



FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

TESIS:

“MEJORA AMBIENTAL EN EL CULTIVO DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.) UTILIZANDO HONGOS ENDÓFITOS, EN EL CONTROL DE *Meloidogyne incognita* –SAN MARTÍN – 2014”

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AMBIENTAL

PRESENTADA POR:

Bach. SUSY DELY MEJÍA OLIVERA

ASESOR:

Dr. FROY TORRES DELGADO

TARAPOTO, PERÚ

2016

DEDICATORIA:

A todas las personas que hicieron posible la realización de este trabajo, en especial a mis padres **Candelario Mejía y Consuelo Olivera**, que siempre están conmigo brindándome apoyo moral, económico y por el invaluable ejemplo de vida y amor que me dieron durante todos estos años; que tuvieron la voluntad de hacerme estudiar y llegar así a ser una profesional.

A mi esposo **Naiver Saavedra**, por su paciencia, motivación y apoyo económico; también a mi hija **Briana Kolieth** a quien amo y llevo siempre en mi corazón y en mi pensamiento.

A mis hermanos **Osben, Sonia y Kevin** quienes siempre me apoyan y ayudan con sus consejos a tomar las mejores decisiones, por las enseñanzas y la dirección de continuar por el camino del bien en la vida.

A mi tía **Emelina Olivera** por sus bendiciones y fortaleza constante y enseñanza en los valores de la vida, apoyo incondicional y por el continuo empuje en culminar las metas trazadas.

A mi tío **Anselmo Peña**, quien al partir al cielo dejó un gran vacío pero me enseñó a valorar a las personas que amo.

Susy Dely Mejía Olivera

AGRADECIMIENTO:

A nuestro señor Jesucristo por haberme brindado sabiduría y fe, para poder lograr mis objetivos, y por haber estado conmigo en este camino de grandes luchas, y así llegar a ser un profesional.

A mis padres, por su apoyo moral y espiritual, y principalmente por su amor de padres. Agradezco a mi esposo y hermanos por su ayuda espiritual e incondicional para culminar mi carrera profesional.

Agradezco grandemente por influir en la redacción de este trabajo, el asesor de tesis al Dr. Froy Torres Delgado, por orientar y poner sus conocimientos en la realización del estudio y por su paciencia, e interés.

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) – San Martín, que colaboró en la realización de esta investigación, por abrirme las puertas y darme la oportunidad de realizar este proyecto, financiado por el proyecto con contrato N°164-FINCyT-IA-2013: Generación de Tecnologías para el control integrado del nemátodo del nudo (*Meloidogyne incognita*) de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.); asimismo a mi coordinador el Ing. Kadir Márquez Dávila, por haberme guiado y apoyado en su totalidad, a lo largo de mi investigación, compartiendo sus conocimientos.

ÍNDICE

Dedicatoria	i
Agradecimiento	ii
Resumen	viii
Abstract	ix
Introducción	x
Capítulo I: Problema	01
1.1 Planteamiento del problema	01
1.2 Formulación del problema	02
1.2.1 Problema General	02
1.2.2 Problemas Específicos	02
1.3 Objetivos	03
1.3.1 Objetivo General	03
1.3.2 Objetivo Especifico	03
1.4 Justificación	03
Capitulo II: Marco Teórico	06
2.1 Antecedentes	06
2.2 Bases Teóricas	11
2.3 Hipótesis	16
2.4 Variables de estudio	17
Capitulo III: Metodología de la Investigación	19
3.1 Ámbito de estudio	19

3.2	Tipo de Investigación	21
3.3	Nivel de investigación	21
3.4	Método de Investigación	21
3.5	Diseño de Investigación	32
3.6	Población, Muestra, Muestreo	33
	3.6.1 Población	33
	3.6.2 Muestra	33
	3.6.3 Muestreo	33
3.7	Técnicas e instrumentos de recolección de datos	33
	3.7.1 Técnicas de recolección de datos	33
	3.7.2 Instrumentos de recolección de datos	34
3.8	Procedimiento de recolección de datos	34
3.9	Técnicas de procesamiento y análisis de datos	34
	3.9.1 Técnicas de procesamiento	34
	3.9.2 Análisis de datos	35
	Capítulo IV: Resultados	36
4.1	Presentación de Resultados	36
4.2	Discusión	47
	Conclusiones	50
	Recomendaciones	51
	Referencia Bibliográfica	52
	Anexos	58

ANEXOS:

Anexo 01. Hongos endófitos.....	59
Anexo 02. Siembra de plantas de <i>Plukenetia volubilis</i> L.....	59
Anexo 03. Macetas colonizadas con hongos endófitos.....	60
Anexo 04. Extracción de <i>Meloidogyne incognita</i>	60
Anexo 05. Evaluaciones de las plantas de <i>Plukenetia volubilis</i> L.....	61
Anexo 016. Sacrificio de las plantas de <i>Plukenetia volubilis</i> L.....	61
Anexo 07. Determinación de capacidad endofítica.....	62

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 01. Operacionalización de hipótesis, variables e indicadores.....	18
Tabla 02. Georreferenciación de las plantas muestreadas.....	23
Tabla 03. Diez aislamientos de Clonostachys y diez de Trichoderma	27
Tabla 04. Géneros de hongos endófitos aislados de Sacha Inchi.....	36
Tabla 05: Determinación Índice de Shannon – Wiener	39
Tabla 06: Determinación de incremento de altura.....	62
Tabla 07: Determinación del índice de crecimiento de Clonostachys y el Control.....	63
Tabla 08: Determinación del índice de crecimiento de Trichoderma.....	63
Tabla 09: Determinación del diámetro de tallo	64
Tabla 10: Determinación de la longitud de raíz.....	64
Tabla 11: Determinación del índice de esbeltez de Trichoderma y el Control.....	65
Tabla 12: Determinación del índice de esbeltez de Clonostachys.	65
Tabla 13: Determinación de número de nódulos.....	66
Tabla 14: Determinación de capacidad endofítica.....	66

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfica N° 01: Dendograma basada en el índice de Shannon.....	38
Gráfica N° 02: Índice de crecimiento de Sacha inchi.....	40
Gráfica N° 03: Incremento del altura	41
Gráfica N° 04. Incremento del diámetro.....	42
Gráfica N° 05. Longitud de raíces	43
Gráfica N° 06. Índice de Esbeltez.....	44
Gráfica N° 07: Número de nódulos.....	45
Gráfica N° 08: Porcentaje de colonización.....	46

MAPAS

Mapa 01: Ubicación geográfica de la zona de estudio.....	20
--	----

INDICE DE IMÁGENES

Imagen 01. Diseños a aplicar en el periodo de evaluación de cada género32

RESUMEN

La presente tesis logra una visión en la mejora ambiental por la producción de SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.) mediante el uso de hongos endófitos propios, para controlar a *Meloidogyne incognita* (nematodo del nudo de la raíz). Se colectaron hongos endófitos de tallo y hojas de siete especies de Sacha Inchi (*P. volubilis* L., *P. huayllabambana*, *P. carolis-vegae*, *P. polyadenia*, *P. lorentensis*, *P. brachybotrya* y *Plukenetia* sp.) de diferentes regiones como Amazonas, San Martín y Loreto que se encontraron en su estado natural; para luego ser llevados al laboratorio para su respectivo estudio.

Mediante claves taxonómicas se logró identificar 10 géneros de hongos endófitos; utilizando el índice de Shannon – Whiener y considerando sus antecedentes como controladores biológicos se seleccionaron dos géneros: *Trichoderma* y *Clonostachys*. Se usó el diseño completamente al azar, conformado por 30 plantones de *P. volubilis* L. (10 repeticiones por género y 10 controles). Los plantones se sometieron a evaluaciones durante 45 días después de la inoculación del nemátodo realizado a los 18 días de germinación de dichos plantones. Los parámetros a evaluar fueron: índice de crecimiento, altura de la planta, diámetro de tallo, longitud de raíz, índice de esbeltez, número de nódulos y capacidad endofítica.

Se dedujo que entre los controladores biológicos *Trichoderma* y *Clonostachys*, el que da mayores beneficios a la planta en cuando a los parámetros evaluados es *Trichoderma*, mientras que del género *Clonostachys* solo beneficia a la planta en un parámetro. Concluyendo que mediante la aplicación de esta técnica se logra la mejora ambiental evitando la contaminación del suelo y el agua, produciendo biocontroladores de nemátodos para reducir la aplicación de nematicidas; se recomienda la continuidad de la investigación y el uso de hongos endófitos.

Palabras claves: Hongos endófitos, mejora ambiental, controladores biológicos.

ABSTRACT

This thesis achieves insight into the environmental improvement for the production of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) using endophytes own, to control *Meloidogyne incognita* (nematode root knot). Endophytes of stem and leaves of seven species were collected Sacha Inchi (*P. volubilis* L., *P. huayllabambana*, *P. carolis-vegae*, *P. polyadenia*, *P. loretensis*, *P. brachybotrya* and *Plukenetia* sp.) From different regions Amazonas, San Martin and Loreto that were found in its natural state; before being taken to the laboratory for study.

By taxonomic keys were successfully identified 10 genera of endophytes; *Trichoderma* and *Clonostachys*: - using the Shannon Whiener and considering his background as biological controls both genders were selected. Completely randomized design, consisting of 30 seedlings of *P. volubilis* L. (10 repetitions by gender and 10 controls) was used. The seedlings were subjected to evaluations for 45 days after nematode inoculation performed at 18 days of germination of said plants. The parameters evaluated were: growth rate, plant height, stem diameter, root length, slenderness ratio, number of nodules and endophytic ability.

It was deduced that among the biological control *Trichoderma* and *Clonostachys*, which gives greater benefits to the plant when the evaluated parameters is *Trichoderma*, while gender *Clonostachys* only benefits the plant in a parameter. Concluding that by applying this technique environmental improvement is achieved by avoiding the contamination of soil and water, producing biocontrol of nematodes to reduce the application of nematicides; the continuity of research and the use of endophytes is recommended.

Keywords: Fungal endophytes, environmental improvement, biological control agents.

INTRODUCCIÓN

SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.), es una planta rastrera nativa de la Amazonía Peruana descrita por primera vez como especie, en el año 1753 por el naturalista Linneo; este cultivo también conocido como maní del monte, viene introduciéndose al mundo de la economía agrícola, por sus valores alimenticios y medicinales. *P. volubilis* L., es una planta rastrera que crece en forma silvestre o cultivada en los predios de los productores agropecuarios de la selva alta y baja; en altitudes que van entre los 80 a 1500 metros sobre el nivel del mar y a temperaturas óptimas de 22 a 32 grados centígrados. **(INIA, 2006)**

A este cultivo afectan muchos factores de la producción, entre ellos tenemos el conocido nemátodo *Meloidogyne sp.*, principal problema fitosanitario. Estos nemátodos se aprovechan de las raíces impidiendo el normal funcionamiento fisiológico de las raíces y el transporte de agua, afectando los procesos fotosintéticos, de respiración y transpiración de la planta, disminuyendo la producción agrícola reduciendo el rendimiento del cultivo. *Meloidogyne incognita* (NEMÁTODO EL NUDO DE LA RAÍZ), se encuentra distribuido en todo el mundo y son muy maléficos para gran cantidad de cultivos, ya que se fijan y se nutren de las raíces y provocan la aparición de células gigantes que forman una agalla. **(Cabrera, 2009)**

Para ello hemos visto que en la agricultura, los agroquímicos son los principales insumos empleados para el control de enfermedades; éstas son sustancias químicas que producen innumerables efectos indeseados sobre el ecosistema, induciendo a la generación de microorganismos resistentes o “pestes”, persistencia ambiental de residuos tóxicos, contaminación de suelos y recursos hídricos, alterando el equilibrio ambiental. **(Cruzat e Ionannidis, 2008)**

Una de las alternativas más promisorias para disminuir el impacto ambiental causado por el frecuente uso de productos químicos para el control de plagas y enfermedades de plantas se centra en la utilización de agentes de control biológico. Las especies del género *Trichoderma* y *Clonostachys* son los antagonistas más utilizados

debido a su ubicuidad, a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos ya que no son patógenas de plantas. *Trichoderma* puede estar en el suelo, colonizar y proteger las raíces de las plantas, o mediante aplicaciones foliares prevenir enfermedades (Álvarez, 2013).

En el trabajo de investigación se usaron dos (2) géneros de hongos endófitos: *Clonostachys* y *Trichoderma*; que por sus antecedentes tienen el potencial de controlar el nemátodos fitoparásitos; dando una fuente de alternativa, por ser amigables con el ambiente, y favorables desde el punto de vista económico, y social. Estos géneros fueron extraídos de siete especies de sachá inchi: *P. volubilis* L., *P. huayllabambana*, *P. carolis-vegae*, *P. polyadenia*, *P. lorentensis*, *P. brachybotrya* y *Plukenetia* sp., de las cuales se observaron sus efectos en el control del nemátodo, teniendo como población de prueba a 30 plantones de *P. volubilis* L., lo cual se sometieron a las evaluaciones de los parámetros respectivos durante 45 días después de la inoculación de *M. incognita*.

CAPÍTULO I: PROBLEMA

1.1 Planteamiento del Problema

Debido a la creciente necesidad de disminuir el uso de los agroquímicos en los sistemas de producción agrícola, que son contaminantes del agua superficial y subterránea, el estado natural del suelo y del ambiente, se desarrolla el estudio de los hongos endófitos utilizados para el control biológico de fito-nemátodos, lo cual viene adquiriendo gran importancia durante los últimos años.

Una de las principales limitantes del uso de los nematicidas es que su aplicación frecuente modifica la microflora y microfauna del suelo. Otro aspecto importante es que, para que el nematicida mate o inactive al nemátodo debe haber contacto entre ellos, ya sea a través de la penetración de la cutícula o por ingestión durante la alimentación, por lo que no afecta a los nemátodos al interior de la planta.

Es sabido, que el cultivo de *P. volubilis* L., en los últimos años ha venido tomando importancia económica a nivel mundial, sin embargo; no escapa al problema fitosanitario causado por diversas especies de nemátodos, como es el caso de *M. incognita* que ataca las raíces de las plantas, produciendo agallas o nódulos; por lo que son considerados como parásitos internos de las raíces de cientos de especies vegetales, incluyendo muchas plantas de importancia agrícola. Está completamente establecido que el ataque de *M. incognita*, es uno de los principales problemas que afecta las plantaciones, y su combate constituye uno de los costos más altos del cultivo.

En el ámbito comercial las grandes extensiones de cultivos para exportación se han basado en el uso de nematicidas. Esto, además de constituir una práctica de alto costo económico, afecta negativamente las poblaciones de enemigos naturales de los nemátodos presentes en el suelo. Asimismo, los nematicidas representan una conocida amenaza para la salud humana y ambiental,

siendo sus ingredientes activos los más tóxicos utilizados en la agricultura. (Chaves, 2007).

La efectividad de los microorganismos endófitos como antagonistas de los fito-nemátodos ha sido ampliamente estudiada y comprobada en diversos cultivos; reduciendo la aplicación de nematicidas, la contaminación directa del suelo, y del ambiente.

El presente trabajo de investigación se basó en la mejora ambiental en la producción de Sacha Inchi, identificando sus propios hongos endófitos de hojas y tallos que controlen a *M. incognita*; asimismo, usarlos como alternativa de control, y mitigar la contaminación por el uso de agroquímicos, reemplazándolos por controladores biológicos.

1.2 Formulación del Problema

1.2.1 Problema general

- ✓ ¿Cómo mejorar la calidad ambiental en el cultivo de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) utilizando hongos endófitos, para el control de *Meloidogyne incognita* (NEMÁTODO DEL NUDO DE LA RAÍZ)?

1.2.2 Problemas específicos

- ✓ ¿Cuáles son los géneros de los hongos endófitos identificados a nivel de laboratorio, en Sachá inchi?
- ✓ ¿Qué género de hongo endófito presenta mejores resultados para el desarrollo de Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L.)?
- ✓ ¿Cuál es la capacidad de control al nemátodo *Meloidogyne incognita* (NEMÁTODO DEL NUDO DE LA RAÍZ) en condiciones controladas?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

- ✓ Mejorar la calidad ambiental en el cultivo de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) utilizando hongos endófitos, para el control de *Meloidogyne incognita* (NEMÁTODO DEL NUDO DE LA RAÍZ).

1.3.2 Objetivos específicos

- ✓ Identificar a nivel de laboratorio, los géneros de hongos endófitos presentes en Sachá inchi.
- ✓ Identificar el tratamiento que muestra mayor desarrollo para el Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L.).
- ✓ Determinar la capacidad de control de hongos endófitos al nemátodo *Meloidogyne incognita* (NEMÁTODO DEL NUDO DE LA RAÍZ) en condiciones controladas.

1.4 Justificación de la Investigación

P. volubilis L., es una planta rastrera que pertenece a la familia euphorbiaceae que comúnmente se conoce como maní del monte, Sachá inchi o maní del inca. Es un cultivo nativo de la región Amazónica. Tiene amplia adaptación a diferentes tipos de suelo y buen comportamiento a diversas temperaturas que caracterizan a la Amazonía Peruana, por lo que puede ser empleado en programas de recuperación de áreas degradadas en las regiones de la Selva peruana.

Se desarrolla mejor en climas cálidos, además crece y tiene buen comportamiento a diversas temperaturas que caracterizan a la Amazonía peruana (mín. 22° C y máx. 32° C). Precipitaciones de 850 – 1000 mm, pH de 4.5 – 6.5,

y altitud mínima de 80 m.s.n.m. y máxima de 1500 m.s.n.m. **(INIA, 2006)**

Actualmente se ha tomado mayor importancia a este cultivo, teniendo mayor impulso de biocomercio, exportándolo desde el año 2005 desde entonces se han registrado crecientes volúmenes de venta a diversos mercados del mundo.

En cuanto a importancia socioeconómica ha tenido gran acogida, debido a los ácidos grasos insaturados (omega 3, 6, y 9) que posee, le otorga expectativas económicas similares en el mercado global a las del café, cacao y madera. Esto ha motivado que a partir del 2007, agricultores de diversas provincias de la selva peruana inicien la siembra del sacha Inchi, siendo la región San Martín el principal productor. **(Amacifuén, y col. 2009)**

Los nemátodos constituyen un grupo de microorganismos importantes en el suelo, habitante de diversas hábitats y constituyen uno de los grupos más numerosos y diversos.

Un grupo de ellos son parásitos de plantas, entre ellos *M. incognita*, nemátodo que induce formación de nódulos y agallas en raíces de *P. volubilis* L.; se alimentan de las raíces y poseen hábito endoparásito sedentario; éste problema fitosanitario es una de las causas principales que retrasa el desarrollo del cultivo en la región, ya que este cultivo es altamente susceptible a *M. incognita*, por lo cual tiene bajos rendimientos. A consecuencia del ataque de los nemátodos la planta queda debilitada y permite el ingreso del hongo *Fusarium spp.*, principal causante de la muerte de las plantaciones. **(García, 2003).**

Los hongos endófitos, vienen mostrando un gran potencial como biocontroladores de plagas y enfermedades de diversos cultivos.

Los microorganismos endófitos que viven en hojas y tallos del arbusto de *P. volubilis* L. no inducen ningún síntoma de enfermedad, ellos han evolucionado con el árbol y así la riqueza de la biota endofítica, puede proporcionar un control biológico eficiente para las enfermedades **(Baralt y col., 2012).**

Uno de los grandes retos importantes que enfrenta la agricultura actual, se plantea también la necesidad de disminuir el uso de insecticidas, nematicidas, fungicidas químicos.

El interés es múltiple; por un lado, reducir el riesgo de que haya residuos en los alimentos, máxime cuando se consumen en fresco. Por otro lado, aumentar la seguridad laboral del agricultor y, finalmente, preservar el ambiente, mediante programas que respondan a una agricultura de manejo sostenible, que responda a la creciente preocupación de nuestra sociedad. **(Piedra, R., 2007.)**

El uso de hongos endófitos propios del SACHA INCHI, para el control del nemátodo *M. incognita* constituye una alternativa biológica de protección eficiente y sostenible, debido a la interacción patógeno-antagonista ocurre directamente.

La capacidad de hongos endófitos de colonizar el tejido de la planta confiere bioprotección a la planta hospedera contra el ataque del nemátodo, constituyendo herramientas apropiados para el manejo de plagas agrícolas **(Meneses, 2007).**

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

“Manejo biológico de nemátodos fitoparásitos con hongos y bacterias” - Hace mención que uno de los grandes retos importantes que enfrenta la agricultura actual, se plantea también la necesidad de disminuir el uso de insecticidas, nematicidas, fungicidas químicos.

El interés es múltiple; por un lado, reducir el riesgo de que haya residuos en los alimentos, máxime cuando se consumen en fresco. Por otro lado, aumentar la seguridad laboral del agricultor y, finalmente, preservar el ambiente, mediante programas que respondan a una agricultura de manejo sostenible, que responda a la creciente preocupación de nuestra sociedad.

Una de las alternativas que existen para reducir la utilización de insecticidas, nematicidas, y fungicidas es el uso del manejo biológico de plagas; es decir, la utilización de organismos vivos para combatir las plagas y enfermedades que afectan a los cultivos. El manejo biológico es un componente esencial, tanto en el control integrado de enfermedades y plagas, como en la agricultura ecológica sostenible. En la actualidad, los más utilizados son nematicidas no fumigantes. Es precisamente que surge como necesario dentro del concepto de agricultura sostenible fomentar un tema de gran importancia, como lo es la sustitución de nematicidas químicos por nematicidas biológicos, utilizando hongos y bacterias dentro de un programa de manejo integrado de cultivos agrícolas.

El control biológico de nemátodos formadores de agallas abarca una gran diversidad de organismos que viven en el suelo, conocidos como enemigos naturales de los nemátodos que atacan a las plantas. También es importante mencionar uno de los hongos más ampliamente probados para el control de nemátodos es del género *Trichoderma*. (Piedra, R., 2007.)

“Efecto antagónico in vitro de *Clonostachys rosea* sobre *Botrytis cinérea* procedente de cultivos de *Vitis vinífera*” - Define a *Clonostachys*, como una especie de hongo en la familia Bionectriaceae, coloniza las plantas vivas como un endófito, digiere el material en el suelo como un saprófito y también se conoce como un parásito de otros hongos y de los nemátodos. Se produce una amplia gama de compuestos orgánicos volátiles que son tóxicos para los organismos, incluyendo otros hongos, bacterias e insectos, y es de interés como agente de control biológico de plagas y enfermedades.

Los nemátodos son infectados por *Clonostachys* cuando los conidios del hongo se adhieren a la cutícula y al germinar, va a producir tubos germinales que penetran en el cuerpo del anfitrión y lo matan. Una alternativa no química para el combate de enfermedades en la agricultura es el uso de biocontroladores. *Clonostachys rosea* hongo habitante en el suelo con elevado potencial antagónico que coloniza las plantas vivas como endófitos, digiere el material en el suelo como saprófito y también es conocido como un parásito de otros hongos y de nemátodos.

Los biocontroles atribuidos son: micoparasitismo, competencia por los nutrientes, y antibiosis. Siendo el micoparasitismo el principal mecanismo de acción de este hongo; este biocontrolador cubre al hongo, ataca y penetra en sus células, causándole un daño extensivo alterando y degradando la pared celular, causa retracción de la membrana plasmática y desorganización del citoplasma. A su vez concluye que la *Clonostachys rosea* presenta un efecto antagónico sobre *Botrytis cinérea*. **(Rodríguez, M., 2013)**

“Producción artesanal de *Trichoderma*” - El género *Trichoderma* fue identificado en 1871 y ha sido ampliamente estudiado, se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas. Lo podemos encontrar en diferentes zonas y hábitats, especialmente donde existe materia orgánica o desechos vegetales en descomposición, así como en residuos de cultivos.

Su desarrollo se ve favorecido por la presencia de altas densidades de raíces, las cuales coloniza rápidamente. Esta capacidad de adaptación a diversas condiciones ambientales y sustratos confiere a *Trichoderma* la posibilidad de ser utilizado en diferentes suelos, cultivos, climas y procesos tecnológicos para su multiplicación. Es un hongo anaerobio facultativo. La mayoría de las colonias de *Trichoderma* en su inicio tienen color blanco, después se torna a verde oscuro o amarillento, como consecuencia de una densa esporulación; produce dos tipos de propágulos: hifas, y esporas (conidias).

Las conidias son verdaderas semillas que utiliza el hongo para colonizar nuevos sustratos. *Trichoderma* asimila como fuente de nitrógeno compuestos tales como aminoácidos, urea, nitritos; es un hongo con una alta capacidad de tolerar un amplio rango de temperaturas, presentando una amplia distribución ecológica. Los valores óptimos para su crecimiento y esporulación oscilan alrededor de los 25°C.

En los años 90, se ha descrito la capacidad de género de *Trichoderma* como agentes responsables de la síntesis de sustancias causantes de inducción de resistencia en plantas. Pudiendo 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 sistémica inducida de la planta. El género *Trichoderma* tiene cinco especies consideradas como antagonistas: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma viride*. (Álvarez, N., 2013)

“El género fúngico *Trichoderma*” - Las especies de hongos que pertenecen al género *Trichoderma* han sido plenamente caracterizadas por tener aplicación en el ámbito agrícola, principalmente para el control biológico de otros organismos patógenos que atacan a los cultivos.

Los hongos del género *Trichoderma* se pueden encontrar en la rizósfera, donde son capaces de competir por nutrientes y espacio con otros microorganismos. Además, este grupo fúngico es importante para las plantas, al

contribuir en el control de hongos fitopatógenos y nemátodos ya que poseen propiedades micoparasíticas y antibióticas, por lo que algunas especies han sido catalogadas como excelentes agentes de control biológico, causantes de enfermedades para diferentes plantas. Los miembros del género *Trichoderma* tienen el potencial de sintetizar y liberar enzimas como: celulasas, y quitinasas, las cuales se han aprovechado en procesos industriales.

Las especies del género *Trichoderma* pueden producir diversos metabolitos secundarios dentro de los que se encuentran algunas toxinas como la gliotoxina. Los antecedentes mencionados resaltan la importancia y los efectos benéficos que tienen las especies de *Trichoderma* para la producción agrícola y para la industria. **(Argumedo, y col., 2009).**

Trichoderma, alternativa para el control biológico de nemátodos dentro de una agricultura sostenible - Varios autores coinciden al afirmar que el hongo antagonista *Trichoderma* es un biorregulador efectivo contra nematodos del género *Meloidogyne*, donde se pone de manifiesto la acción de sus toxinas e hifas. Las especies del género *Trichoderma* son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidos por hongos y nemátodos, debido a su ubicuidad, a su facilidad para ser aislados y cultivados, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos.

Muchos mecanismos de acción de *Trichoderma* son considerados importantes en la actividad antagónica entre ellos: competencia por nutrientes indispensables para la germinación de esporas o por sitios de infección, el micoparasitismo y en ello el papel de diferentes sustancias, y la antibiosis con la producción de enzimas y metabolitos secundarios que son indispensables en muchas interacciones que causan la destrucción del patógeno.

Tiene como ventaja que ayuda a descomponer materia orgánica, haciendo que los nutrientes se conviertan en formas disponibles para la planta, por lo tanto tiene efecto indirecto en la nutrición del cultivo, la preservación del medio ambiente

al disminuir el uso de fungicidas químicos. Puede ser aplicado en compostaje o materia orgánica en descomposición para acelerar el proceso de maduración de éstos materiales, los cuales a su vez contendrán altas cantidades de microorganismos benéficos, cumpliendo también función de biofungicida. Bajo costo, comparado con productos alternativos (extractos vegetales). Es un agente natural, no agresivo con plantas o suelos. **(Pérez y col., 2009.)**

Proyecto SNIP: 234347 - Mejoramiento del servicio de competitividad de la cadena de valor de sacha inchi a los productores en cuatro provincias de la región San Martín - Manejo Integrado del Cultivo de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.)

Para el control de comedores y cortadores de hoja y enfermedades, aplicar de 200 a 250 ml de bioinsecticida de ají más ajo, más 30 ml de aceite vegetal/moch. De 15 litros. Para el control de nemátodos aplicar materia orgánica, enraizadores y uso de coberturas de cultivos repelentes. **(DRASAM, 2016)**

Programa Nacional de Innovación Agraria en Cultivos Agroindustriales - El INIA, viene ejecutando el “Plan Estratégico de Investigación e Innovación Tecnológica para el Mejoramiento de la Productividad y Competitividad de los Cultivos Agroindustriales en el Perú”, con la finalidad de generar nuevas oportunidades y fortalecer las ventajas comparativas que para la competitividad poseen los cultivos agroindustriales. Se busca que la actividad de producir estos cultivos en el Perú sea una actividad rentable para los productores, y que a la vez permita abastecer los crecientes requerimientos de la industria nacional tanto en cantidad como principalmente en calidad.

Tiene como objetivo contribuir al fortalecimiento e incrementar el nivel competitivo del cultivo de sacha inchi con alto contenido de aceites omegas y tolerantes a nemátodos, a través del desarrollo de líneas élites óptima para la región oriental del país. Teniendo como principales logros: Desarrollo de 10 líneas élites de sacha inchi con alta productividad y un elevado contenidos de aceites y con niveles de tolerancia a *Meloidogyne* sp. Estos resultados permitirán obtener la

primera variedad de sachá inchi para la Amazonía peruana. Evaluación de 50 progenies producto de cruces de medios hermanos, para el desarrollo de nuevas variedades tolerantes a factores bióticos y abióticos. Implementación de un sistema de manejo integrado en sachá inchi, con la implementación de leguminosas como cobertura, tutores vivos y un control biológico con bioinsecticida (INIA, 2016).

En el proyecto Mejora de la Oferta del Servicio de Transferencia Tecnológica en el IIAP San Martín SNIP: 144385; en su manual técnico de Manejo Agronómico, menciona que los agricultores asocian al Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) con cultivos de cobertura.

Asimismo deducen que el cultivo de sachá inchi reduce la erosión, incrementa la fertilidad del suelo, reducen la malezas y los costos de deshierbos, incrementan la disponibilidad de agua y reducen las plagas y enfermedades así mismo promueven la conservación de los suelos y la biodiversidad nativa, haciendo del sachá inchi un cultivo en proceso de transición hacia el manejo sostenible (IIAP, 2014).

2.2 Bases Teóricas

Los Hongos endófitos habitan en el interior de las plantas durante todo o parte de su ciclo de vida sin causarles síntomas aparentes. Los hongos endófitos colonizan normalmente el espacio intercelular de la planta a la que infectan, localizándose tanto en las partes aéreas como en las subterráneas. (Herrero, 20011).

El nemátodo (*Meloidogyne incognita*) son un parásito de plantas, que mide entre 0,5 y 6,5 mm. Su cuerpo está cubierto por una cutícula que puede ser lisa o marcada. Se conoce vulgarmente como gusano redondo, debido a la forma de su cuerpo en un corte transversal. Tiene sistema digestivo, reproductivo, nervioso y excretor. *Meloidogyne incognita*, se caracteriza por presentar en las hembras un patrón perineal con arco dorsal alto y cuadrado, estrías lisas u onduladas y campos laterales ausentes. (Cabrera, 2009)

Los factores que influyen en el desarrollo de los nemátodos son las temperaturas inferiores a 15.4 °C, las hembras no llegan a alcanzar su madurez. **(Carranza, 2004).**

Plukenetia volubilis L., “Sacha Inchi” Es una Euphorbiaceae conocido como maní del monte, sacha maní o maní del inca. Se encuentra distribuida desde América Central y en el Perú se le encuentra en estado silvestre en diversos lugares.

Es una planta que se adapta a suelos arcillosos y ácidos, se adapta mejor en climas cálidos. Sacha Inchi se siembra con tutores vivos al contorno de los cerros (laderas), protegería a los suelos de la erosión indiscriminada, situación en la que se encuentran la mayoría de los suelos de la Región San Martín.

Taxonomía *Plukenetia volubilis* L., “Sacha Inchi”

Reino: *Plantae*

Subreino: *Tracheobionta*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Rosidae*

Orden: *Malpighiales*

Familia: *Euphorbiaceae*

Subfamilia: *Acalyphoideae*

Género: *Plukenetia*

Especie: *P. volubilis* L.

(INIA, 2006).

La morfología general de sachá inchi “*Plukenetia volubilis* L.” son que sus hojas son alternas, de color verde oscuro, oval elípticas, aseruladas y pinnatinervias, de 09 – 16 cm de largo y 06 – 10 cm. ancho. El ápice es puntiagudo y la base es plana o semi arriñonada. Debido a resultados obtenidos en proyectos indican que el cultivo presenta un alto porcentaje de polinización cruzada, lo cual implica que se trata de una especie alógama. Sus frutos presentan una cápsula, de 3,5 a 4,5 cm. de diámetro, con 04 lóbulos aristados dentro de los cuales se encuentran 4 semillas

(excepcionalmente algunos). Sus semillas son ovaladas, de color marrón oscuro, ligeramente abultadas en el centro y aplastadas hacia el borde. Según los ecotipos, el diámetro fluctúa entre 1,3 y 2,1 cm. **(INIA, 2006)**.

Las temperaturas adaptables a Sacha Inchi está entre 22 y 32 °C, las temperaturas altas son desfavorables por que ocasiona aborto en flores y la conformación de semillas pequeñas. La luz es otro factor ecológico importante en esta especie; mientras más luz reciba la cubierta vegetal, mayor es la población de brotes, flores y frutos.

Para su producción los suelos deben ser de buen drenaje y buena aireación. (no tolera suelos húmedos). De ácidos a ligeramente ácidos. (pH 4.5 a 6.5). De preferencia suelo franco, franco arcilloso a franco arenoso; también suelo franco limoso, franco arcillo arenoso y franco arcillo limoso. En cuanto a su altitud la planta de Sacha Inchi se adapta desde los 80 a 1500 msnm, **(Amacifuén y col., 2009)**

El control de malezas en Sacha Inchi se efectúa cuando se observa la aparición de plantas extrañas y se efectúa en una forma manual con la ayuda de una lampa o azadón. Para el control de plagas y enfermedades como queresas, hormigas, comedores de hoja, etc.; es aconsejable usar Barbasco y para las enfermedades que ocasionan muerte en flores de la inflorescencia masculina, secado de guías, etc.; se utiliza fungicidas en una forma rotativa.

Las plagas más comunes en el sachá inchi tenemos a las hormigas indaneras y azucareras, diabroticas, grillos cortadores, chupadera fungosa, nemátodo del nudo, antracnosis, ect. **(DRASAM, 2016)**

Bases Legales

Constitución política del Perú Artículo 2°, 67°, 69°

Nos menciona que toda persona tiene derecho a la paz, a la tranquilidad, al disfrute del tiempo libre y al descanso, así como a gozar de un ambiente equilibrado y

adecuado al desarrollo de su vida y que los recursos naturales, renovables y no renovables, son patrimonio de la Nación; promoviendo así el desarrollo sostenible de la Amazonia con una legislación adecuada.

Ley N° 28611: Ley general del ambiente, Artículo 1°

Toda persona tiene el derecho irrenunciable a vivir en un ambiente saludable, equilibrado y adecuado para el pleno desarrollo de la vida; y el deber de contribuir a la gestión y protección del ambiente.

Ley N° 29196: Ley de promoción de la producción orgánica o ecológica; Artículo 2°

Se presenta objetivos relacionados con fomentar, promover, desarrollar e impulsar la producción agrícola orgánica para ayudar a la conservación de los ecosistemas y diversidad biológica contribuyendo con el desarrollo social y económico del país.

D.S. N° 017-2009-AG; Reglamento de Clasificación de Tierras por su Capacidad de Uso Mayor; Artículo 2°.

El Ministerio de Agricultura, por medio de su órgano competente, es el responsable de la ejecución, supervisión, promoción y difusión de la clasificación de Tierras en el ámbito nacional, en concordancia con el Ministerio del Ambiente, como autoridad encargada de promover la conservación y aprovechamiento sostenible de los recursos naturales renovables, entre ellos el recurso suelo.

D. S. N° 102-2001-PCM; Aprobación de la Estrategia Nacional sobre Diversidad Biológica

La Diversidad Biológica peruana es patrimonio natural de la Nación, el Estado está obligado a promover su conservación y de las áreas naturales protegidas.

Ley N° 27446 – Ley del Sistema Nacional de Evaluación de Impacto Ambiental - SEIA

Establece el SEIA como un sistema único y coordinado de identificación, prevención, supervisión, control y corrección anticipada de los impactos ambientales negativos derivados de las acciones humanas.

Decreto Supremo N° 012-2009-MINAM

Presenta los objetivos de Impulsar e incentivar la conservación de los recursos genéticos nativos y naturalizados, y la identificación y protección de los territorios de elevada diversificación genética, fomentando la investigación, desarrollo y su utilización sostenible, para el incremento de la competitividad de los sectores y actividades productivas.

Normas Técnicas Peruanas Del Sacha Inchi

NTP 151.401:2012: ACETITE DE SACHA INCHI. Buenas Prácticas de Manufactura.

NTP 151.402:2012: SACHA INCHI. Buenas Prácticas agrícolas para el cultivo de Sacha Inchi (*Plukenetia Volubilis* Linneao)

NTP 151.404:2013: SACHA INCHI. Trazabilidad.

NTP 209.038:2009: ALIMENTO ENVASADOS. Etiquetado.

NTP 209.057:1980: ACEITES Y GRASAS COMESTIBLES. Método de determinación de la materia insaponificable.

NTP- ISO 2859-1:2013: PRECEDIMIENTOS DE MUESTREO PARA INSPECCIÓN POR ATRIBUTOS. Parte 1. Esquema de muestreos clasificados por límite de calidad aceptable (LCA) para inspección lote por lote.

Ley Orgánica del Ministerio de Agricultura; Ley N° 25902; Artículo 2°; 3°.

El Ministerio de Agricultura, dentro del ámbito del Sector Agrario y de una economía de mercado tiene por finalidad promover el desarrollo sostenido del Sector Agrario, comprendiendo las tierras de uso agrícola, pastoreo, forestal y eriazas de aptitud agraria.

Normas legales del Sacha Inchi: Proyecto de ley N°11367, Artículo 1°

Del objeto de la Ley. Declárese el Sacha Inchi, Maní del Inca o Inca Inchi (*Plukenetia volubilis* - Linneo) como patrimonio genético nacional, por su calidad y composición alimenticia, producto de nuestra diversidad biológica, de ancestral uso desde tiempos prehispánicos.

Ley N° 28477: Ley que declara a los cultivos, crianzas nativas y especies silvestres usufructuadas patrimonio natural de la nación, Artículo 1°, 2°

Registra los objetivos de ley declarar a los cultivos, crianzas nativas y especies silvestres usufructuadas Patrimonio Natural de la Nación.

2.3 Hipótesis

2.3.1 Hipótesis General

H₀: No existe mejora ambiental en el cultivo de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) al utilizar hongos endófitos, para el control de *Meloidogyne incognita* (NEMÁTODO DEL NUDO DE LA RAÍZ).

H₁: Por lo menos un género de hongo endófito mejora ambientalmente el cultivo de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) para el control de *Meloidogyne incognita* (NEMÁTODO DEL NUDO DE LA RAÍZ).

2.3.2 Hipótesis Específicas

He₁: Se identificó los géneros de hongos endófitos aislados de Sacha Inchi mediante claves taxonómicas.

He₂: Se identificó el hongo endófito que controlan en gran parte a *Meloidogyne incognita* (NEMÀTODO DEL NUDO DE LA RAÍZ).

He₃: Se identificó el género de mayor capacidad de control al nemátodo *Meloidogyne incognita* (NEMÀTODO DEL NUDO DE LA RAÍZ) en condiciones controladas.

2.4 Variables de Estudio

- **Variable dependiente:**

Mejora ambiental en el cultivo de SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.).

- **Variable independiente:**

Hongos endófitos

- **Variables extrañas:**

Temperatura

Humedad

Luminosidad

Tabla N° 01. Operacionalización de hipótesis, variables e indicadores.

TIPO DE VARIABLE	VARIABLES	DEFINICIÓN		DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
		CONCEPTUAL	OPERACIONAL			
Cualitativa y Cuantitativa	Hongos endófitos de <i>Plukenetia sp.</i> (Independiente)	Organismos que viven en asociación con plantas en la mayor parte o en todo su ciclo de vida, y se encuentran en las hojas y los tallos de muchas plantas, sin causar daño evidente	Los hongos endófitos colonizan los tejidos u órganos internos de una planta sin causar ningún tipo de síntoma, y confieren una protección a la planta hospedera contra el ataque de agentes bióticos y abióticos	<ul style="list-style-type: none"> • Ambiental: Favorece la conservación y propagación de la especie <i>Plukenetia volubilis L.</i>, (SACHA INCHI) mejorando la calidad de la especie. • Económico: Bajo costos en la aplicación de los controladores biológicos para el control de <i>Meloidogyne incognita</i>. • Social: Involucra a todos los agricultores. 	<ul style="list-style-type: none"> • Proporción de 1 x 10⁶ de esporas /ml por maceta 	<ul style="list-style-type: none"> • De intervalo discreto • Nominal
Cualitativa y Cuantitativa	Mejora ambiental de la producción de "Sacha inchi" (<i>Plukenetia volubilis L.</i>) (Dependiente)	El mejoramiento ambiental define estrategias integrales para la prevención de desastres mediante la elaboración de estudios, proyectos, mapas de riesgos y la planeación para ordenar el uso del suelo.	Productos mejorados, cultivados de modo orgánico, utilizando controladores para evitar la contaminación de los suelos y del agua. La especie mejora sus condiciones de desarrollo.	<ul style="list-style-type: none"> • Ambiental: Especies mejoradas conservan el ambiente mediante el uso de biocontroladores y disminución de productos químicos. • Social: Fuente de trabajo para los miembros de las comunidades que se dedican a la siembra y cosecha del "Sacha inchi". • Económico: Incrementa los ingresos y utilidades al cultivar con técnicas orgánicas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Determinación del índice de Shannon. • Índice de crecimiento. • Altura de la planta • Diámetro de tallo. • Longitud de raíz • Índice de esbeltez • Número de nódulos 	<ul style="list-style-type: none"> • De intervalo continuo • Nominal

Fuente: Elaboración propia, (2014)

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Ámbito de Estudio

Las pruebas se llevaron a cabo en el Laboratorio de Bioprotección y vivero del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP-San Martín), ubicado en el Jr. Belén Torres # 135 del distrito de Morales, Provincia y Departamento de San Martín, teniendo como coordenadas:

Zona 18 WGS 84: 9283666N – 347743E

3.2 Tipo de Investigación

El tipo de la investigación es Aplicativo; porque cuyo propósito es dar solución a situaciones o problemas concretos e identificables, (se desarrolló en condiciones de vivero), sobre los que se debe intervenir como para definir las estrategias de solución, con utilización y consecuencias prácticas de los conocimientos. (Leyton, 2012).

3.3 Nivel de Investigación

El nivel de investigación es experimental, ya que se basó en buscar una respuesta sobre la mejora ambiental en el cultivo de "SACHA INCHI" (*Plukenetia volubilis* L.), utilizando hongos endófitos para controlar a *Meloidogyne incognita* (Nemátodo del nudo de la raíz). Es decir cuando no existe un cuerpo teórico abundante que ilumine el estudio sobre el fenómeno observado y los resultados que se obtengan sea un aporte al reconocimiento de los elementos que lo integran. (Álvarez, 2011).

3.4 Método de Investigación

3.4.1 Ubicación del experimento

El trabajo se ejecutó en el laboratorio de Bioprotección del IIAP-San Martín, situado en el Jr. Belén Torres de Tello N°-# 135 del distrito de Morales.

3.4.2 Procedimientos

➤ Preparación de medio de cultivo

Papa Sacarosa Agar (PSA):

Para 1 litro de medio se lavó 250 gramos de papa blanca variedad canchan, estas en trozos se puso a cocer en 500 ml de agua destilada

(AD) durante (± 2) 10 minutos evitando que deshaga, después el caldo de papa se filtró en otro recipiente limpio y se agregó 10 gr de sacarosa (Azúcar rubia). En otro recipiente que contiene 500 ml de AD se diluyo 18 gr de agar en tiras con ayuda de un horno microondas. Ambas diluciones fueron mezcladas y agitadas unos minutos. La mezcla antes que solidifique, se distribuyó en matraces 200 ml, después el matraz con el medio fue cerrado con un tapón de algodón y cubierto con papel aluminio.

Después se esterilizó a 121 °C de temperatura, 15 libras de presión y por espacio de 20 minutos con ayuda de una autoclave vertical a vapor. Al matraz que contiene el medio de cultivo estéril y tibio (temperatura punto de biberón) se agregó 1 gramo del antibiótico Oxitetraciclina, inmediatamente después el medio de cultivo fue distribuido en placas de Petri 15 x 60 mm (French y Herbert, 1982).

Agar Agua (AA):

Para 1 litro en un recipiente conteniendo 500 ml de AD se incorporó 20 gr de agar en tiras y fueron diluidas con ayuda de un horno microondas, se enrazo con AD hasta 1000 ml, luego se esterilizó a 121°C, 15 libras de presión por 20 min (French y Herbert, 1982).

➤ **Esterilización de medio de cultivo, materiales e insumos**

Los medios de cultivo usados para el crecimiento y desarrollo de los géneros de hongos endófitos; materiales como placas de Petri, vasos de prueba, matraces, viales, tubos de prueba; así como solución conservante (glicerina al 20%), fueron esterilizados a 121°C de temperatura, 15 libras de presión durante 15 minutos usando un autoclave vertical a vapor.

➤ **Colecta de hongos endófitos de sachá inchi**

Se colectaron hongos endófitos del tallo y hojas de siete especies de Sachá Inchi (*P. volubilis* L., *P. huayllabambana*, *P. carolis-vegae*, *P. polyadenia*, *P. loretensis*, *P. brachybotrya* y *Plukenetia* sp.). Durante la colecta el número de plantas fueron determinados en el momento y dependió del número de plantas rastreras de sachá inchi que se encontraron. Las plantas muestreadas fueron georreferenciados con ayuda de un GPS individualmente. (Tabla 02).

Tabla N° 02. Georreferenciación de las plantas muestreadas.

Plukenetia sp.	Localidad	Ubicación Política	U. Geográfica	Propietario
<i>P. carolis-vegae</i>	Sector Monte alegre	Limabamba, Rodríguez de Mendoza - Amazonas.	LS: 6° 35.892" LO: 77° 31.407" A: 1726 msnm	José Rodríguez Torres Riva.
<i>P. volubilis</i>	EE-Bello Horizonte	La Banda del Shicayo, San Martín - San Martín.	LS: 6° 35.892" LO: 77° 31.407" A: 1726 msnm	IIAP
<i>P. huayllabambana</i>	Shucush	Longa, Rodríguez de Mendoza - Amazonas.	LS: 6° 23.767" LO: 77° 34.175" A: 1617 msnm	Andrés Alejos Herrera
<i>Plukenetia</i> sp.	Shucush	Longa, Rodríguez de Mendoza - Amazonas.	LS: 6° 23.767" LO: 77° 34.175" A: 1617 msnm	Andrés Alejos Herrera
<i>P. brachybotrya</i>	Sector Puerto Almendra	San Juan, Maynas - Loreto	LS: 3° 49.355" LO: 73° 22.325" A: 105 msnm	Fac. Forestales - UNAP
<i>P. loretensis</i>	Puerto Almendra	San Juan, Maynas - Loreto	LS: 3° 49.587" LO: 73° 22.429" A: 110 msnm	Fac. Forestales - UNAP
<i>P. poliadenia</i>	CN Huitoto - Pucaurquillo	Pebas, Ramón Castilla - Loreto	LS: 3° 20.049" LO: 71° 55.123" A: 101 msnm	Hilada Rivera Peña

Fuente: Elaboración propia, (2014)

➤ **Aislamiento de endófitos de hoja**

Se tomó 10 hojas de cada planta rastrera de sacha inchi, libres de daño por insecto o de síntomas de enfermedad. Del segmento inferior y superior de cada hoja se tomó un trozo de 2 mm² aproximadamente y un trozo de la lámina medio, a mitad de la hoja, distancia entre la nervadura central y el borde. Se efectuó una esterilización superficial sumergiendo trozos de hoja en solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 1 minuto.

Posteriormente los trozos fueron enjuagados sucesivamente en otra placa con alcohol al 70% aproximadamente por 2 segundos, después se enjuagó en agua destilada estéril. Los trozos del tejido (hoja) fueron sembrados en placas (15 x 60 mm) conteniendo PSAO (Papa Sacarosa Agar + Oxitetraciclina). Los aislamientos se realizaron entre 2 a 4 horas después de la colección de las hojas.

➤ **Aislamiento de endófitos de tallo**

Una área de la corteza, se removió de uno de los lados del tallo de la planta rastrera, entre 0.5 a 1 metro sobre el nivel del suelo con una navaja esterilizado por flameo. Dos trozos rectangulares del tejido leñosos (0.8 x 0.5 cm, aproximadamente) fueron cortados y transferidos individualmente con pinza estéril a las placas plásticas de Petri (60 mm de diámetro) con medio de cultivo estándar para hongos PSAO.

Las placas de Petri fueron selladas con parafilm y almacenadas herméticamente en cuoller. Las partes expuestas del tejido fueron selladas inmediatamente con una pasta cicatrizante (pasta bórdales). Todos los instrumentos fueron esterilizados en alcohol y flameados. Los cultivos fueron incubados a temperatura ambiente (Cuoller) ± 25°C de temperatura hasta observar y diferenciar estructuras vegetativas del

hongo (4 a 15 días). Puntas de hifas o esporas del hongo endófito fueron transferidas al medio de cultivo fresco individualmente cada cepa.

➤ **Purificación de los géneros de hongos endófitos**

En las placas, es poco probable que se obtenga solo una cepa de hongo, normalmente crecen varios géneros, por eso se llevó a cabo la purificación individual de cada género de hongo endófito. Las colonias que crecieron en cada placa individualmente fueron repicadas en otras placas Petri con PSAO, e incubadas a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$).

En los aislamientos que formaron solo estructuras vegetativas, la purificación de las colonias se realizó usando la técnica de puntas de hifa, mientras para los aislamientos que forman estructuras reproductivas la purificación fueron realizados mediante siembras monospóricas (esporas). Después de obtener colonias puras se identificó los géneros.

➤ **Conservación de hongos endófitos**

Para preparar la solución conservante en una probeta graduada de pírrex se incorporó 80 ml de agua destilada estéril (ADE), después de adición 20 ml de glicerina puro, de este, se transfirió 1.5 ml en los porta viales. En cada vial que contiene una solución de glicerina al 20% previamente codificado por ejemplo Trichoderma 1; se incorporó trozos de agar con micelio y esporas de los hongos endófitos, después se cubrió con parafina. Finalmente se trasladó los aislamientos por género en porta viales. Los viales con cepas de hongos endófitos se pusieron dentro de una refrigeradora a -20°C para su conservación.

➤ **Identificación de géneros de hongos endófitos**

Los géneros que se encontraban conservadas en solución glicerol al 20% dentro de viales, fueron repicados a placas de Petri conteniendo PSAO,

después fueron incubados entre 3 a 30 días a temperatura del ambiente del laboratorio, bajo luz normal y condiciones de oscuridad. Con ayuda de un profesional experimentado se dio la identificación a nivel de género, en el cual se utilizaron tres claves taxonómicas de identificación para hongos, obteniéndose así un total de 10 géneros y 4 aislamientos no fueron agrupados.

El procedimiento usado fue la siguiente: durante el periodo de desarrollo de las colonias, se registraron las características culturales de cada cepa: color, forma, densidad, presencia o ausencia de anillos, distribución en la placa, esporulación, principalmente. Con estas variables fueron agrupados por similitud. Transcurrido el periodo de incubación se hicieron montajes en láminas porta objetos, y fueron examinados con microscopio óptico entre 400X a 1000X de aumento, a fin de determinar las características morfológicas de cada cepa (tipo y tamaño de las estructuras vegetativas y de reproducción).

Para la identificación a nivel de género, se utilizaron tres claves taxonómicas de identificación para hongos de: Barnett (1998), Barrón (1968), Watanabe (2002).

➤ **Colonización de plántulas de sachá inchi con hongo endófito**

Para este estudio se eligió diez aislamientos de *Clonostachys* y diez de *Trichoderma* (**Tabla 03**). Los aislamientos fueron cultivados en PSAO durante diez días, después a la placa con el hongo se incorporó 10 ml de ADE y con una ansa estéril se removió con la finalidad de liberar las conidias del micelio, después la suspensión de conidias fueron diluidas en vasos de prueba y se enrasó con ADE hasta los 80 ml. Con ayuda de una pipeta se inoculó 1×10^6 de esporas/ml a bandejas de plástico con sustrato estéril (2 de tierra agrícola y 1 de humos de lombriz) y húmedo a capacidad de campo (Bailey et al., 2008).

A cada bandeja con sustrato más el hongo endófito se sembró semillas de sachá inchi accesión Shica recién cosechada (máximo cinco días antes de la siembra). Las semillas previamente fueron desinfectadas en solución de lejía al 20% durante 5 minutos y enjuagadas tres veces en ADE. Las bandejas fueron incubadas a temperatura ambiente del laboratorio hasta la emergencia de plántulas (± 2) 10 días, después las bandejas fueron trasladadas a un ambiente con mayor iluminación (vivero) hasta que alcancen 63 días después de la siembra (dds).

Tabla 03. Diez aislamientos de *Clonostachys* y diez de *Trichoderma*

Género	Aislamiento	Procedencia	
		Plukenetia	Órgano
Clonostachys	kmd 65	<i>P. brachybotrya</i>	Tallo
	kmd 68	<i>Plukenetia sp.</i>	Tallo
	kmd 73	<i>Plukenetia sp.</i>	Tallo
	kmd 78	<i>P. huayllabambana</i>	Tallo
	kmd 80	<i>P. brachybotrya</i>	Tallo
	kmd 82	<i>P. carolis-vegae</i>	Tallo
	kmd 84	<i>P. huayllabambana</i>	Tallo
	kmd 88	<i>P. carolis-vegae</i>	Tallo
	kmd 104	<i>P. carolis-vegae</i>	Tallo
	kmd 116	<i>P. lorentensis</i>	Tallo
Trichoderma	kmd 32	<i>P. carolis-vegae</i>	Tallo
	kmd 36	<i>Plukenetia sp.</i>	Tallo
	kmd 41	<i>P. carolis-vegae</i>	Hoja
	kmd 44	<i>P. brachybotrya</i>	Hoja
	kmd 45	<i>Plukenetia sp.</i>	Tallo
	kmd 49	<i>Plukenetia sp.</i>	Tallo
	kmd 52	<i>P. huayllabambana</i>	Hoja
	kmd 54	<i>P. brachybotrya</i>	Tallo
	kmd 59	<i>Plukenetia sp.</i>	Tallo
	kmd 62	<i>P. lorentensis</i>	Tallo

Fuente: Elaboración propia, (2015)

➤ **Extracción de huevos de *Meloidogyne incognita***

Para la extracción de huevos de *Meloidogyne incognita* de las plantas de *Plukenetia volubilis* L., infestadas con el nemátodo *M. incognita*, se procedió a cortar con una tijera podadora las muestras a 0.5 cm de tamaño aproximadamente, luego estos trozos se colocaron en un frasco de vidrio y se agregó hipoclorito de sodio al 5 % y se agitó fuertemente por 2 minutos. Se pasó la solución por tres tamices de N^o 170, 230 y 400. Luego se lavó con abundante agua; y la muestra del último tamiz; se colocó en un recipiente, después se agregó 3 ml de la sustancia obtenida en una placa Petri y finalmente se realizó la cuantificación de huevos a través del microscopio, para determinar el volumen de la solución a inocular por planta de acuerdo a la concentración.

➤ **Infestación de plántulas de sachá inchi con huevos de *M. incognita***

Estas plántulas fueron infestadas con huevos de *M. incognita* una concentración de 500 huevos por maceta con 2 kg de sustrato. Para la infestación de raíces de sachá inchi con *M. incognita* se removió el suelo aproximadamente 5 cm alrededor del tallo y 2 cm de profundidad. Los huevos de *M. incognita* fueron inoculados con ayuda de una jeringa hipodérmica de 10 ml (Márquez et al., 2007). Posteriormente las macetas con las plántulas fueron incubadas a temperatura ambiente y con humedad a capacidad de campo constante por un periodo de 45 días, considerando el ciclo biológico del nemátodo (25 a 35 días) (Cepeda, 1996). Las plántulas fueron distribuidas bajo un diseño completo al azar con 10 repeticiones (10 macetas por género) y 10 controles por género

➤ **Capacidad endofítica:**

Las plántulas sacrificadas se usó para el re-aislamiento del hongo siguiendo la metodología usada por Bailey y col., (2008). Secciones de tallo de la plántula fueron desinfectadas en solución de legía al 20% por 1 minuto, enjuagadas con ADE 3 veces hasta quitar residuos de la legía. En placas (14 x 100 mm) con PSAO fueron sembradas 10 discos pequeños de tallo.

Las placas fueron incubadas a temperatura ambiente por 5 días. Al término del periodo de incubación se registró como positivo (+) cuando se observa crecimiento del hongo del disco y negativo (-) cuando no se observa crecimiento. En cada placa diez discos fue considerada como 100% para la colonización en plántulas de sachá inchi. Se realizaron tres repeticiones.

➤ **Evaluación de resultados**

• **Determinación del índice de Shannon – Whiener : diversidad y riqueza**

El índice de Shannon – Whiener se usa para medir la biodiversidad específica. Tiene en cuenta el número de géneros presentes en la comunidad, denominado riqueza de géneros y la equitabilidad, que se refiere a cómo la abundancia se encuentra en un área determinada.

La fórmula del índice de Shannon es la siguiente:

$$H = - \sum p_i \log p_i$$

Donde:

H = Índice de Shannon

Pi = abundancia relativa

- **Índice de crecimiento:**

Las mediciones respectivas se realizó después de la inoculación de *Meloidogyne incognita*, cada 5 días durante un mes. Se tuvo en cuenta la fórmula:

$$ID = \frac{x_2 - x_1}{T}$$

Dónde:

ID: Índice de crecimiento

X₂: Altura, diámetro, etc. (final)

X₁: Altura, diámetro, etc. (inicial)

T: Tiempo

- **Altura de la planta**

Con la ayuda de una regla centimetrada se midió la altura de cada una de las plantas rastreras de sachá inchi, tomándose las medidas desde el ras de la superficie, hasta el ápice de la misma. Las evaluaciones, se realizaron cada 5 días iniciándose al momento de la inoculación; durante 45 días.

- **Diámetro del Tallo**

Para este procedimiento se hizo uso de un vernier digital. Las evaluaciones, se realizaron cada 5 días iniciándose al momento de la inoculación.

- **Longitud de raíz**

La longitud de las raíces fue determinada a través del programa Image Analysis Software for Plant Disease Quantification (ASSESS) (Lamari, 2002).

- **Índice de Esbeltez**

Se usaron los datos obtenidos de la altura final y del diámetro final de cada planta rastrera de sachá inchi.

$$IE = \frac{\text{Altura final}}{\text{Diámetro final}}$$

- **Conteo de número de nódulos**

Al término del periodo de incubación las plántulas de sachá inchi fueron cosechadas cuidadosamente, separando la parte aérea de la parte radicular, lavándolas posteriormente con agua de caño de forma individual (Márquez y col.; 2007). Inmediatamente después se cuantificó el número de nódulos por sistema radicular.

- **Capacidad endofítica:**

Para determinar la capacidad endofítica se realizó la siembra de 10 pequeños trozos del tallo *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI) en una placa con agar PDA, para poder observar el porcentaje de colonización (presencia de *Clonostachys* o *Trichoderma* en las placas, que crecen y se multiplican, pero sin producir invasión ni daño).

Las placas fueron incubadas a temperatura ambiente por 5 días. Al término del periodo de incubación se registró como positivo (+) cuando se observa crecimiento del hongo del disco y negativo (-) cuando no se observa crecimiento. En cada placa diez discos fue considerada como 100% para la colonización en plántulas de sachá inchi. Se realizaron tres repeticiones.

3.5 Diseño de la Investigación

El trabajo de investigación fue un Diseño experimental, en el cual se pudo determinar los efectos que causan los hongos endófitos en los plantones infestados con *Meloidogyne incognita*. Los hongos endófitos se distribuyeron bajo un diseño probabilístico.

Imagen 01. Diseños a aplicar en el periodo de evaluación de cada género (Clonostachys y Trichoderma)



Fuente: Elaboración propia, (2014)

3.6 Población, Muestra, Muestreo

En el trabajo experimental se creyó conveniente usar 30 plantones de sachá inchi, por la facilidad del trabajo ya que el diseño fue repetido (cada planta y que pudo haber sido cualquier otra cantidad), además de ser oportuno, manejable y de economizar materiales, comprobar la eficacia y seguridad en su realización, asimismo porque uno corría mayor el riesgo de cualquier contaminación u otro factor.

3.6.1 Población

En el trabajo desarrollado se usaron un total de 30 plantones de SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.).

3.6.2 Muestra

Igual a la población (30 plantones de *Plukenetia volubilis* L.)

3.6.3 Muestreo

El muestreo se realizó a cada una de las plantas de sachá inchi, de acuerdo a los parámetros a evaluar.

3.7 Técnicas e Instrumentos de Recolección de datos

3.7.1 Técnicas

Para el desarrollo del trabajo de investigación, en cuanto a la recolección de datos se utilizaron las técnicas siguientes:

Toma de datos mediante la observación directa haciendo uso del microscopio al momento de cuantificar a los huevos de *Meloidogyne incognita*, conteo de número de nódulos, capacidad endofítica y **recolección de datos por mediciones.**

3.7.2 Instrumentos:

- ✓ Hongos Endófitos
- ✓ Plantas de Sacha Inchi
- ✓ Fichas de campo
- ✓ Bitácora
- ✓ Microscopio
- ✓ Cámara digital
- ✓ Cámara de neubauer

3.8 Procedimiento de recolección de Datos

La recolección de datos se basó en el uso de una ficha de campo ya que en esta se encontraban los datos obtenidos de los parámetros que se evaluaron a las plantas rastreras de SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.) luego de 18 días de germinación; se inoculó a *Meloidogyne incognita*, y se empezó a recolectar los datos, teniendo en cuenta el diámetro y altura de la planta haciendo uso de un vernier digital y de una regla centimetrada; estas evaluaciones, se realizaron cada 5 días.

A los 45 días después de la inoculación se sacrificaron las plantas de *P. volubilis* L. para el conteo de número de nódulos y se tomó fotografías a las raíces luego se procesaron los datos con el programa SPSS y haciendo uso del programa ASSES se determinó la longitud de raíz.

3.9 Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos

3.9.1 Técnicas de Procesamiento

Para el presente trabajo la validez se basó en los estudios científicos previos y determinación anteriores a este, en donde se reconocen dosis, géneros de hongos utilizados, métodos a aplicar, correspondiendo

así la **validez por contenido**. También se contaron con la revisión bibliográfica de estudios previos, que fueron acoplados al presente trabajo de investigación, generando un criterio de validez, además de instrumentos necesarios para la investigación.

3.9.2 Análisis de datos

Según a la hipótesis planteada; los hongos endófitos extraídos, controlan a *M. incognita*, y cumplen con el objetivo principal del mejoramiento ambiental en el cultivo de SACHA INCHI (*P. volubilis* L.); teniendo como resultado; que el género *Clonostachys*, presentó importancia en el desarrollo del diámetro, Índice de Esbeltez y número de nódulos en plántulas de sachá inchi.

Por otro lado el género *Trichoderma* demostró mayor eficacia en el desarrollo *P. volubilis* L., presentando importancia en índice de crecimiento, de altura, diámetro, índice de esbeltez, número de nódulos, capacidad endofítica; sobretodo menor número de nódulos demostrando y confiando en la hipótesis planteada.

CAPÍTULO IV. Resultados

4.1 Presentación de Resultados

- Para dar inicio al estudio se procedió a hacer la Identificación de hongos endófitos aislados de sacha inchi (*Plukenetia sp.*) a nivel de género.

Con ayuda de un profesional experimentado se dio la identificación a nivel de género, en el cual se utilizaron tres claves taxonómicas de identificación para hongos de: Barnett (1998), Barrón (1968), Watanabe (2002); obteniéndose un total de 10 géneros (**Tabla 04**): Pestalotiopsis, Xylaria, Brotryosphaeria, Colletotrichum, Trichoderma, Clonostachys, Penicillium, Fusarium, Geotrichum, Phialophora , y cuatro cepas no fueron agrupados.

Tabla 04. Géneros de hongos endófitos aislados de Sacha Inchi

N°	Géneros encontrados	CEPAS
1	Pestalotiopsis	31
2	Xylaria	33
3	Brotryosphaeria	14
4	Colletotrichum	2
5	Trichoderma	31
6	Clonostachys	32
7	Penicillium	3
8	Fusarium	4
9	Geotrichum	3
10	Phalophora	1
11	NN	4
TOTAL		158

Fuente: Elaboración propia, (2014)

- Identificación de hongos endófitos que controlan a *Meloidogyne incognita* (NEMÁTODO DEL NUDO DE LA RAÍZ)

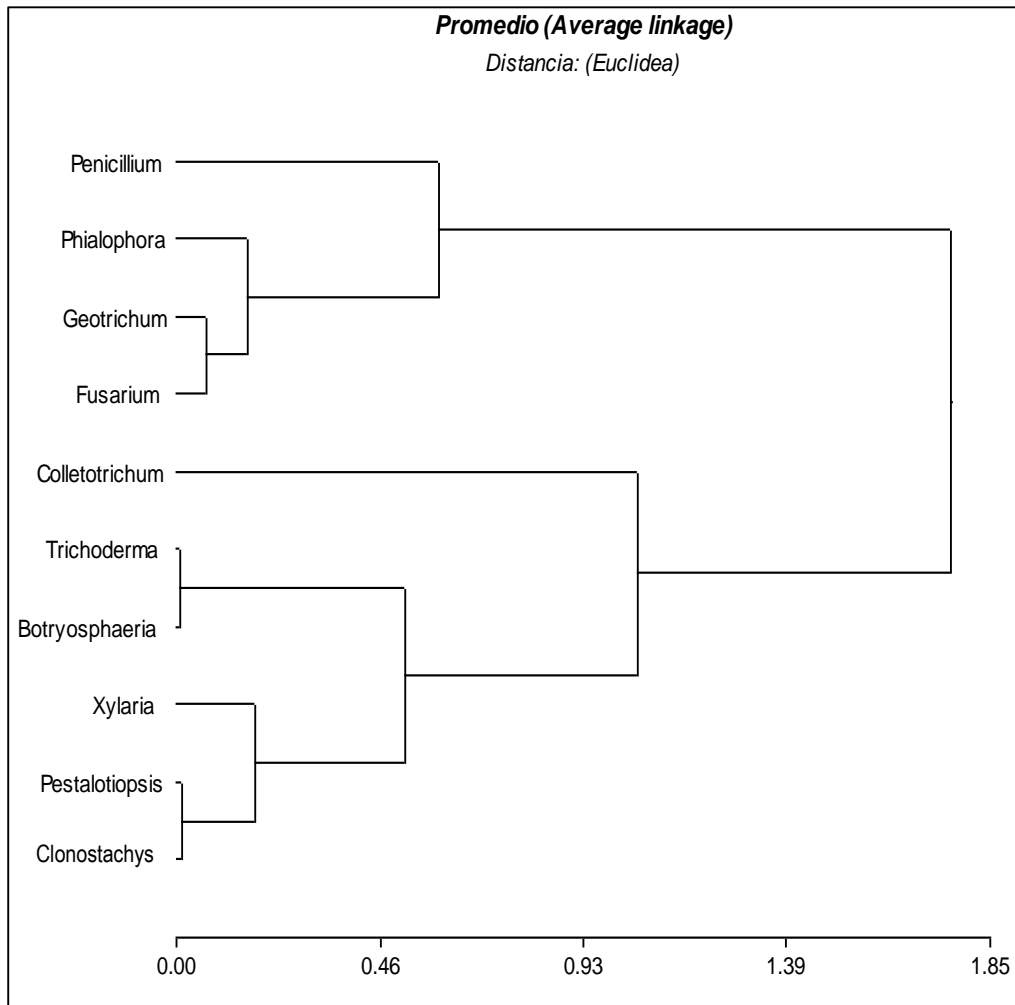
- **Determinación del índice de Shannon – Wiener:**

La abundancia y distribución de los organismos necesitan ser agrupados o conglomerados de las entidades de estudio en grupos relativamente homogéneos.

El objetivo, es formar grupos tal que los elementos de un grupo sean más parecidos entre sí que con los elementos de otro grupo. Cuando se realizan agrupamientos de muestras se clasifica a las muestra en grupos lo más homogéneos posibles, a través de todas las muestras, en base a todas las variables que caracterizan cada muestra (**Balzarini y col., 2014**).

Con nuestros datos obtenidos se dedujo que de los 10 géneros de hongos endófitos, se agruparon y formaron grupos homogéneos teniendo como resultado que los géneros Clonostachys y Pestalotiopsis se unen a menor distancia que el resto, formado un grupo.

El segundo grupo conformado por los hongos Brotryosphaeria y Trichoderma. Teniendo dos grupos de menor distancia y se escogió a uno de cada grupo (Trichoderma y Clonostachys) para el control de *Meloidogyne incognita*, según antecedentes de control biológico. (**Gráfica N°01**).



Gráfica N° 01: Dendograma obtenido a partir de la matriz de distancia basada en el índice de Shannon – Whiener

Fuente: *Elaboración propia, (2014)*

- El índice de Shannon – Whiener se encuentra entre los índices de equidad y que a su vez esta expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra. Y como el índice contempla la cantidad de especies presentes en el área de estudio (riqueza de géneros), y la cantidad relativa de individuos de cada una de esos géneros (abundancia) (Pla, 2006).

- En el trabajo se tuvo en cuenta la riqueza de géneros de hongos endófito; según nuestros datos obtenidos se deduce que *P. brachybotrya*, tiene el mayor índice de Shannon con 1.80 y con una población de 26 cepas de hongos y 9 géneros, lo que significa que en esta especie de sachá inchi, se encontrarán el mayor número de géneros. Seguido de *P. huayllabambana* con un índice de Shannon de 1.65, con 24 cepas y 7 géneros. Y el menor índice de Shannon se obtuvo de *P. poliadenia* con índice de Shannon de 1.28, 10 número de cepas y 4 géneros. (Tabla N°05).

Tabla N°05: Determinación del Índice de Shannon - Whiener

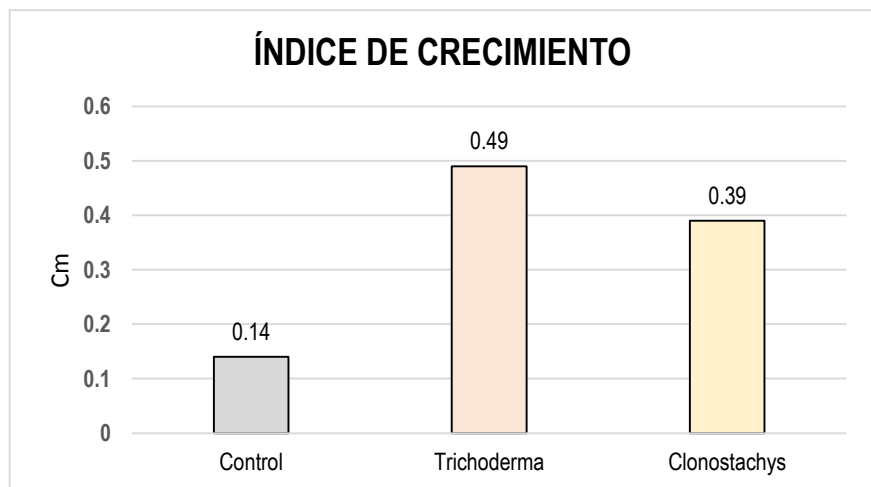
Plukenetia	Índice se Shannon	Población	N° Géneros
<i>P. brachybotrya</i>	1.8	26	9
<i>P. carolis-vegae</i>	1.29	25	5
<i>P. huayllabambana</i>	1.65	24	7
<i>P. loretensis</i>	1.53	33	6
<i>P. poliadenia</i>	1.28	10	4
<i>P. volubilis L.</i>	1.43	14	5
<i>Plukenetia sp.</i>	1.32	26	5

Fuente: Elaboración propia, (2014)

- Identificar el tratamiento que muestra mayor desarrollo para la producción del Sancha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.).

Para la obtención de las gráficas presentes en los resultados se tuvo en cuenta las 3 repeticiones que se realizó en el trabajo de investigación.

- **Índice de crecimiento:**



Gráfica N° 02: índice de crecimiento en plantones de *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI).

Fuente: *Elaboración propia (2015).*

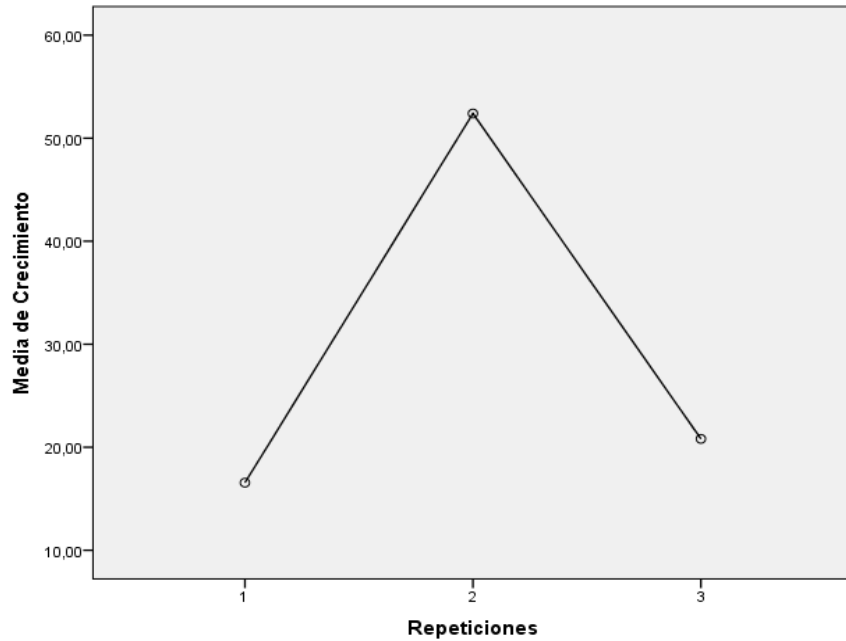
En la gráfica 02, para identificar el tratamiento que muestra mayor desarrollo para la producción del Sancha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.), explica que con el tratamiento Trichoderma tuvo un incremento de 0.49 cm; seguida de Clonostachys con 0.39 cm y el promedio más bajo se ha obtenido al aplicar el control con 0.14 cm.

Para obtener esta gráfica se procesaron los datos que se encuentran en Anexos (Tabla 07 y Tabla 08).

- **Incremento de la altura:**

Donde:

1 = Control 2 = Trichoderma 3 = Clonostachys



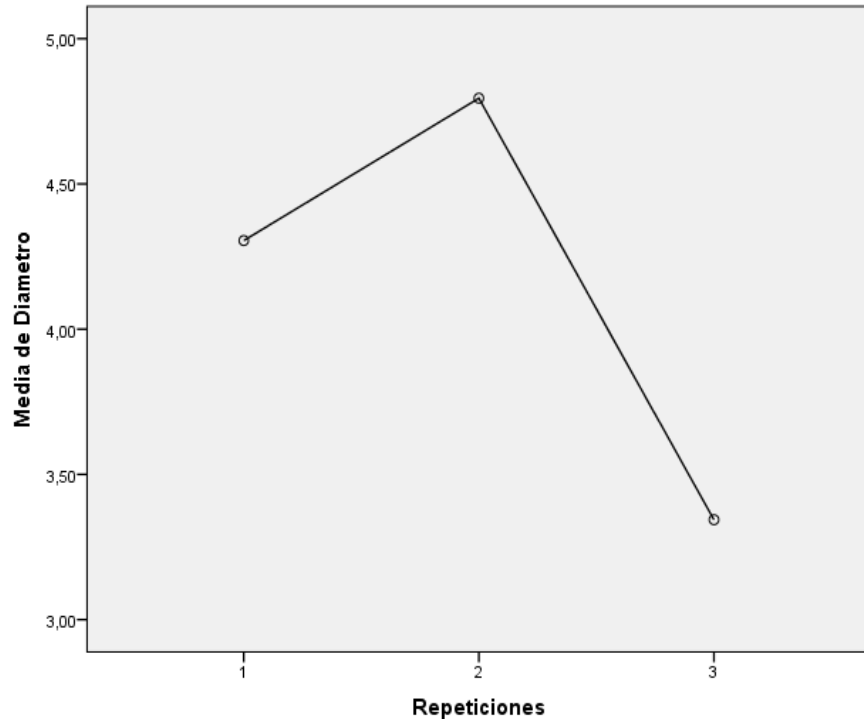
Gráfica N° 03: Incremento del altura (cm), determinado en 45 días de la primera hasta la novena evaluación (E1 – E9) de plántones *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI).

Fuente: Elaboración propia (2015).

Para determinar la eficiencia de Trichoderma y Clonostachys sobre el incremento de la altura de plántones de *Plukenetia volubilis* L.(SACHA INCHI), se obtuvo como mayor resultado al tratamiento Trichoderma con 52.40 cm, superando de manera significativa a Clonostachys con 20.81 cm , y el promedio más bajo se obtuvo del Control con 14.96 cm.

Los datos procesados para esta gráfica se encuentran en Anexos (Tabla 06).

- **Incremento de diámetro:**



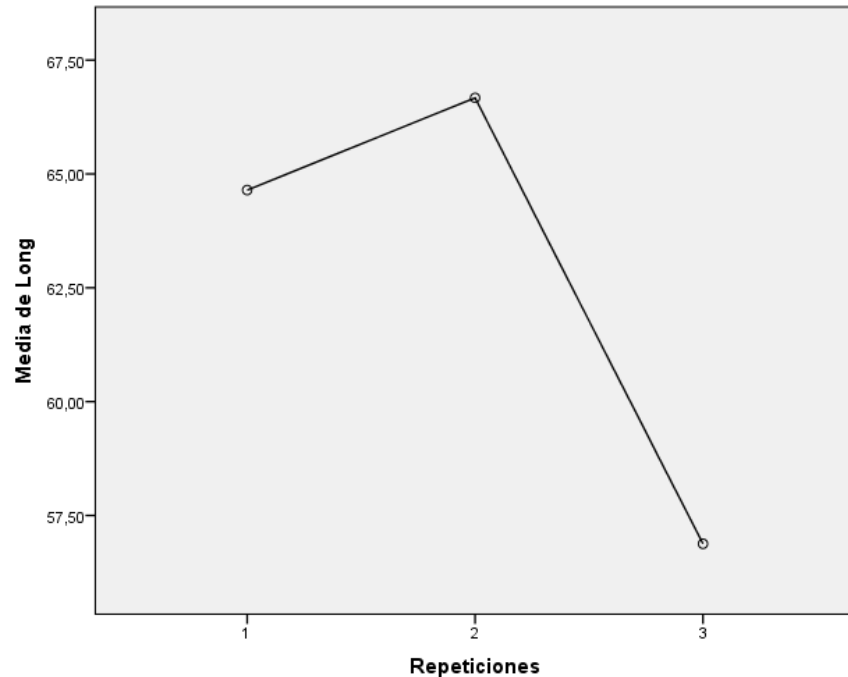
Gráfica N° 04. Incremento del diámetro (mm); determinado en 45 días de la primera hasta la novena evaluación (E1 – E9) de plántones *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI).

Fuente: *Elaboración propia (2015).*

En la gráfica 04, para determinar el incremento de diámetro se obtuvo como resultado que el hongo *Trichoderma* tuvo un incremento de 4.79 mm de diámetro, superando al Control con 4.31 mm y el promedio más bajo se obtuvo de *Clonostachys* con 3.27 mm.

Para ésta gráfica se usaron los datos de los Anexos (Tabla 09).

- Longitud de Raíz



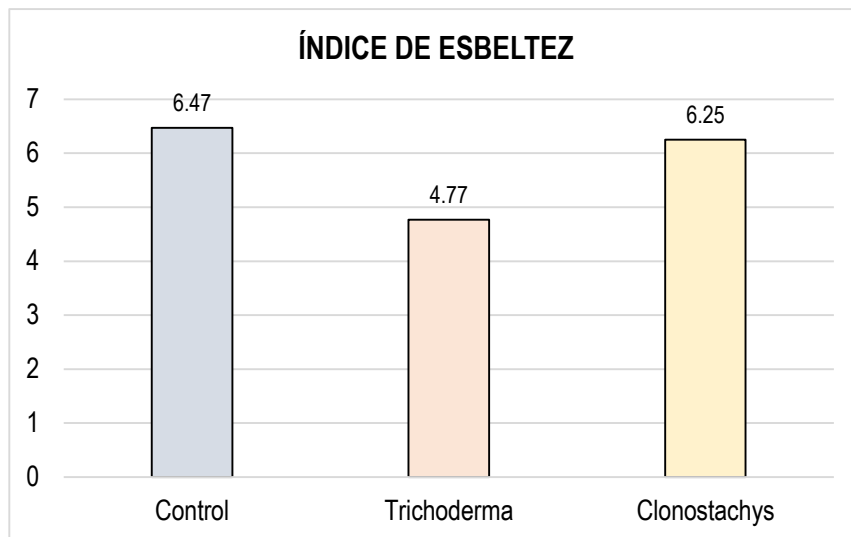
Gráfica N° 05. Longitud de raíces de plantones de *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI).

Fuente: *Elaboración propia (2015).*

En la gráfica 05, se observan los datos obtenidos para determinar el incremento de la longitud de raíces de plantones de *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI) explica que con el Trichoderma se obtuvo el mayor promedio en el incremento de Longitud de raíces siendo 66.67 cm, superando al control con un incremento de 64.65 cm y el promedio más bajo se han obtenido al aplicar el tratamiento Clonostachys, cuyo promedio fue 56.88 cm respectivamente.

Los datos procesados para esta gráfica se encuentran en Anexos (Tabla 10).

- **Gráfica de Índice de Esbeltez**



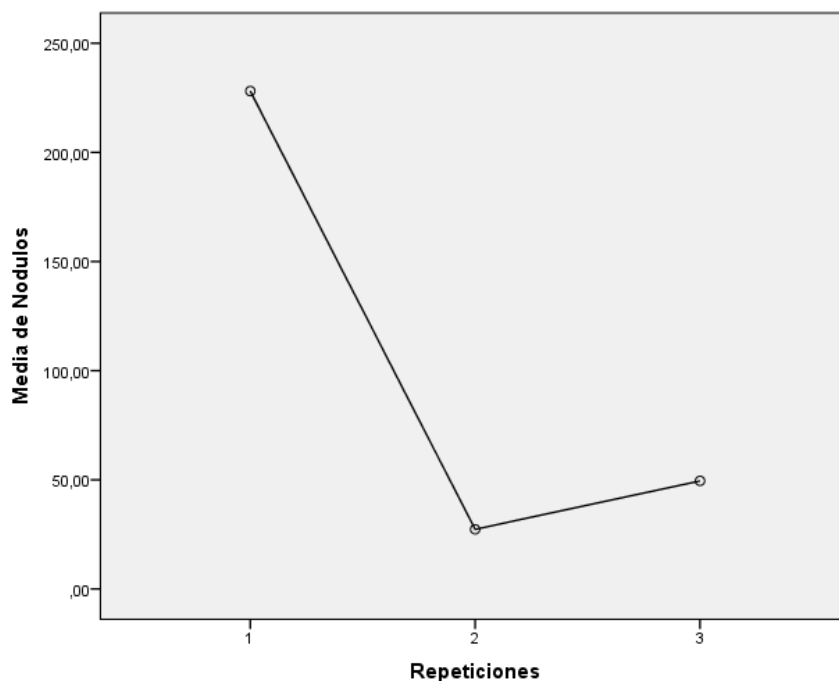
GRÁFICA N° 06. Índice de Esbeltez de plantones de *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI).

Fuente: *Elaboración propia (2015).*

En la gráfica 06, para identificar el tratamiento que muestra mayor desarrollo para la producción del Sancha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.), sobre el Índice de Esbeltez, se tiene en cuenta el menor valor que influyeron en las plantas de *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI); explica que con el tratamiento Trichoderma obtuvo el menor promedio en el Índice de Esbeltez con teniendo mejor capacidad de supervivencia en ambientes teniendo un promedio de 4.77; seguida de Clonostachys con un incremento de 6.25 y los promedios más altos se han obtenido del Control cuyos promedios fue 6.47 respectivamente.

Los datos usados para esta gráfica se encuentran en Anexos (Tabla 11 y Tabla 12).

- **Determinación de números de nódulos:**



GRÁFICA N° 07: Número de nódulos en plantones *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI), determinado en 45 días.

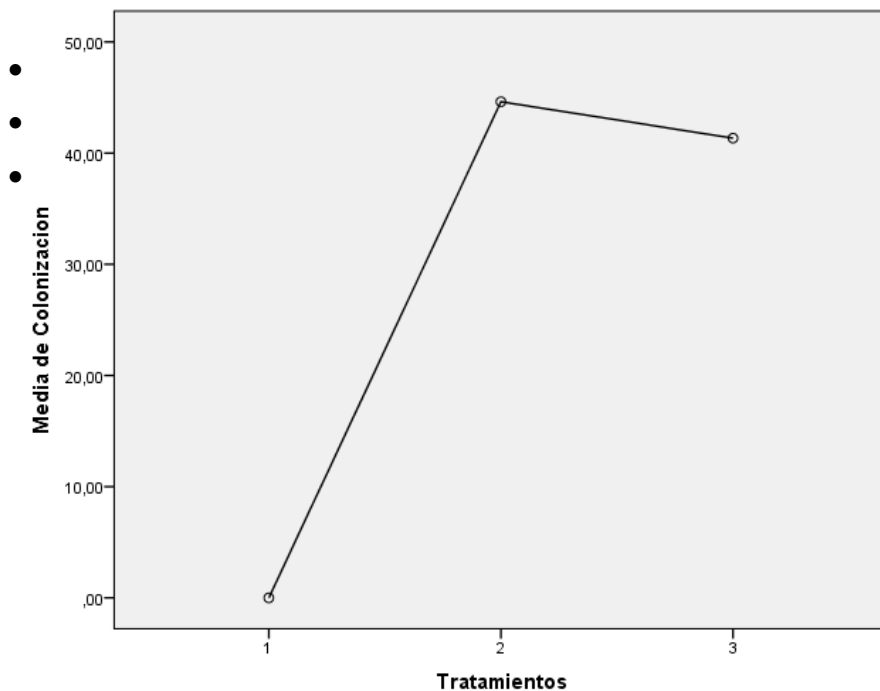
Fuente: *Elaboración propia (2015).*

En la gráfica 07, para determinar números de nódulos explica que con el tratamiento Trichoderma se encontraron 27 nódulos en las raíces de *P. volubilis* L.; mientras que en Clonostachys se encontraron 50 nódulos, y finalmente en el control se obtuvieron 228 nódulos; situándose en el mayor promedio en el incremento de número de nódulos, superando de manera significativa a los demás.

Para esta gráfica se usaron los datos del Anexo (Tabla 13).

- Capacidad de control de *Trichoderma* y *Clonostachys* al nemátodo *Meloidogyne incognita* (NEMÁTODO DEL NUDO DE LA RAÍZ) en condiciones controladas.

- **Determinación de capacidad endofítica:**



Gráfica N° 08: Porcentaje de colonización de plánculas de *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI).

Fuente: *Elaboración propia (2015).*

En la gráfica 08 se obtuvo como resultado que *Trichoderma* colonizó un 68 % de la placa, situándose en el mayor promedio en cuanto al porcentaje de colonización, superando de manera significativa a los demás, seguida *Clonostachys*, con un porcentaje de colonización de 61 %, y el promedio más bajo se obtuvo del control, cuyo promedio fue el 0% respectivamente.

Los datos procesados para esta gráfica se encuentran en Anexos (Tabla 14).

4.2 Discusión

En la **Gráfica N° 04 y 05** nos muestran el incremento de diámetro y longitud de raíz, en el cual Trichoderma es el que mejor resultados presenta, es un punto importante ya que además de controlar a *M. incognita*, hay mejoras en la planta; corroborado por **González y col., (2012)** que hace mención que actualmente ha cobrado gran importancia el género Trichoderma y es con frecuencia utilizados como agente de control biológico debido a su capacidad de parasitar a una amplia variedad de hongos fitopatógenos y nemátodos además de darle otros beneficios a la planta. Del mismo modo **Stefanova (2007)** hace mención que el hongo antagonista Trichoderma es un biorregulador efectivo contra nemátodos del género *Meloidogyne*, por medio de sus esporas s e hifas. **Leyva y col., (2010)** en su trabajo de investigación obtuvo como resultado que Trichoderma alcanzó una efectividad de 88.33% para el control de *M. incognita* en el cultivo del tomate con el mayor incremento en los rendimientos.

En la **Gráfica N°07** nos muestra el grado de eficiencia de Trichoderma para controlar *M. incognita* en cuanto a número de nódulos; asemejándose a los experimentos de **Méndez, (2006)** que apreció la efectividad de los tratamientos de Trichoderma y oscilan entre 52% y 82% de control del índice de ataque en el sistema radical del cultivo, con lo que se demuestra la factibilidad de su utilización en el control de esta especie de nemátodo.

En la **Gráfica N°07**, según los datos obtenidos demuestran que Trichoderma controla a *M. incognita*, superando a los demás. Clonostachys a su vez puede funcionar como controlador biológico ya que evidencia números de nódulos aceptables; lo que demuestra que también puede ser un controlador biológico alternativo, corroborado por **Mamarabadi, y col., (2012)** quien menciona que Clonostachys ha sido reportado como un parásito potencial contra los nemátodos e insectos.

En las **Gráficas N°03, 04, 05, 06, 07, y 08**, nos muestra los beneficios Trichoderma hacia *P. volubilis* L.; a su vez nos evidencia que este hongo posee un rápido crecimiento y desarrollo. Al igual que **Baños y col., (2010)**, describe a Trichoderma que posee rápido crecimiento y desarrollo; es un antagonista de excelencia, comprobada su efectividad contra *M. incognita* y que a su vez redujo el grado de infestación del nemátodo en el cultivo de tomate; así mismo brinda buenos beneficios a la planta, como en el crecimiento, longitud de raíz entre otros.

En la **Gráfica N° 04** si comparamos los resultados obtenidos de ambos géneros observamos que Trichoderma demostró un mayor diámetro de tallo de 4.79 mm, así mismo en la **Gráfica N° 06** en el índice de esbeltez es de 4.77; demostrando que **Baños y col., (2010)**, tenía razón al describir que una buena calidad de plántula debe tener, un diámetro de cuello grande y bajo índice de esbeltez. En el género Clonostachys su diámetro de tallo fue de 3.27 mm y su índice de esbeltez fue de 6.25 mm, que está dentro de lo normal en cuanto a supervivencia de la planta.

En la **Gráfica N°08** y **Anexo. 07** Nos muestran los resultados de la capacidad endofítica; teniendo que Trichoderma alcanzó una colonización de 68%, mientras que Clonostachys un 61% de los tallos de SACHA INCHI (*P. volubilis* L.); y estudios realizados por **Hoyer y col., (2009)** deduce que éstos pueden hongos pueden vivir como un endófito en los tallos, teniendo como resultado que la colonización endofítica es sistémica, que crece de las raíces y el tallo. Así mismo controla eficazmente las enfermedades inicial y transmitidas por el suelo y puede promover, además, el crecimiento de las plantas.

La Ley General del ambiente – Ley N° 28611. En su artículo 102.- De la conservación de las especies estipula que brinda una política de conservación de las especies el cual implica la necesidad de establecer condiciones mínimas de supervivencia de las mismas, la recuperación de poblaciones y el de supervivencia

de las mismas, la recuperación de poblaciones y el cuidado y evaluaciones por el ingreso y dispersión de especies exóticas, por lo tanto mediante el presente, se logró la mejora ambiental de la producción de *P. volubilis* L., al utilizar hongos endófitos propios, para controlar a *Meloidogyne incognita*, generando la importancia del control biológico como un componente vital de la agricultura sustentable y sostenible que preserve los recursos naturales y el ambiente mediante la utilización de microorganismos seleccionados por su alta eficiencia e inocuidad.

En la **Gráfica 05** Trichoderma nos muestra un crecimiento radicular de 66.67 cm , concordando lo descrito por **Cruzat y Ionannidis, (2008)** que menciona al género Trichoderma como colonizador del suelo alrededor de las raíces ayudando a la planta en su nutrición, convirtiendo los nutrientes más disponibles para la planta; las raíces se desarrollan más rápido produciendo sistemas radiculares más grandes.

Daniel 2006 describe que el índice de **Shannon – Whiener** es uno de los más utilizados para evaluar la diversidad de especies, expresando el número de poblaciones y sus abundancias relativas. En la **Tabla N°04** nos señala la riqueza de géneros de hongos endófitos por especie de Plukenetia; deduciendo que *P. brachybotrya*, tiene el mayor índice de Shannon con 1.80 y con una población de 26 cepas de hongos y 9 géneros, lo que significa que en *P. brachybotrya*, se encontrarán el mayor número de géneros. Seguido de *P. huayllabambana* con un índice de Shannon de 1.65, 24 cepas y 7 géneros. Y el menor índice de Shannon se obtuvo de *P. poliadenia* con 1.28, 10 número de cepas y 4 géneros.

Conclusiones

- Se logró identificar diez géneros de hongos endófitos, según los antecedentes científicos, *Trichoderma* y *Clonostachys* muestran capacidad de control del nematodo *Meloidogyne incognita*.
- Se logra la mejora ambiental utilizando hongos endófitos (*Trichoderma* y *Clonostachys*) en el cultivo de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) para el control de *M. incognita* y constituye una alternativa importante para mitigar los impactos ambientales causados por el uso frecuente de agroquímicos.
- Entre las características morfológicas; que presentaron mejora en el desarrollo en plantas de SACHA INCHI (*P. volubilis* L.); el incremento de altura presentó un valor considerable gracias al género *Trichoderma* donde se obtuvo un incremento de altura hasta de 52.40 cm, mayor promedio de altura en relación al otro género *Clonostachys* con 20.81 cm. (**Gráfica 03**)
- El género *Trichoderma* redujo significativamente el número de nódulos en las plántulas con 27 números de nódulos, situándose en el lugar de mayor eficacia, en comparación con el control con 228 nódulos. Mientras que al aplicar *Clonostachys* se encontraron hasta 50 nódulos (**Gráfica 07**)
- La mejora ambiental en el cultivo del SACHA INCHI (*P. volubilis* L) usando hongos endófitos propios, en el control de *Meloidogyne incognita*; se pone a disposición una alternativa amigables con el ecosistema, y económicamente de bajo costo.

Recomendaciones

- Dentro de un proyecto tan ambicioso como fue este, siempre se desea que haya una mejora continua del mismo; por lo tanto se recomienda a futuros estudiantes que tengan interés en este proyecto, la complementación del estudio de estos dos géneros de hongos antagonistas.
- Analizar con mayor detenimiento y buscar si otros géneros de hongos endófitos presentados en la tesis funcionan como controladores de *Meloidogyne incognita* (NEMÁTODO DEL NUDO DE LA RAÍZ).
- Motivar al uso de hongos endófitos controladores de *M. incognita* para la producción de cultivos y mitigar el uso de agroquímicos que dañan el estado natural del ambiente.
- Las instituciones públicas y/o privadas deben contribuir a desarrollar y ejecutar proyectos de investigación, relacionados a la mejora ambiental de la producción de SACHA INCHI (*P. volubilis* L), con el uso de controladores biológicos, contribuyendo la sustitución de nematicidas y a mitigar la contaminación ambiental.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- ÁLVAREZ, Juan. (2011)** Tipos y niveles de investigación.[Sede web] losteques. Ucab .edu.ve.com ;2011-[acceso : 24 de septiembre del 2014]. Disponible en:http://losteques.ucab.edu.ve/Profesorado/alvarez_juan/mipagina/archivosweb/tiposyniveles.ppt
- ÁLVAREZ, Nancy. (2013)** Producción artesanal de Trichoderma [Sede web] minagri.gob; 2013 -[acceso: revisado el 16 de setiembre, 2014]. Disponible en http://www.minagri.gob.ar/site/desarrollo_rural/forobioinsumos/publicaciones/Manual_de_Trichoderma_2013_CEDAF_Jujuy.pdf
- AMACIFUÉN, y col. (2009)** Cultivo de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.); - [Sede web]. minag.gob; 2009 -[acceso: 12 de febrero, 2014]. http://agroaldia.minag.gob.pe/biblioteca/download/pdf/manuales-boletines/sacha-inchi/sacha_inchi.pdf.
- ARGUMEDO y col. (2009)** “El género fúngico Trichoderma” [Sede web] Rev. Int. Contam. Ambien; 2009 -[acceso: revisado el 10 de enero, 2015]. Disponible en <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/21570-38919-1-PB.pdf>.
- BALZARINI y col. (2015)** Conglomerados. [Sede web] fca; 2014 -[acceso: revisado el 27 de julio, 2015]. Disponible en http://www.fca.proed.unc.edu.ar/pluginfile.php/7962/mod_book/chapter/329/An%C3%A1lisis%20de%20Conglomerados.pdf.
- BAÑOS y col. (2010)** Efecto de enmiendas orgánicas y Trichoderma spp. en el manejo de Meloidogyne spp. [Sede web orgprints; 2010-[acceso: revisado el 08 de febrero, 2015]. Disponible en http://orgprints.org/24512/1/Ba%C3%B1os_Efecto.pdf
- BARALT, y col. (2012)** Identificación preliminar de hongos endófitos cultivables presentes en hojas y frutos de cacao. [Sede web] researchgate; 2012 -[acceso: 20 de febrero, 2014]. Disponible en http://www.researchgate.net/publication/235645574_

Identificacin preliminar de hongos endfitos cultivables presentes en hojas y frutos de cacao.

BARNETT, BARRÓN, WATANABE. (2009) Claves taxonómicas de identificación para hongos. [Sede web] tesis.unsm; 2009 -[acceso: revisado el 17 de marzo, 2015]. Disponible en <http://tesis.unsm.edu.pe/jspui/bitstream/11458/446/1/Ginsberg%20Rodriguez%20del%20Castillo.pdf>

CABRERA, Víctor. (2009) Alteraciones anatómicas ocasionadas por el nemátodo *Meloidogyne incognita*, en raíces de *ipomoea sp.*, una maleza de cultivos de soja. [Sede web] acsoja.org.; 2009 -[acceso: 06 de febrero, 2014]. Disponible en http://www.acsoja.org.ar/images/cms/contenidos/292_b.pdf.

CARRANZA, Alejandro. Evaluación de tres productos botánicos (*Crotalaria longirostrata*, *Tagetes tenuifolia* y *Asparagus officinalis*) y dos concentraciones para control del nematodo *Meloidogyne sp.* en el cultivo de zanahoria (*daucus carota*); a nivel de invernadero. [Sede web]. biblioteca.usac.edu; 2004 -[acceso: 09 de febrero, 2014]. Disponible en http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/01/01_2062.pdf.

CHAVES, Nancy. (2007) Utilización de bacterias y hongos endofíticos para el control biológico del nematodo barrenador *Radopholus similis (Cobb)* Thorn. [Sede web]. Orton .catie; 2007 -[acceso: 05 de febrero, 2014]. Disponible en <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/a1654e/a1654e.pdf>.

CRUZAT y IONANNIDIS. (2008) Biocontrol de Enfermedades Fungosas con *Trichoderma* [Sede web] itas; 2008 -[acceso: revisado el 26 de julio, 2015]. Disponible en http://itas.cl/wp/wp-content/uploads/2014/04/62_Libro_Trichoderma.pdf

DRASAM, 2016 En proyecto SNIP: 234347 - Mejoramiento del servicio de competitividad de la cadena de valor de sacha inchi a los productores en cuatro provincias de la región San Martín.

FLOR, María. (2013) Uso de agentes de control y protección biológica frente a nematodos de género *Meloidogyne* en cultivos protegidos bajo plástico. [Sede web]. hera.ugr.es; 2013 -[acceso: 05 de febrero, 2014]. Disponible en <http://hera.ugr.es/tesisugr/21862369.pdf>.

FRENCH Y HERBERT. (2013) Aislamiento y cultivo del hongo comestible *Pleurotus* afin *ostreatus* (jacq. ex Fr) Kumm EN TINGO MARIA.). [Sede web] [iiap.org](http://www.iiap.org); -2013 [acceso: revisado el 10 de enero, 2014]. Disponible en http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/Folia5_articulo1.pdf.

GARCÍA, Ana. (2003) Identificación de especies de nemátodos fitopatógenos de los géneros *Globodera spp.* y *Meloidogyne spp.* por medio de dos técnicas moleculares. [Sede web]. [bibliodigital.itcr](http://bibliodigital.itcr.ac.cr); 2003 -[acceso: revisado el 12 de marzo, 2014]. Disponible <http://bibliodigital.itcr.ac.cr:8080/xmlui/bitstream/handle/2238/459/TRABAJO%20FINAL.pdf?sequence=1>.

GONZÁLEZ, y col. (2012) Induction of chitinases and glucanases in *Trichoderma spp.* strains intended for biological control. [Sede web] [elfosscientiae](http://elfosscientiae.cigb.edu.cu); 2012 -[acceso: revisado el 24 de febrero, 2015]. Disponible en <http://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/Biotecnol%20Apl/2012/29/1/BA002901OL012-016.pdf>.

HERRERO, Noemí, (2011) Micovirus asociados a los hongos endofíticos y entomopatógenos *Tolypocladium cylindrosporum* y *Beauveria bassiana*, [Sede web]. digital.csic.es; 2011 -[acceso: revisado el 22 de febrero, 2014]. Disponible en <http://digital.csic.es/bitstream/10261/35061/1/TESIS%20NOEMI%20HERRERO.pdf>.

HOYER y col. (2009) Colonización endofítica de plantas de tomate por rosea el agente de control biológico *Clonostachys*. [Sede web] [clonostachys](http://clonostachys.com); 2009 -[acceso: revisado el 27 de julio, 2015]. Disponible en file:///C:/Users/Usuario/Desktop/agent%20clonostachys%20rosea_%20Topics%20by%20WorldWideScience.org.htm.

- IIAP**, San Martín (2014) Proyecto Mejora de la Oferta del Servicio de Transferencia Tecnológica en el IIAP San Martín SNIP: 144385; [Sede web]. iiap.org; 2014 - [acceso: revisado el 4 de abril, 2016]. Disponible en <http://www.iiap.org.pe/Upload/Transparencia/TRANSP685.pdf>
- INIA**, San Martín. (2006) Cultivo del Sacha Inchi, [Sede web]. cribd.com; 2006 -[acceso: revisado el 16 de marzo, 2016]. Disponible en <http://es.scribd.com/doc/130557829/Sacha-Inchi>.
- INIA**, San Martín. (2016) PNIA en cultivos agroindustriales. [Sede web]. inia.gob.pe; 2016 - [acceso: revisado el 3 de abril, 2016]. Disponible en <http://www.inia.gob.pe/programas/agroindustrial>
- LAMARI**. (2002) ASSESS. [Sede web] books; 2002 -[acceso: revisado el 24 de julio, 2015]. Disponible en <https://books.google.com.pe/books?id=SMpJxuVnInIC&pg=PA176&lpg=PA176&dq>.
- LA ROSA**, Rafael (2013) Germination of sacha inchi, *Plukenetia volubilis* L.. (mcbride, 1951) (malpighiales, euphorbiaceae) under four different conditions . [Sede web] sisbib; 2013 -[acceso: revisado el 25 de julio, 2015]. Disponible en http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologist/v11_n1/pdf/a2v11n1.pdf.
- LEYTON**, Alfredo. (2012) Investigaciones. [Sede web] investigacionestodo; 2012 -; [acceso: 20 de septiembre del 2014] Disponible en: <http://investigacionestodo.wordpress.com/2012/05/19/clases-y-tipos-cientifica/>.
- LEYVA** y col. (2013) Alternatives to control root-knot nematode in tomato crop under organoponics conditions. [Sede web] cagricola; 2010 -[acceso: revisado el 15 de mayo, 2015]. Disponible en http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V38-Numero_3/cag023111798.pdf.
- MAMARABADI**, y col. (2012) Caracterizacao de espécies de Clonostachys e avaliacao do parasitismo a botrytis cinérea. [Sede web] repositorio; 2012 -[acceso: revisado el

23 de junio 2015]. Disponible en http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/1184/2/DISSERTACAO_%20Caracteriza%C3

MÁRQUEZ y col. (2007) Respuesta de accesiones de sachá inchi *Plukenetia volubilis* L. a la infestación inducida del nematodo *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919) Chitwood, 1949. [Sede web] .iiap.org; 2007 -[acceso: revisado el 27 de julio, 2015]. Disponible en <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/PUBL1369.pdf>

MEMENZA, Miriam. (2009) Control biológico in vitro de *Botrytis cinerea* (Pers) mediante el uso de hongos antagonistas, en vid (*Vitis vinifera*). [Sede web] cybertesis; 2009 - [acceso: revisado el 10 de enero, 2015]. Disponible en <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/877>

MÉNDEZ, Mayra. (2006) Control biológico de nematodos con microorganismos antagonistas. [Sede web] actaf; 2006 -[acceso: revisado el 10 de enero, 2015]. Disponible en <http://www.actaf.co.cu/revistas/fitosanidad/2006/2006-10-2/RESUMEN-CONTROLB.pdf>

MENESES, Anabella. (2006) Utilización de hongos endofíticos provenientes de banano orgánico para el control biológico del nemátodo barrenador *Radopholus similis* Cobb, Thorne, [Sede web]. orton.catie; 2006 -[acceso: revisado el 03 de febrero, 2014]. Disponible en <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/a1654e/a1654e.pdf>.

OMAR, Daniel. (2006) Subsidies to the use of the shannon's diversity index. [Sede web] ufgd; 2006 -[acceso: revisado el 27 de julio, 2015]. Disponible en http://www.do.ufgd.edu.br/omardaniel/arquivos/docs/a_artigos/Fitossociologia/ShannonSubChile.pdf

PÉREZ; y col. (2006) Trichoderma, alternativa para el control biológico de nemátodos dentro de una agricultura sostenible [Sede web]. actaf; 2006 -[acceso: revisado el 13 de agosto, 2015]. Disponible en <http://www.actaf.co.cu/revistas/fitosanidad/>

2006/2006-10-2/RESUMEN-CONTROLB.pdf

PIEDRA, Ricardo. (2007) Manejo biológico de nematodos fitoparásitos con hongos y bacterias, [Sede web]. Downloads; 2007 -[acceso: revisado el 28 de mayo, 2014]. Disponible en file:///C:/Users/Usuario/Downloads/1345-4366-1-SM.pdf .

PLA, Laura. (2006) Índice de Shannon. [Sede web] scielo; 2006 -[acceso: revisado el 27 de julio, 2015]. Disponible en http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-18442006000800008&script=sci_arttext.

REÁTEGUI, Kennet. (2010) Identificación taxonómica de hongos endófitos. [Sede web]. innovaglobal.; 2010 -[acceso: revisado el 26 de noviembre, 2014]. Disponible en https://www.google.com.pe/?gfe_rd=ctrl&ei=pX0nU_SCFsSO8wal84CIAQ&gws_rd=2r#q=Identificaci%C3%B3n+taxon%C3%B3mica+de+hongos+end%C3%B3fitos.

RODRÍGUEZ, Manuel. (2013) “Efecto antagónico in vitro de *Clonostachys rosea* sobre *Botrytis cinérea* procedente de cultivos de *Vitis vinífera*” [Sede web] revistas.unitru; 2013 -[acceso: revisado el 26 de octubre, 2014]. Disponible en <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbiol/article/view/555>.

STEFANOVA, Marusia. (2007) Introducción y eficacia técnica del biocontrol de fitopatógenos con trichoderma spp. [Sede web] corforiocolorado; 2007 -[acceso: revisado el 22 de abril, 2015]. Disponible en <http://www.corforiocolorado.gov.ar/archivos/usotrichoenfusarium.pdf>

ANEXOS

PANEL FOTOGRÁFICO

ANEXOS:

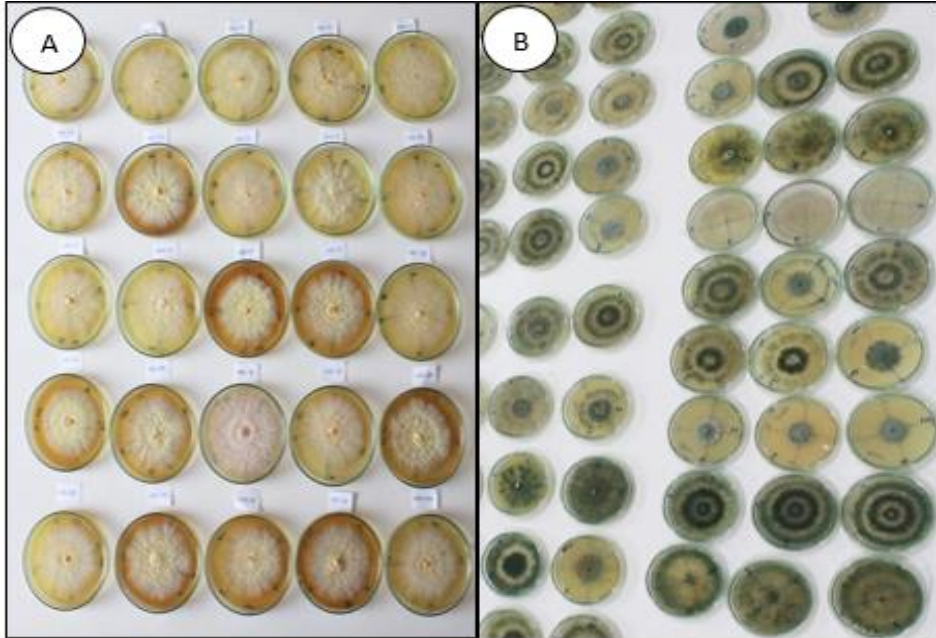


Foto 01: Hongos endófitos. A. Género *Clonostachys* y B. Género *Trichoderma*.



Foto 02: Siembra de *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI).

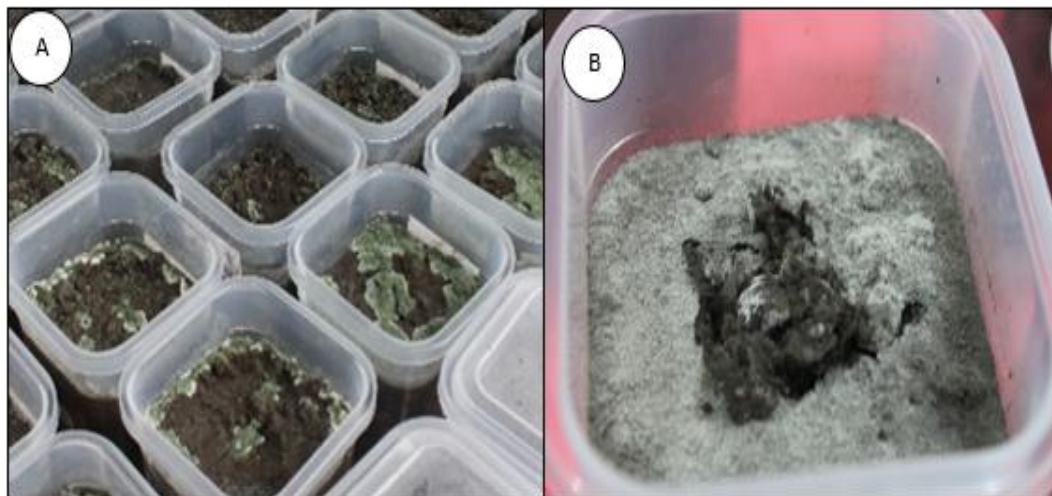


Foto 03: Macetas colonizadas con hongos endófitos. **A.** Macetas con *Trichoderma*, **B.** Macetas con *Clonostachys*.



Foto 04: Extracción de *Meloidogyne incognita*. **A.** Raíces de sachá inchi con nódulos, **B.** Raíces cortados en trozos. **C.** Hipoclorito de sodio al 5%. **D.** Raíces en tamices

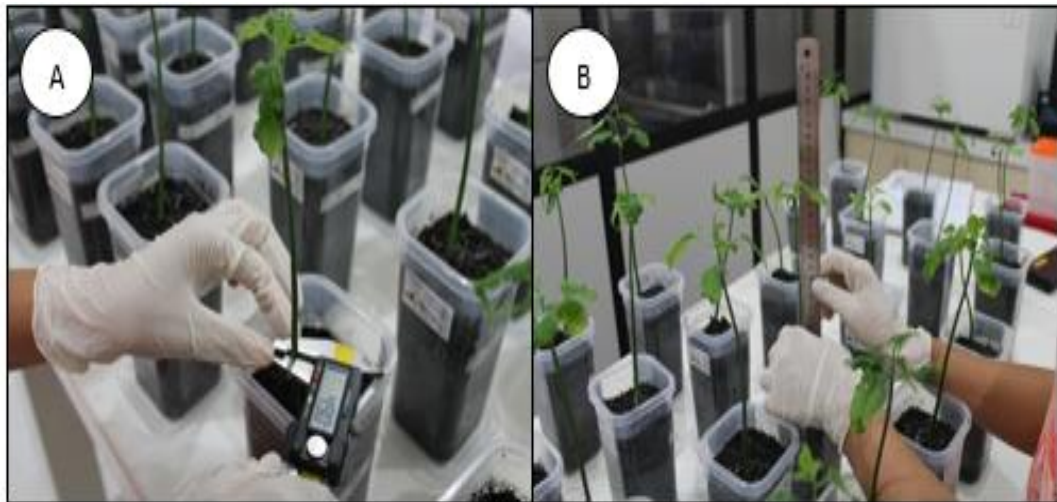


Foto 05. Evaluaciones de *Plukenetia volubilis* L., **A.** Medición de diámetro de tallo, **B.** Medición de la altura.



Foto 06: Sacrificio de *Plukenetia volubilis* L., **A.** Raíces de *Plukenetia volubilis* L., **B.** Evaluación de números de nódulos.

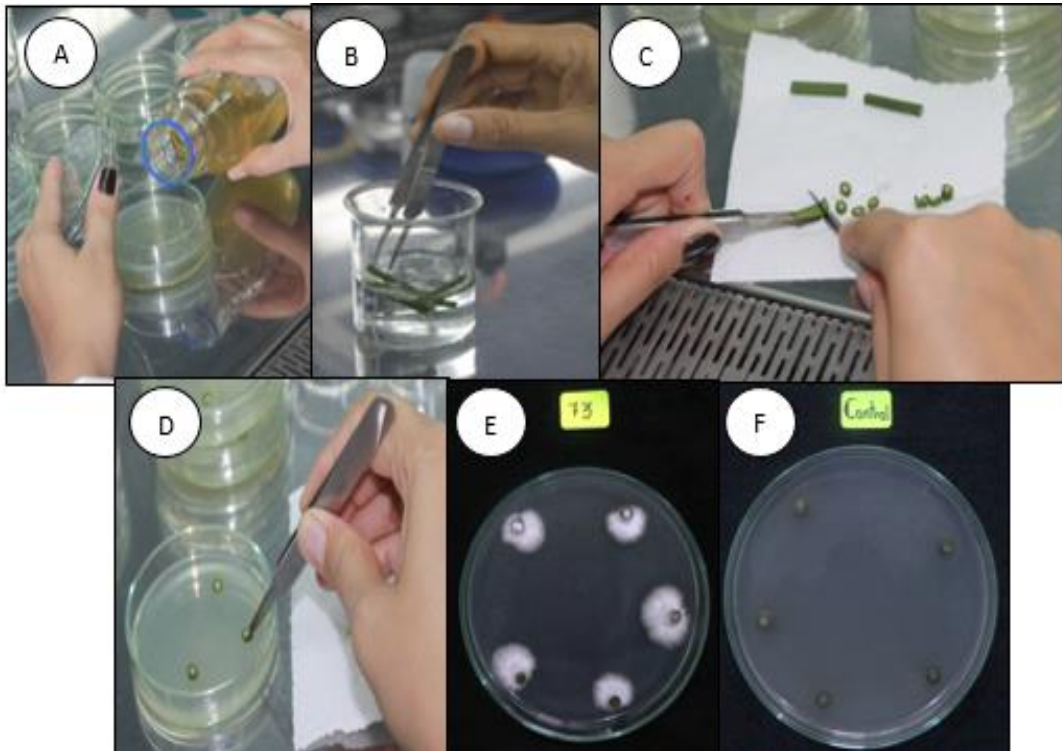


Foto 07: Determinación de capacidad endofítica de *Clonostachys* y *Trichoderma*. A. Plaqueo con agar PDA, B. Lavado de los tallos de *Plukenetia volubilis* L. (SACHA INCHI), C. Cortado de los tallos, D. Siembra de los trozos de tallos, E. Colonización del hongo a 5 días, F. Control sin colonizar.

TRATAMIENTOS			
Repeticiones	Control	Trichoderma	Clonostachys
1	17.2	63.1	21.26
2	16.5	50.44	20.2
3	16	29.84	20.08
4	15.5	51.16	21.2
5	1.9	32.94	22.1
6	17	73.1	20.52
7	15.2	27.68	22.68
8	17	77.6	16.96
9	17.4	64.84	21.92
10	15.9	53.28	21.22
PROMEDIO	14.96	52.40	20.81

Tabla 06: Determinación de incremento de altura del Control, *Trichoderma* y *Clonostachys*

CLONOSTACHYS			
Repeticiones	Altura inicial	Altura final	Índice de Crecimiento
1	8.50	21.26	0.40
2	11.02	20.20	0.55
3	9.68	20.08	0.48
4	7.96	21.20	0.38
5	11.62	22.10	0.53
6	10.10	20.52	0.49
7	10.44	22.68	0.46
8	8.92	16.96	0.53
9	11.40	21.92	0.52
10	12.26	21.22	0.58
PROMEDIO	10.19	20.81	0.49

Tabla 07: Determinación del índice de crecimiento de Clonostachys y el Control.

TRICHODERMA			
Repeticiones	Altura inicial	Altura final	Índice de Crecimiento
1	8.50	21.26	0.40
2	11.02	20.20	0.55
3	9.68	20.08	0.48
4	7.96	21.20	0.38
5	11.62	22.10	0.53
6	10.10	20.52	0.49
7	10.44	22.68	0.46
8	8.92	16.96	0.53
9	11.40	21.92	0.52
10	12.26	21.22	0.58
PROMEDIO	10.19	20.81	0.49

Tabla 08: Determinación del índice de crecimiento de Trichoderma.

TRATAMIENTO			
Repeticiones	Control	Trichoderma	Clonostachys
1	4.33	4.85	2.88
2	4.25	4.63	4.02
3	4.29	4.66	3.43
4	4.11	4.73	3.32
5	4.33	4.72	3.51
6	4.78	4.85	3.20
7	4.29	4.55	3.61
8	4.29	4.81	3.19
9	4.18	5.03	3.12
10	4.2	5.12	3.16
PROMEDIO	4.31	4.79	3.27

Tabla 09: Determinación del diámetro de tallo del Control, Trichoderma y Clonostachys.

TRATAMIENTO			
Repeticiones	Control	Trichoderma	Clonostachys
1	65.20	70.9	66.57
2	67	80.79	36.89
3	65	60.74	51.29
4	63.29	49.35	79.65
5	64.22	60.93	57.58
6	66	65	62.92
7	64.77	67.63	37.09
8	64.98	80.08	79.97
9	65	80.88	58.15
10	60.99	50.41	38.67
PROMEDIO	64.65	66.67	56.88

Tabla 10: Determinación de la longitud de raíz del Control, Trichoderma y Clonostachys.

TRICHODERMA				
Repeticiones	CONTROL	Altura final	Diámetro final	Índice de esbeltez
1	7.45	14.73	4.02	3.66
2	5.71	16.86	3.43	4.92
3	5.30	16.22	3.32	4.89
4	7.07	14.91	3.51	4.25
5	4.98	17.56	3.20	5.48
6	7.47	14.90	3.61	4.12
7	5.03	17.18	3.19	5.38
8	8.23	13.84	3.12	4.43
9	7.01	17.01	3.16	5.39
10	6.47	16.91	3.27	5.17
PROMEDIO	6.47	16.01	3.38	4.77

Tabla 11: Determinación del índice de esbeltez de Trichoderma y el Control.

CLONOSTACHYS			
Repeticiones	Altura final	Diámetro final	Índice de esbeltez
1	36.09	4.85	6.32
2	26.46	4.63	5.87
3	24.68	4.66	6.2
4	33.45	4.73	5.98
5	23.50	4.72	7.1
6	36.24	4.85	6.66
7	22.88	4.55	5.95
8	39.59	4.81	5.39
9	35.25	5.03	6.08
10	33.13	5.12	6.9
PROMEDIO	31.13	4.79	6.25

Tabla 12: Determinación del índice de esbeltez de Clonostachys.

TRATAMIENTO			
Repeticiones	Control	Trichoderma	Clonostachys
1	228	37	47
2	232	13	38
3	220	30	42
4	225	27	56
5	224	17	50
6	231	13	82
7	229	51	56
8	226	32	24
9	232	23	33
10	234	30	67
PROMEDIO	228.10	27.30	49.50

Tabla 13: Determinación de número de nódulos del Control, Trichoderma y Clonostachys.

TRATAMIENTO			
Repeticiones	Control	Trichoderma	Clonostachys
1	0	70.9	60
2	0	65.8	55.99
3	0	64.77	61.1
4	0	77	60.55
5	0	60	60
6	0	66	66.4
7	0	65.88	60.44
8	0	71.9	62.2
9	0	65.74	61
10	0	69.6	60.33
PROMEDIO	0.00	67.76	60.80

Tabla 14: Determinación de capacidad endofítica del Control, Trichoderma y Clonostachys.