollaron bajo condiciones climáticas favorables para el cultivo de papa (INIAA, 1990). Así mismo, el hongo *Trichoderma viride* tiene mejor efecto en la época de primavera por la temperatura y humedad que son favorables para el desarrollo del hongo (Cruz y Lina, 2007; Wakelin et al., 1999). La población de *Trichoderma* decrece especialmente cuando la humedad del ambiente desciende por largos periodos de tiempo. Otros estudios han determinado que el pH, la concentración de CO₂, HCO₃, sales y el contenido de materia orgánica son factores físicos y químicos determinantes para la variación de la poblacional de *Trichoderma*, además de la presencia o ausencia de otros microorganismos en el ambiente (Fonseca, 1998).

Así mismo, los valores más altos de sobrevivencia a las siete semanas después del trasplante se dieron en el método 1 (Infestación del suelo) con 49.26 % de sobrevivencia hasta la semana 7 después del trasplante en comparación del método 2 (Inmersión de raíces) que presentaron los valores más bajos con 40 %, debido a que el hongo se desarrolló mejor en el suelo por ser saprofito. Así mismo se observa en el cuadro 5 y figura 1, los tratamientos que fueron aplicados con *Trichoderma* por el método 1 fueron superiores al método 2 en comparación del testigo; sin embargo, en la variable peso de tubérculos de vitroplantas, en el método 2 se presentó los valores más altos con 40.81 gr./planta (figura 2), estos resultados se dieron por que este hongo tiene la capacidad de multiplicarse en el suelo y colonizar las raíces de las plantas liberando factores de crecimiento (auxinas, giberelinas y citoquininas) que estimulan la germinación y el desarrollo de las plantas (Altomare et al., 1999). Además, se ha reportado la producción de ácido 3-indol acético (AIA), sustancia que actúa como hormona vegetal que favorece el desarrollo del sistema radical, entre otros beneficios (Valencia et al., 2005). Estas sustancias producidas por *Trichoderma* actúan como catalizadores o aceleradores de los tejidos meristemáticos primarios en las partes jóvenes de la planta, acelerando su reproducción celular, logrando que las plantas se desarrollen más rápido en comparación con plantas que no han sido tratadas con dicho microorganismo (Valencia et al. 2005).

Cuadro 3. Efecto de *Trichoderma viride* en la sobrevivencia, altura de planta, número y peso de tubérculos de vitroplantas de papa durante las épocas de invierno y primavera.

EPOCA	SOBREVIVENCIA (%)		ALTURA PLANTA (cm)		NRO. DE TUBERCULOS /PLANTA		PESO DE TUBERCULOS (gr./planta)
PRIMAVERA	53.33	A	21.72	A	7.87	A	70.09 A
INVIERNO	35.93	B	3.25	B	0.76	B	1.79 B

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Cuadro 4. Efecto de los métodos de aplicación de *Trichoderma viride* en la sobrevivencia, altura de planta y número y peso de tubérculos de vitroplantas de papa durante las épocas de invierno y primavera.

MÉTODO	SOBREVIVENCIA (%)		ALTURA PLANTA (cm)		NRO. DE TUBERCULOS /PLANTA		PESO DE TUBERCULOS (gr./planta)
M1-SUELO	49.26	A	13.3	A	3.86	A	31.06 B
M2-RAIZ	40	B	11.67	A	4.77	A	40.81 A

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

Cuadro 5. Efecto de las épocas, métodos y dosis de aplicación de *Trichoderma viride* en la sobrevivencia, altura de planta, número y peso de tubérculos de vitroplantas de papa.

TRATAMIENTO	EPOCA	METODO	DOSIS	SOBREVIVENCIA (%)	ALTURA PLANTA (cm)	NRO DE TUBERCULOS/PLANTA	PESO (gr./planta)
T1	INVIERNO	M1-SUELO	D1	44.44 BCD	3.06 D	0.9 C	2.73 C
T2	INVIERNO	M1-SUELO	D2	31.11 CDE	3.1 D	0.75 C	1.58 C
T3	INVIERNO	M1-SUELO	D0	28.89 CDE	3.63 D	0.59 C	1.06 C
T4	INVIERNO	M2-RAIZ	D1	62.22 AB	4.28 CD	1.02 C	3.11 C
T5	INVIERNO	M2-RAIZ	D2	20 E	3.06 D	0.59 C	1.02 C
T6	INVIERNO	M2-RAIZ	D0	28.89 CDE	2.36 D	0.72 C	1.22 C
T7	PRIMAVERA	M1-SUELO	D1	66.67 AB	30.06 A	6.15 B	103.95 A
T8	PRIMAVERA	M1-SUELO	D2	75.55 A	28.27 A	6.25 B	32.64 B
T9	PRIMAVERA	M1-SUELO	D0	48.89 BCD	11.67 BC	8.5 AB	44.43 B
T10	PRIMAVERA	M2-RAIZ	D1	53.33 ABC	19 B	7.39 AB	101.43 A
T11	PRIMAVERA	M2-RAIZ	D2	26.67 DE	29.67 A	10.42 A	93.63 A
T12	PRIMAVERA	M2-RAIZ	D0	48.89 BCD	11.67 BC	8.5 AB	44.43 B

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)



Figura 1. Efecto de *Trichoderma viride* en la sobrevivencia y altura de vitroplantas en la época de invierno y primavera a las diez semanas después del trasplante.



Figura 2. Efecto de *Trichoderma viride* en número y peso de tubérculos por planta en la época de invierno y primavera.

3.2 Dosis adecuada de *Trichoderma viride* para la aclimatación y crecimiento de vitroplantas de papa variedad imilla negra durante las épocas de invierno y primavera.

El cuadro 6, muestra el efecto de las dosis de aplicación de *Trichoderma viride* en la sobrevivencia, altura de planta, número y peso de tubérculos de vitroplantas de papa durante las épocas de invierno y primavera, donde existen diferencias significativas entre las dosis de los parámetros % de sobrevivencia, altura de planta y peso de tubérculos en comparación de número de tubérculos no existen diferencias significativas. La Dosis 1 (D1), dosis más alta de *Trichoderma* fue el que tuvo mejor efecto en la sobrevivencia de las vitroplantas con 56.67% en comparación de las Dosis(D2) y Testigo(D0) que tuvieron menor efecto y entre ellos no existen diferencias significativas, lo cual nos indican que en la dosis más baja, *T. viride* no tuvo efecto en la sobrevivencia, siendo su comportamiento igual que el testigo; sin embargo, en altura de planta, los tratamientos que fueron aplicados con *T. viride* con D1 y D2 no mostraron diferencias significativas entre ellos, pero si con el testigo (D0), a diferencia del parámetro peso de tubérculos si existen diferencias significativas entre las dosis, siendo la D1 el que presento mayor rendimiento(52.8 gr./planta) seguido de D2 (32.27 gr./planta) en comparación del testigo que presento el menor rendimiento (22.74 g/planta).

Estos resultados coinciden con Pérez (2007), quien reporto que la utilización de sustratos con combinaciones de arena esterilizada + *Trichoderma* + micorriza, fueron los mejores resultados en altura de planta, número de hojas y en el endurecimiento de vitroplantas de mora. Así mismo, *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). Además, Bjorkman *et al.*,

(1995), mencionan que *Trichoderma* estimula el crecimiento de raíces en plantas de maíz, 50% mayor que las plantas testigo. La estimulación de crecimiento es un proceso común en *Trichoderma*, ya que se ha reportado dicho efecto en varias especies, entre ellas: *Trichoderma harzianum* (Chang *et al.*, 1986; Harman, 2000), *Trichoderma virens* (Ousley *et al.*, 1994), y *Trichoderma koningii* (Windham and Baker, 1986).

Así mismo, en la figura 3 se observa el efecto de las dosis y métodos de aplicación de *Trichoderma viride* en la sobrevivencia de vitroplantas de papa evaluadas durante siete semanas en las épocas de invierno y primavera, siendo la época de primavera la tuvo mayor porcentaje de sobrevivencia hasta la semana 7 en comparación a la época de primavera; también, se observa que el Método 1 fue el que presentó mayor efecto en la sobrevivencia a diferencia del Método 2 y Testigo.

Cuadro 6. Efecto de las dosis de aplicación de *Trichoderma viride* en la sobrevivencia, altura de planta y numero de tubérculos de vitroplantas de papa durante las épocas de invierno y primavera.

DOSIS	SOBREVIVENCIA (%)	ALTURA PLANTA (cm)	NRO. DE TUBERCULOS/PLANTA	PESO DE TUBERCULOS (gr./planta)
D1	56.67 A	14.11 A	3.86 A	52.8 A
D2	38.33 B	15.98 A	4.54 A	32.27 B
D0	38.89 B	7.36 B	4.54 A	22.74 C

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0.05)

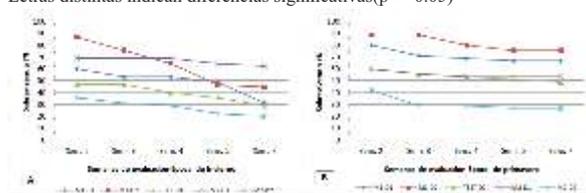


Figura 3. Efecto de *Trichoderma viride* en la sobrevivencia de vitroplantas de papa durante las épocas de invierno (A) y primavera(B).

CONCLUSIONES

- 4.1 La época de primavera fue el que presentó los valores más altos de sobrevivencia, altura de planta, número y peso de tubérculos con 53.33 %, 21,72 cm, 7.87 tubérculos.planta-1 y 70.09 gr.planta-1 respectivamente en comparación a la época de invierno donde se presentaron los valores más bajos.
- 4.2 Los valores más altos de sobrevivencia se dieron en el método 1 (Infestación del suelo) con 49.26 % de sobrevivencia en comparación del método 2 (Inmersión de raíces) que presentaron los valores

más bajos con 40 %; sin embargo, en la variable peso de tubérculos de vitroplantas, en el método 2 se presentó los valores más altos con 40.81 gr.planta-1

- 4.3. La dosis más alta de *Trichoderma* (D1) fue el que tuvo mejor efecto en la sobrevivencia de las vitroplantas y peso de tubérculos de papa con 56.67% y 52.8 gr.planta-1 respectivamente en comparación de la Dosis baja (D2) y Testigo (D0) que tuvieron menor efecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G.E. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Appl. Environ. Microb.* 65(7), 2926-2933.
- BJORKMAN, T., HARMAN G. E.; BLANCHARD L. 1995. Root development in sweet-corn inoculated with the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. *HortScience* 30(4): 810 (Abstr.)
- 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.
- 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.
- STEFANOVA, M. 1997. «Biopreparados de *Trichoderma*: una forma de lucha efectiva contra patógenos fúngicos del suelo», *Agricultura Orgánica* nos. 2 y 3, agost.-dic., 1997, pp. 22-24.
- 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.
- HARMAN, G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Dis.* 84:377-393.
- 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.
- INIAA. 1990. Cultivo de papa dulce en Puno. Instituto Nacional de Investigación Agraria y Agroindustrial. Estación experimental Illpa Puno.
- LIZÁRRAGA, R.; PANTA, A.; JAYASINGHE, U.; DODDS, J. 1991. En: Cultivo de Tejidos para la Eliminación de Patógenos. Guía de investigación CIP No. 3, p. 11.
- 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.
- PAPAVIZAS, G. 1985. *Trichoderma* y *Gliocladium*. Biology, Ecology and potential for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology* 23: 23-54.
- PEREZ, M.J. 2007. Efecto de cuatro substratos en el endurecimiento de vitroplantas de Mora (*Rubus glaucus* benth) variedad Risaralda, en el Municipio de las Sabanas, Departamento de Madriz. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo Generalista. UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA FACULTAD DE AGRONOMIA Departamento de Producción Vegetal. Nicaragua. 36p.
- RAZDAN, M.K. 2003. Introduction to plant tissue culture. 2ª ed. Enfield. New Hampshire, U.S.A. 375 p.
- RIGATO, S.; GONZALEZ A. Y HUARTE, M. 2000. Producción de plántulas de papa a partir de técnicas combinadas de micropropagación e hidroponía para la obtención de semilla prebásica. XIX Congreso de la Asociación Latinoamericana de la Papa, 28 de febrero a 3 de marzo del 2000, La Habana, Cuba. Memorias de presentaciones orales, p 155.
- TOVAR, J. C. 2008. Evaluación de la capacidad

- antagónica “in vivo” de aislamientos de *Trichoderma* spp. frente al hongo fitopatogénico *Rhizoctonia solani*. Tesis para optar el título de Microbiólogo agrícola y veterinario. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. D.C. 81 p.
- VALENCIA, H.; SÁNCHEZ, J. Y VALERO, N. 2005. Producción de ácido indolacético por microorganismos solubilizadores de fosfato presentes en la rizósfera de *Espeletia grandiflora* y *Calamagrostis effusa* del Páramo el Granizo. p. 177-193. En: Bonilla, M. (ed.). Estrategias adaptativas de plantas de páramo y del bosque altoandino en la cordillera oriental de Colombia. Unibiblos, Bogotá.
- 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.
- WAKELIN, S. A.; SIVASITHAMPARAM, K.; COLE, A. L. J.; SKIPP, R. A. 1999. Saprophytic growth in soil of a strain of *Trichoderma koningii*. New Zeland Journal of Agricultural research. Vol 42: 37-345.
- WINDHAM, M.; ELAD, Y.; BAKER, R. 1986. A mechanism for increased plant grows induced by *Trichoderma* spp. Phytopathol. 76, 518-521.

ANEXOS

Anexo 1. Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) del efecto de *Trichoderma viride* en la sobrevivencia de vitroplantas de papa a las siete semanas después del trasplante.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4266.22	11	387.84	6.1	0.0001
EPOCA	1140.3	1	1140.3	17.92	0.0003
METODO	385.14	1	385.14	6.05	0.0215
DOSIS	1070.43	2	535.21	8.41	0.0017
EPOCA*METODO	335.93	1	335.93	5.28	0.0306
EPOCA*DOSIS	275.27	2	137.64	2.16	0.1368
METODO*DOSIS	890.58	2	445.29	7	0.004
EPOCA*METODO*DOSIS	168.58	2	84.29	1.32	0.2846
Error	1526.97	24	63.62		
Total	5793.19	35			
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
sobrevivencia	36	0.74	0.62	19.24	

Anexo 2. Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) del efecto de *Trichoderma viride* en la altura de planta (cm) de vitroplantas de papa a las nueve semanas después del trasplante.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4232.88	11	384.81	20.3	<0.0001
EPOCA	3071.38	1	3071.38	162.01	<0.0001
METODO	23.72	1	23.72	1.25	0.2744
DOSIS	493.49	2	246.75	13.02	0.0001
EPOCA*METODO	22.91	1	22.91	1.21	0.2825
EPOCA*DOSIS	477.31	2	238.66	12.59	0.0002
METODO*DOSIS	49.36	2	24.68	1.3	0.2906
EPOCA*METODO*DOSIS	94.71	2	47.35	2.5	0.1034
Error	454.99	24	18.96		
Total	4687.87	35			
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Altura de Planta	36	0.9	0.86	34.87	

Panexo 3. Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) del efecto de *Trichoderma viride* en el numero de tuberculos (tuberculos/planta) de vitroplantas de papa.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	35.89	11	3.26	42.83	<0.0001
EPOCA	34.44	1	34.44	452.03	<0.0001
METODO	0.2	1	0.2	2.6	0.12
DOSIS	0.03	2	0.01	0.17	0.8457
EPOCA*METODO	0.28		0.28	3.71	0.066
EPOCA*DOSIS	0.47	2	0.23	3.08	0.0645
METODO*DOSIS	0.12	2	0.06	0.76	0.4793
EPOCA*METODO*DOSIS	0.36	2	0.18	2.39	0.1134
Error	1.83	24	0.08		
Total	37.72	35			

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Nro tubérculos	36	0.95	0.93	15.27

Anexo 4. Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) del efecto de *Trichoderma viride* en el peso de tubérculos (gr./planta) de vitroplantas de papa.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	58198.12	11	5290.74	102.73	<0.0001
EPOCA	41980.6	1	41980.6	5.11	<0.0001
METODO	854.49	1	854.49	16.59	0.0004
DOSIS	5666.89	2	2833.45	55.02	<0.0001
EPOCA*METODO	854.88	1	854.88	16.6	0.0004
EPOCA*DOSIS	4961.66	2	2480.83	48.17	<0.0001
METODO*DOSIS	1905.61	2	952.8	18.5	<0.0001
EPOCA*METODO*DOSIS	1974	2	987	19.16	<0.0001
Error	1236.07	24	51.5		
Total	59434.2	35			

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso	36	0.98	0.97	19.97