

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN FITOPATOLOGÍA**



**“ETIOLOGÍA Y CONTROL DE LA PUDRICIÓN DEL CUELLO EN
EL CULTIVO DE *Gypsophila paniculata* EN EL VALLE DE CARAZ,
ANCASH”**

Presentada por:

RENE AGUILAR ANCCOTA

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGISTER SCIENTIAE
EN FITOPATOLOGÍA**

Lima, Perú

2020

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN FITOPATOLOGÍA**

**“ETIOLOGÍA Y CONTROL DE LA PUDRICIÓN DEL CUELLO EN
EL CULTIVO DE *Gypsophila paniculata* EN EL VALLE DE CARAZ,
ANCASH”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGISTER SCIENTIAE
EN FITOPATOLOGÍA**

Presentada por:

RENÉ AGUILAR ANCCOTA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dr. Jorge Escobedo Álvarez

PRESIDENTE

Dra. Leonor Mattos Calderón

ASESOR

M.Sc. César Fribourg Solís

MIEMBRO

Mg.Sc. Carlos Cadenas Giraldo

MIEMBRO

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida y por sus bendiciones.

A mi madre Natalia, por su motivación y consejos a lo largo de mi vida.

A mis hermanos, Carlos Alberto, Julio César, Delia y Omar, por su apoyo incondicional.

A mi esposa Virginia y a mi hijo Jean Piero por su compañía y por alentarme siempre para
alcanzar mis objetivos.

AGRADECIMIENTO

A la Dra. Leonor Mattos Calderón, asesora de la presente tesis, mi más profundo agradecimiento, por sus orientaciones, aportes, y apoyo incondicional durante el desarrollo del trabajo.

Al Ing. M. Sc. César Fribourg Solis, Ing. Mg. Sc. Carlos Cadenas Giraldo, Dr. Jorge Escobedo, por sus comentarios, observaciones y sugerencias en la redacción del trabajo.

A la Empresa Roots Perú, por el apoyo logístico, financiamiento y por haberme facilitado una parcela experimental en el valle del callejón de Huaylas, Prov. de Caraz - Ancash.

A los docentes del área de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria La Molina, por sus enseñanzas impartidas durante los estudios de maestría.

Al personal administrativo y técnicos del laboratorio de la especialidad de Fitopatología, por su apoyo y palabras de aliento hasta concluir mis estudios.

A mis amigos, Tomas, Yuri, Gloria, con quienes compartimos muchas anécdotas, vivencias, trabajo en grupo, y gran compañerismo.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCION	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Cultivo de <i>Gypsophila</i>	3
2.2. Enfermedades importantes	4
2.2.1 Ubicación taxonómica.....	4
2.2.2 Características morfológicas	4
2.2.3 Control de hongos fitopatógenos.....	6
a. Control químico.....	6
b. Control biológico.....	7
III. MATERIALES Y METODOS.....	11
3.1. Lugar y periodo de ejecución	11
3.2. Recolección de muestras.....	11
3.3. Procesamiento de la muestra	11
3.4. Aislamiento y purificación de patógenos	12
3.5. Identificación de los fitopatógenos aislados	12
3.6. Prueba de patogenicidad	12
3.7. Prueba y evaluación de fungicidas en condiciones de <i>in vitro</i>	13
3.7.1. Evaluaciones	14
3.7.2. Diseño estadístico	15
3.8. Prueba y evaluación de eficacia de <i>Trichoderma</i> spp. <i>in vitro</i>	15
3.9. Descripción del ensayo de fungicidas en campo.....	16
3.10. Prueba de biocontroladores en campo	17
3.10.1. Producción de los hongos biocontroladores	17
3.10.2. Secuencia, dosis, modo de aplicación del sustrato y tratamientos	17
3.10.3. Descripción del campo experimental	17

3.10.4. Diseño estadístico	18
3.10.5. Parámetros de evaluación.....	19
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
4.1. Sintomatología.....	20
4.2. Aislamiento e identificación de hongos	21
4.3. Prueba de patogenicidad	22
4.4. Efecto de fungicidas <i>in vitro</i> frente a <i>Rhizoctonia solani</i>	23
4.5. Efecto de biocontroladores en condiciones <i>in vitro</i>	27
4.6. Efecto de fungicidas y <i>Trichoderma</i> spp. en campo.....	31
4.6.1. Incidencia de la enfermedad.....	31
4.6.2. Peso fresco de la parte aérea de <i>Gypsophila</i> (Kg).....	33
4.6.3. Rendimiento (Nº de tallos florales cosechados/planta).....	35
V. CONCLUSIONES.....	38
VI. RECOMENDACIONES	39
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	40
VII. ANEXOS	48

ÍNDICE DE CUADROS

		Pág.
Cuadro 1	Fungicidas utilizados a dosis baja y alta a nivel de <i>in vitro</i> para el control del hongo <i>Rhizoctonia solani</i> .	14
Cuadro 2	Escala de evaluación del antagonismo <i>in vitro</i> , tomando en cuenta la invasión, colonización y esporulación de <i>Trichoderma</i> spp. sobre la colonia del hongo patógeno.	15
Cuadro 3	Fungicidas empleados en campo para el control de la enfermedad de pudrición del cuello en el cultivo de <i>Gypsophila paniculata</i> , provincia de Huaylas, Ancash.	16
Cuadro 4	Croquis del campo experimental del efecto de fungicidas y <i>Trichoderma</i> spp. en el control de la enfermedad de pudrición del cuello en <i>G. paniculata</i> , parcela de la empresa Roots Perú, Provincia de Huaylas-Ancash.	18
Cuadro 5	Hongos aislados e identificados de tallo/corona con síntomas de pudrición en el cuello de <i>Gypsophila paniculata</i> en diferentes medios de cultivo.	22
Cuadro 6	Efecto <i>in vitro</i> de fungicidas a dosis baja y alta en la inhibición del crecimiento micelial del hongo <i>Rhizoctonia solani</i> agente causal de la pudrición del cuello en el cultivo de <i>Gypsophila paniculata</i> .	25
Cuadro 7	Análisis de Variancia del efecto de fungicidas <i>in vitro</i> a dosis baja y alta frente al hongo <i>Rhizoctonia solani</i> agente causal de la pudrición del cuello en el cultivo de <i>Gypsophila paniculata</i> .	26
Cuadro 8	Velocidad de crecimiento micelial (cm) <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma</i> spp. frente a <i>Rhizoctonia solani</i> , agente causal de pudrición del cuello en el cultivo de <i>Gypsophila paniculata</i> .	28
Cuadro 9	Grado de parasitismo de <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>T. viride</i> sobre <i>R. solani</i> , en condiciones <i>in vitro</i> .	28

Cuadro 10	Efecto de fungicidas a dosis baja, dosis alta y <i>Trichoderma</i> spp. a nivel de campo sobre la incidencia (%) de la enfermedad de pudrición del cuello en <i>Gypsophila paniculata</i> , en el valle del callejón de Huaylas, Ancash.	33
Cuadro 11	Peso fresco de la parte aérea de <i>Gypsophila paniculata</i> por efecto de fungicidas a dosis baja y alta y <i>Trichoderma</i> spp., en el valle del callejón de Huaylas, Prov. de Caraz-Ancash.	35
Cuadro 12	Prueba de Duncan ($P \leq 0,05$) de número de tallos florales cosechados/planta de <i>Gypsophila paniculata</i> por el efecto de fungicidas a dosis baja y alta y <i>Trichoderma</i> spp., en el valle del callejón de Huaylas, Prov. de Caraz-Ancash.	37
Cuadro 13	Análisis de variancia de número de tallos florales cosechados por planta de <i>Gypsophila paniculata</i> en la prueba de fungicidas a dosis baja, dosis alta y <i>Trichoderma</i> spp. en callejón de Huaylas, Caraz – Ancash.	37

ÍNDICE DE FIGURAS

N°		Pág.
Figura 1	Plantas de <i>Gypsophila paniculata</i> con síntoma de flacidez de las hojas, colapso, marchitez generalizado y muerte de la planta por el ataque de <i>Rhizoctonia solani</i> .	20
Figura 2	Prueba de patogenicidad en plántulas de <i>Gypsophila paniculata</i> , a) inoculada con <i>Rhizoctonia solani</i> , se observa colapso y muerte b) <i>Fusarium</i> spp. c) <i>Pythium</i> spp. y d) testigo sin inoculación se aprecian plántulas sanas sin síntomas de la enfermedad.	23
Figura 3	Inhibición al 100 % del crecimiento micelial del hongo <i>Rhizoctonia solani</i> a) Testigo, b) Rovral, c) Benopoint, d) Parachupadera, e) Homai y f) Vitavax con dosis baja y alta.	26
Figura 4	Antagonismo de <i>Trichoderma harzianum</i> frente a <i>Rhizoctonia solani</i> , a) a los 3 días después de incubación (ddi) se observó antagonismo por competencia, b y c) a los 4 y 6 ddi se observó colonización y esporulación de <i>T. harzianum</i> sobre la colonia del hongo <i>R. solani</i> .	29
Figura 5	Antagonismo de <i>Trichoderma viride</i> frente a <i>Rhizoctonia solani</i> , a) a los 3 ddi se observó se observó antagonismo por competencia, b y c) a los 4 y 6 ddi se observó colonización y esporulación de <i>T. viride</i> sobre la colonia del hongo <i>R. solani</i> .	30

ÍNDICE DE ANEXOS

Cuadro 14	Crecimiento micelial (cm.) del hongo <i>Rhizoctonia solani</i> después de 24 horas de incubación a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis baja.	49
Cuadro 15	Crecimiento micelial (cm.) del hongo <i>Rhizoctonia solani</i> después de 48 horas de incubación a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis baja.	49
Cuadro 16	Crecimiento micelial (cm.) del hongo <i>Rhizoctonia solani</i> después de 72 horas de incubación a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis baja.	50
Cuadro 17	Crecimiento micelial (cm.) del hongo <i>Rhizoctonia solani</i> después de 4 días después de incubación (ddi) a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis baja.	50
Cuadro 18	Crecimiento micelial (cm.) del hongo <i>Rhizoctonia solani</i> después de 24 horas de incubación (ddi) a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis alta.	51
Cuadro 19	Crecimiento micelial (cm.) del hongo <i>Rhizoctonia solani</i> después de 48 horas de incubación a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis alta.	51
Cuadro 20	Crecimiento micelial (cm.) del hongo <i>Rhizoctonia solani</i> después de 72 horas de incubación a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis alta.	52
Cuadro 21	Crecimiento micelial (cm.) del hongo <i>Rhizoctonia solani</i> después de 4 días después de incubación a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis alta.	52
Cuadro 22	Número de plantas evaluadas sanas de <i>Gypsophila paniculata</i> en la prueba de fungicidas a dosis baja. Caraz - 2001.	53

Cuadro 23	Número de plantas sanas evaluadas de <i>Gypsophila paniculata</i> en la prueba de fungicidas a dosis alta. Caraz - 2001.	53
Cuadro 24	Número de plantas sanas evaluadas de <i>Gypsophila paniculata</i> en el ensayo con biocontroladores a nivel de campo. Caraz - 2001.	54
Cuadro 25	Efecto del tratamiento con los fungicidas a dosis baja y alta a nivel de <i>in vitro</i> sobre el crecimiento e inhibición del crecimiento micelial (%) del hongo <i>Rhizoctonia solani</i> .	54
Cuadro 26	Número de tallos florales cosechados/planta y peso verde de <i>Gypsophila paniculata</i> en la prueba de fungicidas a dosis baja. Caraz - 2001.	55
Cuadro 27	Número de tallos florales cosechados/planta y peso verde de <i>Gypsophila paniculata</i> en la prueba de fungicidas a dosis alta. Caraz - 2001.	55

RESUMEN

Gypsophila es una planta ornamental de mucha demanda en el valle del callejón de Huaylas-Ancash de importancia económica, sin embargo, se viene presentando la enfermedad de pudrición del cuello, cuyos síntomas son pérdida de vigor, colapso y muerte. Los objetivos fueron: identificar al agente causal de la enfermedad, probar la efectividad de control de fungicidas y antagonistas *in vitro* y en campo. Para el aislamiento las muestras se lavaron, se cortaron porciones pequeñas de la zona infectada, se sumergieron en hipoclorito de sodio al 1% por un minuto, se enjuagaron por dos veces y se orearon sobre papel toalla, luego fueron sembradas en medio PDA e incubadas a 25°C. Para la patogenicidad se utilizaron plántulas de *Gypsophila*, se trasplantaron a macetas con sustrato estéril 1:2 (suelo de campo y humus), para la inoculación se cortaron fragmentos de medio PDA+desarrollo micelial de los aislados, ubicándose en el cuello de las plántulas. De las plántulas que mostraron síntomas de decaimiento y marchitez, se realizó el reaislamiento. Para el ensayo de fungicidas *in vitro* se empleó el “medio envenenado”, y para la prueba de biocontroladores el “método dual”. El ensayo de patogenicidad nos permitió determinar que el agente causal es el hongo *Rhizoctonia solani*. Rovral, Benopoint, Vitavax, Parachupadera y Homai a dosis baja y alta *in vitro* inhibieron al 100 % el crecimiento micelial de *R. solani*. *Trichoderma harzianum* y *T. viride* a nivel de *in vitro* alcanzaron mayor velocidad de crecimiento frente a *R. solani*, observándose invasión total de la colonia y esporulación, alcanzando grado 4 de antagonismo. En campo menor incidencia (%) se obtuvo con el tratamiento *T. harzianum* registrándose 12.5% inferior al testigo que alcanzó 51.28 %, y mayor peso fresco y mayor número de tallos florales/planta se cosecharon con el tratamiento *T. harzianum*.

Palabras clave: *Gypsophila*, pudrición del cuello, *Rhizoctonia solani* y *Trichoderma* spp.

ABSTRACT

Gypsophila is an ornamental plant of great demand in the valley of the Callejón de Huaylas-Ancash, with economic importance; however, it has been presenting the disease of rotting of the neck, whose symptoms are loss of vigor, collapse and death. The objectives were: to identify the causal agent of the disease, to test the effectiveness of fungicide and antagonist control in vitro and in the field. For isolation, the samples were washed, small portions of the infected area were cut, immersed in 1% sodium hypochlorite for one minute, rinsed twice and rinsed on paper towels, then seeded in PDA medium and incubated at 25 °C. For the pathogenicity, *Gypsophila* seedlings were used, they were transplanted to pots with sterile substrate 1: 2 (field soil and humus), for the inoculation fragments of PDA medium + mycelial development of the isolates were cut, located in the neck of the seedlings. Of the seedlings that showed symptoms of decay and wilting, re-isolation was performed. For the in vitro fungicide test the "poisoned medium" was used, and for the biocontroller test the "dual method". The pathogenicity test allowed us to determine that the causative agent is the fungus *Rhizoctonia solani*. Rovral, Benopoint, Vitavax, Parachupadera and Homai at low and high doses in vitro inhibited 100% mycelial growth of *R. solani*. *Trichoderma harzianum* and *T. viride* in vitro level, attained a higher growth rate against *R. solani*, observing total invasion of the colony and sporulation, reaching degree 4 of antagonism. In field minor incidence (%) was obtained with the treatment *T. harzianum*, registering 12.5% lower than the control that reached 51.28%, and greater fresh weight and greater number of floral stems/plant were harvested with the *T. harzianum* treatment.

Key words: *Gypsophila*, neck rot, *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma* spp.

I. INTRODUCCIÓN

Gypsophila paniculata L. es una planta ornamental, cuyas flores tienen mucha demanda en los mercados, genera ingresos económicos para el Perú, y por ello representa un cultivo de mucha importancia para los productores en el valle del callejón de Huaylas, Caraz, departamento de Ancash.

El 80% de flores a nivel nacional se cultivan en Caraz, y de esta actividad vive la mayoría de la población de la provincia de Huaylas, los pequeños productores abastecen a las ciudades de Trujillo, Piura y Lima, siendo las fechas de mayor demanda, día de la madre, día de los muertos y San Valentín.

La Empresa Corporación Roots Perú, viene cultivando 100 has de flores como: *Gypsophila*, *liatris*, girasol, cartamos, *godetia*, entre otros; al año exporta más de dos millones de ramos de flores a los países de Estado Unidos, Alemania, Francia, Italia, Canadá, Panamá y Costa Rica, en los cuales un solo tallo floral llega a costar \$ 2 a 3.

En el valle del callejón de Huaylas se ha venido presentando la muerte de plantas de *Gypsophila* por la presencia de una pudrición en el cuello y en la parte aérea la flacidez de hojas basales, pérdida de vigor, marchitez generalizada y colapso; a nivel del cuello las lesiones son secas, de coloración marrón y como consecuencia de ello se produce la muerte de plantas y además causa pérdidas económicas; dada la falta de información escrita y la importancia de la enfermedad se realizó el presente trabajo de investigación, que tuvo como meta identificar el agente causal de la pudrición del cuello y probar la eficacia de diferentes fungicidas y biocontroladores en el control de la enfermedad, contribuyendo de esta forma a la solución de los problemas fitopatológicos que tienen los floricultores en el valle de Caraz.

Los objetivos del presente estudio fueron:

- a. Determinar el agente causal de la enfermedad de pudrición del cuello en el cultivo de *Gypsophila paniculata*.
- b. Evaluar *in vitro* y en campo la eficacia de fungicidas y de *Trichoderma* spp. en el control del agente causante de la pudrición del cuello en el cultivo de *G. paniculata* en el valle del Callejón de Huaylas, Ancash.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CULTIVO DE *Gypsophila paniculata*

Gypsophila paniculata L. es originaria de Europa y Asia, y es ampliamente cultivada en los Estados Unidos de Norte América (Florida, California y en Carolina del Norte), la planta produce ramas cargadas de racimos conformados por numerosas flores, se cultiva principalmente en cualquier área donde se cultiva crisantemos; crecen en suelos secos, con grava, calcáreos, con buen drenaje, con pH que fluctúa de 6.5 a 7.5 dando muy buena producción. En los últimos años se ha incrementado el interés mundial por estas flores, existiendo gran demanda local como también internacional, esto debido a que el cultivo florece en invierno (Salinger 1991; Larson 1996).

Gypsophila pertenece a la división Fanerógama, clase Magnoliopsida, orden Caryophyllales, familia Caryophyllaceae; el sistema radicular está compuesto de raíces densas, como correas y en el centro de la corona tiene sólo un número limitado de yemas (brotes). En invierno normalmente es dormante, produce racimos de vástagos en la base, tiene crecimiento en roseta y de la cual los vástagos florecientes se extienden gradualmente conforme aumenta la longitud del día y se eleva la temperatura. Es una planta dependiente de días largos para su buen desarrollo (Salinger 1991; Larson 1996).

G. paniculata se propaga fácilmente por esquejes vegetativos y exige un suelo con buen drenaje, con un nivel moderado de fertilidad, un pH por encima de 6,5 y con un nivel adecuado de calcio. Las flores de *G. paniculata* crecen muy satisfactoriamente en instalaciones cubiertas con telas de polietileno o en invernaderos de cristal con ventilación adecuada (Salinger 1991; Larson 1996).

2.2. ENFERMEDADES IMPORTANTES

Farr *et al.* (1989) indica que en el ámbito mundial en el cultivo de *Gypsophila* han sido reportadas muchas enfermedades causadas por bacterias, hongos y virus. Entre las enfermedades fungosas se reportan a las siguientes: Mancha foliar causada por *Alternaria* sp., pudrición de la hoja y flor (*Botrytis cinerea*), pudrición del tallo (*Fusarium* spp.), chupadera fungosa (*Rhizoctonia solani*), pudrición de raíces (*Pythium* spp., *Phytophthora* spp.), en nuestro país no existen reportes sobre las enfermedades que afectan a *G. paniculata*.

2.3. HONGO *Rhizoctonia solani* Kuhn

2.3.1 Ubicación taxonómica

Según Wells and Bandoni (2001), clasifican al hongo *Rhizoctonia solani* de la siguiente manera:

División	:	Basidiomycota
Clase	:	Heterobasidiomycetes
Sub clase	:	Heterobasidiomycetidae
Orden	:	Ceratobasidiales
Género	:	Rhizoctonia
Especie	:	<i>Rhizoctonia solani</i> (Fase imperfecta)

2.3.2 Características morfológicas

R. solani es un hongo de amplia distribución mundial, ha sido aislado de varias familias de plantas cultivadas enfermas, por lo que se le califica como polífago y puede ser aislado de suelos con o sin cultivo. Cada uno de estos aislamientos posee características diferentes, en cuanto a su patogenicidad, morfología, desarrollo en medio de cultivo, morfología de los esclerotes, etc.; las cuales han permitido establecer grupos intraespecíficos dentro de dicho patógeno (Anderson 1982).

Ogoshi (1987) establece las características del género *Rhizoctonia* como: presenta septa de tipo dolíporo, forma una septa en la ramificación de la hifa cerca al punto de origen, ramificación cerca de la septa distal de células en las hifas vegetativas jóvenes, no tiene clampas, no hay presencia de conidias, excepto células moniloides, no hay diferenciación entre el anillo y la médula en el esclerote y no hay desarrollo de rizomorfos.

Parmeter and Whitney (1979) tipifican a *Rhizoctonia solani* como sigue: Hifas gruesas (Aprox. 6 - 8 μ de diámetro), hifas pigmentadas de color marrón, presencia de prominente poro septal, células multinucleadas en las hifas vegetativas jóvenes, constricción en la base de la ramificación. La fase Teleomorfo corresponde al género *Thanatephorus* (Butler *et al.* 1970; Frank *et al.* 1976; Wells and Bandoni 2001).

Sneh *et al.* (1991) indican que *Rhizoctonia solani* ocasiona pérdidas importantes, en la mayoría de las plantas perennes y anuales, incluyendo casi todos los cultivos hortícolas. Causa enfermedad del damping off o caída de las plántulas, como consecuencia del estrangulamiento y necrosis del tallo a nivel del cuello. Reportan también que *R. solani* es un patógeno de distribución cosmopolita nativo del suelo. La enfermedad puede desarrollarse en cualquier momento después de la emergencia de las plántulas y se caracteriza por una desintegración y obscurecimiento del tejido cortical del cuello de las plántulas, esto se debe a que el hongo *R. solani* segrega enzimas líticas (poligalacturonasas, pectinesterasas, celulasas, etc.) que son las que determinan la pérdida de cohesión de los tejidos, ruptura de la pared celular, lisis del protoplasto y finalmente conlleva a la muerte de plantas. Debido a su amplio rango de hospedantes, amplia distribución geográfica, adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales y diversas enfermedades que produce, el hongo *R. solani* se encuentran entre los organismos fitopatógenos más importantes (Talboys 1978).

En el hospedante *Stylosanthes guianensis* el tizón foliar es causado por *R. solani*, los síntomas se caracterizan por la presencia de pudrición de las hojas y terminales de los tallos, especialmente en las épocas lluviosas (Lenné *et al.* 1983). En la naturaleza *R. solani* comprende muchas razas que difieren en morfología, fisiología, patogenicidad, hábitat de origen, rango de hospedantes y grupos de anastomosis (Galindo 1979; Sherwood 1970).

2.3.3. Control de hongos fitopatógenos

a. Control químico

Los fungicidas de contacto usados comúnmente para la prevención y control de hongos deuteromycetes, son del grupo de los ditiocarbamatos, cúpricos, dicarboximidas y derivados de compuestos aromáticos. Entre los fungicidas sistémicos, tenemos a los benzimidazoles, triazoles e imidazoles (Cremllyn 1989; Latorre 1989; Mont 1993).

Los ditiocarbamatos actúan impidiendo la conversión de la glucosa a ácido pirúvico en el proceso de la glicólisis, también inhiben la formación de la coenzima A, bloqueando la enzima deshidrogenasa succínica evitando la transformación a ácido fumárico en el ciclo de Krebs. Algunos metabolitos de este grupo inactivan varios procesos fisiológicos y bioquímicos importantes, como el proceso de la respiración (Cremllyn 1989; Mont 1993).

El modo de acción de los dicarboximidas es que interfiere la actividad del ácido desoxirribonucleico, tienen un efecto débil en la síntesis de quitina y que no tienen un efecto real sobre la respiración y permeabilidad de membrana o síntesis del ácido ribonucleico (La Torre 1989).

Los fungicidas cúpricos tienen una acción fungistática, impiden la germinación de las esporas por la desnaturalización de las proteínas y enzimas de los hongos (Mont, 1993).

Los derivados de los compuestos aromáticos tienen una acción tóxica sobre los grupos sulfhidrilos esenciales, también actúan interfiriendo en la síntesis de la quitina, reducen el crecimiento y la esporulación (Cremllyn 1989; Mont 1993).

Los fungicidas benzimidazoles forman un complejo con la tubulina de las células, (encargada de la síntesis de los microtúbulos que forman el huso acromático en la profase), y también actúan en la metafase. Por otro lado, estos fungicidas también producen la inhibición de la germinación de las esporas, crecimiento del micelio, formación de haustorios y apresorio (La Torre 1989).

b. Control biológico

El control biológico de hongos fitopatógenos se basa en la acción antifúngica de microorganismos antagónicos que ejercen un control efectivo sobre el patógeno logrando un significativo control de la enfermedad, el cual puede ser definido como “menor incidencia o severidad de la enfermedad” a diferencia de las parcelas no tratadas, sin considerar el costo; pero, una definición más exacta de control de la enfermedad es aquella que toma en cuenta el beneficio económico del control, esta última definición es la única que el agricultor considera (Adams 1990).

Actualmente, el costo del desarrollo de un nuevo pesticida se estima en 30 millones de dólares. Por estas y otras razones las compañías privadas e instituciones académicas vienen desarrollando productos no químicos para el control de enfermedades de plantas (Chet 1990).

Trichoderma spp. pertenece a la orden Moniliales y se caracteriza por sus conidióforos hialinos, muchas veces blanquecinos, no verticilados; presenta fiálides simples o en grupos; conidias (phialosporas) hialinas, unicelulares, ovoide, nacen en pequeños racimos terminales. Se le reconoce fácilmente por su crecimiento rápido y por el color verde de las conidias, son saprófitos muy comunes en el suelo o sobre la madera (Barnett and Hunter 1998). Las especies de *Trichoderma* se comportan como parásitos frente a diversos patógenos, atacan directamente y producen la lisis de los micelios y afectan a los esclerotes, el parasitismo de *T. viride* se manifiesta mediante la formación de haustorios al interior de su hospedante, causándole la muerte o actuando indirectamente por antibiosis. Estas especies son capaces de secretar distintos niveles de enzimas hidrolíticas como las quitinasas y β -1,3 glucanasas, que degradan la quitina y la lámina media respectivamente Elad *et al.* (1980), Harman (1996), Cook y Baker (1983) clasifican a *T. viride* como un parásito necrotrófico con capacidad saprofitica competitiva por desenvolverse en dos formas de parasitismo: antagonismo y competencia; afirman que la competencia más importante es por nutrientes y espacio, un importante mecanismo de biocontrol en este sistema es la competencia por carbono y/o nitrógeno que se establece entre *Trichoderma* y los patógenos.

Almaraz-Sánchez *et al.* (2012) reportan una reducción significativa del micelio de *P. cinnamomi* en presencia de cepas antagonistas de *Trichoderma* lo cual se lo atribuyen a la capacidad que posee el antagonista de crecer más rápidamente que el patógeno y esto a su vez hace que aumente su capacidad antagonista.

Otros investigadores indican que los hongos del género *Trichoderma* está catalogado entre los agentes de control biológico más eficientes, debido al amplio espectro antagonista que presentan como la producción de enzimas extracelulares con actividad antibiótica, el parasitismo y la habilidad de incrementar el desarrollo y crecimiento de las plantas, entre otros mecanismos de acción (Benitez *et al.* 2004; Howell 2003 y Harman *et al.* 2004).

En una investigación llevada a cabo para determinar los modos de acción de aislados de *Trichoderma* spp., frente a *Didymella bryoniae* agente causal de la “gomosis” de las cucurbitáceas, mediante la técnica de cultivo dual, se encontró que las cepas del hongo antagonista alcanzaron la clase 1 de antagonismo por la escala de Bell *et al.* (1982), de forma similar, en otros estudios con biocontroladores frente a *Botrytis cinerea*, *R. solani*, y *Fusarium oxysporum* el grado antagonista alcanzado por las cepas del antagonista ha estado entre la clase 1 y clase 2. Así mismo, estudios realizados en Nicaragua está en concordancia con los trabajos de investigación mencionados anteriormente, ya que las cepas de *Trichoderma* al ser enfrentadas frente a los aislados del hongo *P. cinnamomi* se ubicaron en la clase 1 y 2 de la escala, lo que las hace potencialmente viables para ser usadas en investigaciones posteriores a nivel de invernadero y campo. (Calvo-Araya *et al.* 2012; Mir *et al.* 2011 y Martínez *et al.* 2013).

Cuando se desarrolla *Phytophthora* spp. y *T. viride* sobre el medio de cultivo, el antagonista produce metabolitos volátiles o solubles, los cuales influyen negativamente sobre el desarrollo vegetativo de *Phytophthora* spp. (Baker y Cook 1982). Se han identificado diferentes factores involucrados en la inhibición del crecimiento y/o destrucción de hongos fitopatógenos por *Trichoderma*, entre estos factores se encuentran antibióticos y enzimas hidrolíticas como β -1,3- glucanasas, quitinasas y proteasas. También para explicar el micoparasitismo se ha estudiado los posibles genes involucrados en la producción de enzimas líticas y otros; así como, el desarrollo de métodos moleculares para la caracterización e identificación de cepas utilizadas en control biológico (Shanda y Baker 1982; Strashnov *et al.* 1985).

Los mecanismos de acción de algunas cepas de *Trichoderma* spp. han sido descritas por Sandoval *et al.* (1995). La actividad parasítica de las cepas de *Trichoderma*, se establece sobre el patógeno por medio de una vigorosa adherencia de las hifas por enrollamiento hifal y fragmentación de las hifas a nivel de septos, sólo los aislamientos A-4 y PR-6-17, pudieron introducirse internamente en el micelio de *Phytophthora capsici* y *P. nicotianae*, respectivamente. Los filtrados libres de células a partir de cultivos líquidos de los aislamientos de *Trichoderma* A-34, A-53 y PR-6-17 hidrolizaron la gelatina, caseína, leche, la carboximetilcelulosa y la quitina, todo lo cual indica la existencia de enzimas líticas de carácter proteolítico y celulítico, además de la presencia de la enzima quitinasa. Los filtrados difundidos o mezclados con el medio de cultivo (1:1) limitaron el crecimiento de las especies fúngicas debido a la presencia de metabolitos biológicamente activos.

Estudios *in vitro* de *T. harzianum* sobre PDA demostraron que el biocontrolador, es buen hiperparásito y antagonista contra los Oomycetes, como *P. capsici*, *P. parasitica* y *P. nicotianae*; así como, para diferentes aislamientos de *R. solani*. El aislamiento de *Trichoderma* crece entre dos y tres días a 20 y 30° C y mientras que *R. solani* en tres y cuatro días (Shanda y Baker 1982; Strashnov *et al.* 1985).

También se conoce que las especies de *Trichoderma* producen sustancias volátiles que ejercen biocontrol. El alquil pirones es un metabolito volátil que fue reportado para *T. harzianum*, el compuesto actúa como un poderoso inhibidor de varios hongos bajo condiciones *in vitro* y también el compuesto es fungistático para muchos hongos como *R. solani* y *R. cerealis* (Cook y Baker 1983; Chet 1989; Fravel 1988).

Extracto de *Trichoderma* se aplicaron sobre *R. solani* afectando su crecimiento, las sustancias contenidas en el extracto inducen la pérdida de fluidos como proteínas, carbohidratos, aminoácidos y sales de las hifas de los patógenos (Cook y Baker 1983; Lewis y Papavizas 1987; Chet 1989).

Trichoderma puede ser encontrado mayormente asociados con fragmentos del suelo, sobre esclerotes y semillas en descomposición, sobre la materia orgánica adicionada al suelo, subsiste como hifas y conidias, especialmente en suelos húmedos y también pueden formar clamidosporas, aunque esto se observa con menor frecuencia (Hoy y Herzog 1985).

Lewis y Papavizas (1987) reportaron a las clamidosporas como los medios más efectivos de diseminación de *Trichoderma*, observaron que las clamidosporas pueden formarse sobre sustratos naturales (granos de cereales y tejidos de plantas) depositados en el suelo. Las clamidosporas pueden ser los propágulos más efectivos que las conidias por tener mejor habilidad para proliferar en el campo, mientras que las conidias permanecen en reposo.

Hadar *et al.* (1979) reportaron la existencia de otra enzima producida por *T. harzianum*, la β (1-3) glucanasa que es más importante que la quitinasa. *R. solani* es la fase imperfecta de un Basidiomyceto; por lo que posee paredes ricas en glucanos y sólo un 6-8% de quitina; por lo tanto, se considera que la β (1-3) glucanasa es la más importante en la degradación de las paredes celulares de *R. solani*.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. LUGAR Y PERIODO DE EJECUCIÓN

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de la especialidad de Fitopatología de la Universidad Nacional Agraria La Molina - Lima y en el campo de la Empresa Roots Perú, ubicada en el Valle del Callejón de Huaylas, Provincia de Caraz, se encuentra a una altitud de 2 400 m.s.n.m. al Noroeste del departamento de Ancash. Se ejecutó en los meses de enero a agosto del año 2001.

3.2. SINTOMATOLOGÍA Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

En campo se realizaron observaciones del síntoma principal y secundario, se describieron detalladamente los síntomas. En los campos de producción de la Empresa Roots Perú, se recolectaron plantas enteras con raíz, tallo y hojas de *Gypsophila* con síntomas de la enfermedad que presentaban decaimiento, marchitez generalizada y lesiones secas de coloración marrón en la base de las plantas. Para su conservación y transporte las muestras se colocaron en bolsas de papel kraft y luego fueron llevadas al laboratorio de Fitopatología para su respectivo procesamiento.

3.3. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Las muestras se lavaron con agua destilada estéril. Con un bisturí previamente flameado al mechero se cortaron en pequeños trozos, tomando porciones de tejido comprendidas entre la parte infectada y tejido sano de 0.5 x 0,5 cm de tamaño, posteriormente se realizó la descontaminación de las porciones de tejido con hipoclorito de sodio al 1 % por 1 min y luego enjuagadas por dos veces con agua destilada estéril y luego se colocaron sobre papel toalla estéril para su secado.

3.4. AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE PATÓGENOS

Para el aislamiento se utilizaron los medios de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), Corn Meal Agar (CMA) y CMA + Pimaricina + Ampicilina + Rifampicina (PAR). Con una pinza estéril, los trocitos de tejido desinfestado se sembraron en placas de Petri con medio PDA más estreptomycin (50 mg). Las placas sembradas fueron selladas lateralmente con papel parafilm y se incubaron a 25 °C en un ambiente oscuro durante 48 horas, a partir del cual se realizaron las observaciones del desarrollo micelial de los hongos (Agrios 1995; French y Hebert 1980).

Los aislamientos obtenidos fueron repicados a otras placas de Petri que contenían PDA y CMA, hasta lograr el cultivo puro de los patógenos. Los aislamientos puros se sembraron en tubos de ensayo conteniendo medio PDA y CMA e incubados a 25 °C por 72 h, luego incubados a 5 °C para su conservación y posterior uso en las pruebas de patogenicidad (Agrios 1995; French y Hebert 1980).

3.5. IDENTIFICACIÓN DE LOS FITOPATÓGENOS AISLADOS

Obtenido el crecimiento de las colonias respectivas, se prepararon montajes para su observación a través del microscopio compuesto con la finalidad de caracterizar las estructuras morfológicas y de reproducción del patógeno. Los fitopatógenos se identificaron mediante las claves propuestas por Barnett y Hunter (1998).

3.6. PRUEBA DE PATOGENICIDAD

Los fitopatógenos aislados fueron sometidos a la prueba de patogenicidad; para ello, se utilizaron 20 plántulas de *G. paniculata*, las cuales fueron trasplantadas a macetas de 0,5 kg de capacidad previamente desinfestadas con hipoclorito de sodio al 10 % durante 24 horas (French y Hebert 1980) y que contenían sustrato esterilizado (autoclavado a 121°C por 30 min.) constituido por una mezcla de suelo de campo y humus en proporción 1:2. A los 7 días después del trasplante se realizó la inoculación de los hongos aislados.

Para la inoculación, por cada aislamiento, el medio conteniendo desarrollo micelial en activo crecimiento fue cortado en porciones pequeñas y depositadas en el cuello de la planta a dos a tres cm debajo de la superficie. Cada 2 días se realizó el riego en cada una de las macetas conteniendo las plántulas de *G. paniculata* inoculadas. Se inocularon a 4 plantas por cada aislamiento.

De las plántulas que mostraron síntomas de decaimiento, marchitez y presencia de pudrición en el cuello se realizó el reaislamiento del patógeno; para ello, se siguió el mismo procedimiento indicado para el aislamiento.

3.7. PRUEBA Y EVALUACIÓN DE FUNGICIDAS EN CONDICIONES *in vitro*

La eficacia *in vitro* de cada fungicida fue determinada por la “Técnica del medio envenenado” (French y Hebert 1980). Para lo cual se preparó erlenmeyers conteniendo 100 ml de PDA estéril; en cada erlenmeyer conteniendo el medio a punto de plaqueo se adicionó el fungicida, luego se homogenizó y la mezcla fue vertida (20 ml) a placas de Petri estériles y se dejó solidificar.

El aislamiento fungoso se obtuvo del margen de crecimiento de un cultivo de 10 días de incubación; mediante un sacabocado estéril se cortaron discos de 0.8 cm conteniendo el hongo, luego los discos se colocaron en el centro de la superficie de cada placa teniendo cuidado de poner en contacto el micelio del hongo con el medio de cultivo; en el caso del testigo, solo contenía medio de cultivo sin fungicida. Las placas sembradas se incubaron a 25 °C.

El ensayo tuvo 17 tratamientos incluido el testigo con 4 repeticiones, los fungicidas evaluados se presentan en el (Cuadro 1).

Cuadro 1: Fungicidas utilizados *in vitro*, dosis empleadas y modo de acción para el control del hongo *Rhizoctonia solani*.

Nombre Comercial	Ingrediente Activo	Dosis		Modo de Acción
		Mínima	Máxima	
1. Rovral	Iprodione	1.5 g/l	2.5 g/l	Contacto
2. Kaptan	Captan	1.5 g/l	2.5 g/l	Contacto
3. Manzate	Mancozeb	1.5 g/l	2.5 g/l	Contacto
4. Benopoint	Benomil	1.5 g/l	2.5 g/l	Sistémico
5. Sportak	Prochloraz	1.0 ml/l	1.5 ml/l	Sistémico
6. Vitavax	Carboxin + Captan	1.0 g/l	2.0 g/l	Compuesto
7. Parachupadera	Captan + Flutolanil	2.0 g/l	3.0 g/l	Compuesto
8. Homai	Tiofanate + Thiram	1.5 g/l	2.5 g/l	Compuesto
9. Testigo	Solo PDA	-	-	-

3.7.1. Evaluaciones

Para las evaluaciones, la base de cada placa se dividió en cuatro partes, trazando dos líneas perpendiculares cruzadas. En cada extremo de las líneas se escribió letras a, b, c y d, se realizaron mediciones diarias del diámetro (cm) del crecimiento micelial del hongo, las evaluaciones culminaron cuando el testigo cubrió toda la superficie del medio. La eficacia de los fungicidas se determinó por cálculo del porcentaje de inhibición en el crecimiento micelial de la colonia usando la siguiente fórmula:

$$\text{Inhibición (\%)} = (C-T/C) \times 100$$

Donde:

T: crecimiento micelial (cm) en cada tratamiento

C: crecimiento micelial en el testigo

3.7.2. Diseño estadístico

Se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 17 tratamientos y cuatro repeticiones, se realizaron las pruebas de Análisis de Variancia (ANVA) y la prueba de comparaciones de medias múltiples de Duncan. Los datos se procesaron mediante el programa SAS.

3.8. PRUEBA Y EVALUACIÓN DE EFICACIA DE *Trichoderma* spp. *in vitro*

En esta prueba se evaluaron los biocontroladores: *Trichoderma harzianum* y *T. viride*, estos hongos fueron proveídos por la micoteca de la Clínica de Diagnóstico de la UNALM. para evaluar el efecto de los antagonistas se empleó el “Método dual” que consistió en sembrar en placas de Petri con medio PDA en dos puntos opuestos discos de 0.8 cm de PDA más el desarrollo micelial de *Trichoderma* spp. y de *R. solani*. Las placas sembradas se incubaron a 25 °C, las evaluaciones se realizaron cada 24 h, se observó el grado de antagonismo de acuerdo a la escala propuesta por Ezziyyani *et al.* (2004) (Cuadro 2).

Cuadro 2: Escala de evaluación del antagonismo *in vitro*, tomando en cuenta la invasión, colonización y esporulación de *Trichoderma* spp. sobre la colonia del hongo patógeno.

Grados	Antagonismo (Características)
0	Ninguna invasión de <i>Trichoderma</i> spp. sobre la superficie de la colonia del hongo patógeno.
1	Invasión de <i>Trichoderma</i> spp. de $\frac{1}{4}$ de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
2	Invasión de <i>Trichoderma</i> spp. $\frac{1}{2}$ de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
3	Invasión total de <i>Trichoderma</i> spp. sobre la superficie de la colonia del hongo patógeno.
4	Invasión total de <i>Trichoderma</i> spp. sobre la superficie de la colonia del hongo patógeno y esporulación sobre ella.

FUENTE: Ezziyyani *et al.* (2004).

3.9. DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO DE FUNGICIDAS EN CAMPO

En la parcela de la Empresa Roots Perú, se utilizaron los fungicidas que inhibieron el crecimiento del patógeno en la prueba *in vitro*. Se evaluaron 7 fungicidas en su dosis baja y alta, haciendo un total de 15 tratamientos incluido el testigo. Cada tratamiento con cuatro repeticiones (10 plantas por repetición), en total se tuvo 40 plantas de *Gypsophila* por tratamiento, los cuales fueron separados por 4 plantas para efecto de error. Los tratamientos se observan en el (Cuadro 3).

Cuadro 3: Tratamientos de fungicidas utilizados en el campo para el control de la pudrición del cuello en el cultivo de *Gypsophyla paniculata*, provincia de Huaylas, Ancash.

Fungicidas	Ingrediente Activo	Tratamientos	Dosis Baja	Tratamientos	Dosis Alta
Rovral	Iprodione	T1	1.5 g/L	T9	2.5 g/L
Kaptan	Captan	T2	1.5 g/L	T10	2.5 g/L
Manzate	Mancozeb	T3	1.5 g/L	T11	2.5 g/L
Benopoint	Benomil	T4	1.5 g/L	T12	2.5 g/L
Vitavax	Carboxin + Kaptan	T5	1.0 g/L	T13	2.0 g/L
Parachupadera	Captan+ Flutolanil	T6	2.0 g/L	T14	3.0 g/L
Homai	Tiofanate+ Thiram	T7	1.5 g/L	T15	2.5 g/L
Testigo	Agua	T8	0.0 g/L	-	

a. Frecuencia y modo de aplicación de fungicidas

Las aplicaciones de fungicidas se realizaron cada 15 días, por aspersion con una mochila manual de 12 L de capacidad, siendo dirigidas al cuello de la planta, debido a que el patógeno produce daño en dicha zona.

3.10. PRUEBA DE BIOCONTROLADORES EN CAMPO

En campo se realizó el ensayo con los biocontroladores *Trichoderma harzianum* y *T. viride*.

3.10.1. Producción de los hongos biocontroladores

Los hongos se repicaron en placas de Petri conteniendo medio PDA, después de 10 días de cultivo se prepararon discos de 0.8 cm de diámetro, luego 15 discos fueron colocados dentro de las bolsas de polipropileno conteniendo 500 g de trigo pelado estéril, las bolsas se incubaron a 25 °C por 15 días para su colonización y esporulación.

3.10.2. Secuencia, dosis, modo de aplicación del sustrato y tratamientos

Las aplicaciones de biocontroladores se realizaron cada 15 días, totalizando 6 aplicaciones. La cantidad de sustrato que se aplicó fue en forma ascendente de la siguiente manera; en la 1^{ra} se aplicó 5 g/planta, en la 2^{da} 10 g/planta, en la 3^{ra} 15g/planta, en la 4^{ta} 20g/planta, en la 5^{ta} y 6^{ta} 25g/planta. Las aplicaciones se realizaron manualmente dirigidas básicamente al cuello de la planta, antes de las aplicaciones se realizaron pequeños hoyos a la altura del cuello de las plantas. Se instaló 2 tratamientos con *T. harzianum* y *T. viride*, que fueron incluidos a los tratamientos de los fungicidas. Antes de cada aplicación se evaluó la incidencia de la enfermedad.

3.10.3. Descripción del campo experimental

El croquis del campo experimental se presenta en el (Cuadro 4), se empleó un área de 400 m² (5m x 80m), cada tratamiento y repetición fue identificado con una tarjeta cubierta con polietileno para evitar que se borre por las precipitaciones.

Cuadro 4: Croquis del campo experimental para el ensayo de fungicidas y biocontroladores en el control de la enfermedad de pudrición del cuello en *G. paniculata*, parcela de la empresa Roots Perú, departamento de Ancash.

T13 R1	T8 R3	T12 R3	T15 R3
T12 R2	T4 R4	T7 R1	T2 R4
T1 R3	T10 R4	T9 R3	T16 R2
T11 R4	T17 R3	T6 R1	T13 R2
T2 R3	T5 R2	T15 R4	T12 R1
T3 R4	T6 R3	T4 R2	T3 R3
T16 R3	T14 R3	T14 R4	T6 R2
T4 R1	T9 R2	T8 R4	T1 R4
T15 R1	T11 R1	T17 R4	T14 R1
T5 R3	T7 R2	T5 R4	T10 R2
T14 R2	T1 R1	T2 R1	T8 R1
T10 R3	T3 R2	T13 R3	T11 R2
T6 R4	T16 R4	T1 R2	T7 R1
T7 R4	T15 R2	T10 R1	T9 R4
T9 R1	T2 R2	T11 R3	T7 R3
T17 R2	T12 R4	T16 R1	T4 R3
T8 R2	T13 R4	T3 R1	T5 R1

T = Tratamientos, R = Repeticiones

3.10.4. Diseño estadístico

Se empleó el Diseño Bloques Completamente al Azar, con 17 tratamientos (14 fungicidas, 2 biocontroladores y un testigo) con 4 repeticiones (10 plantas por repetición), se realizaron pruebas de Análisis de Variancia (ANVA) y la prueba de comparaciones de medias múltiples de Duncan, los datos se procesaron mediante el programa SAS (*Statistical Analysis System*).

3.10.5. Parámetros de evaluación

a. Incidencia (%)

Se evaluó incidencia de la enfermedad en la parcela de la Empresa Roots Perú en el callejón de Huaylas, antes de cada aplicación de los fungicidas y biocontroladores, para lo cual se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Incidencia (\%)} = \frac{\text{Número de plantas infectadas}}{\text{Total de plantas evaluadas}} \times 100$$

b. Evaluación de peso fresco de la parte aérea

Al final de la fase fenológica se evaluó y se registró peso verde de la parte aérea de las plantas de *Gypsophyla* de todos los tratamientos.

c. Evaluación de rendimiento (N° de tallos florales/planta)

En el momento de la cosecha se evaluó número de tallos florales de todas las unidades experimentales de los 17 tratamientos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. SINTOMATOLOGÍA

En los primeros estadios de desarrollo fenológico, se observaron los siguientes síntomas iniciales: flacidez y pérdidas de turgencia en las hojas del tercio inferior, posteriormente a los 2 días, se observaron síntomas avanzados: decaimiento, marchitez generalizada, colapso y muerte de la planta (Figura 1). Externamente las plantas presentaban síntomas de lesiones ligeramente hundidas, al realizar cortes longitudinales a la altura del cuello con síntomas iniciales se observó decoloración marrón clara y en plantas con síntomas más avanzados se presentó pudrición en el cuello de color marrón oscuro que abarcó todo el diámetro del tallo, lo que originaría colapso y muerte de la planta. El cultivo había sido instalado en los meses de enero y febrero del año 2001 y coincidió con los periodos de lluvia, las precipitaciones alcanzaron 67 mm, y las condiciones de temperatura que se registraron fueron: T° máxima. 23.1, T° media 16.8 y T° mínima 10.5, estos factores climáticos fueron favorables para el desarrollo de la enfermedad.



Figura 1: Plantas de *Gypsophila paniculata* con síntoma de flacidez de las hojas, colapso, marchitez generalizada y muerte de la planta por la infección de *Rhizoctonia solani*.

4.2. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS

Los hongos aislados de tejido infectado de *G. paniculata* fueron: *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., y el oomyceto *Pythium* spp. (Cuadro 5), las características observadas fueron las siguientes:

a. *R. solani*, en medio PDA desarrolló micelio hialino a inicios de crecimiento, luego se fue tornando cremoso y a los 10 días desarrolló micelio de coloración marrón. En el microscopio compuesto se observó hifas septadas, con ramificaciones en ángulo recto (90°) y se observó una constricción en la base de la ramificación, el diámetro de las hifas midió de 6-8 μ , no se observó la formación de esclerotes. Las características descritas corresponden al hongo *R. solani* por Sneh *et al.* (1991) y según la clave propuesta por Barnett y Hunter (1998). En CMA *R. solani* desarrolló micelio hialino muy fino y superficialmente.

b. *Fusarium* spp., en medio PDA desarrolló micelio algodonoso de color blanquecino. A través del microscopio compuesto se observó la presencia de macroconidias hialinas, septadas, falcadas y microconidias con uno a dos células ligeramente curvadas de forma oblonga a ovoide, estas características corresponden al hongo *Fusarium* spp. según la clave de Barnett y Hunter (1998).

c. *Pythium* spp., en medio CMA desarrolló micelio hialino, filamentoso, profusamente ramificado y fue de rápido crecimiento. En extracto de suelo y sometido a enfriamiento por 45 minutos, se observó que los esporangios formaron una vesícula a partir del cual se liberaron zoosporas. Las características corresponden al género *Pythium* spp.

Cuadro 5: Hongos aislados e identificados de tallo/corona con síntomas de pudrición en el cuello de *Gypsophila paniculata* en diferentes medios de cultivo.

Órgano afectado	Medios de cultivo	Hongos aislados
Tallo/corona	PDA	<i>Fusarium</i> spp. <i>Rhizoctonia solani</i>
Corona	CMA	<i>R. solani</i> <i>Pythium</i> spp.

4.3. PRUEBA DE PATOGENICIDAD

Plántulas de *Gypsophila* inoculadas con *R. solani*, a los 10 días después de inoculación (ddi) se presentaron los primeros síntomas de la enfermedad, observándose hojas del tercio inferior flácidas y amarillentas, decaimiento generalizado y marchitez, posteriormente a los 13 ddi como síntoma avanzado se observó colapso y muerte de plántulas (Figura 2): Al realizar cortes transversales y longitudinales se observó pudrición de coloración marrón en la zona de la corona/cuello y parte del tallo; mientras que, las plántulas inoculadas con *Fusarium* spp. y *Pythium* spp., no mostraron ningún síntoma hasta los 45 ddi por lo que se procedió a dar por finalizado el ensayo.

Al realizar los reaislamientos a partir de plántulas de *Gypsophila* que mostraron síntomas de pudrición en la corona, se logró reaislar al hongo *R. solani*.

La prueba de patogenicidad realizada de acuerdo a los postulados de Koch, permitió determinar que el hongo *R. solani* es el agente causal de la enfermedad de pudrición del cuello en el cultivo de *G. paniculata* en el valle del callejón de Huaylas- Ancash.

Los síntomas observados, coinciden con la sintomatología típica que produce *R. solani* en los cultivos que afecta como: frijol, papa, algodón, beterraga, entre otros (Agrios 1995). Se caracterizan por ser lesiones hundidas en forma de canchales, esto debido a que el patógeno produce enzimas como la Poligalacturonasa (PG) y la Pectin Metil Esterasa (PME) causando la degradación de los compuestos pécticos de la pared celular y que en forma conjunta causan daños a los tejidos de la planta ocasionando así una muerte celular; además, las lesiones hundidas ocasionadas por *R. solani* se deben a que este patógeno produce otras enzimas como las endocelulasas, las cuales causan la descomposición de las fibrillas de celulosa que componen la pared celular la muerte celular del tejido vegetal (Goodman *et al.* 1986).



Figura 2: Prueba de patogenicidad en plántulas de *Gypsophila paniculata*, a) inoculada con *Rhizoctonia solani*, se observa colapso y muerte b) *Fusarium* spp. c) *Pythium* spp. y d) testigo sin inoculación se aprecia las plántulas sanas sin síntomas de la enfermedad.

4.4. EFECTO DE FUNGICIDAS *in vitro* FRENTE A *Rhizoctonia solani*

En el Cuadro 6 y Figura 3 se aprecian los resultados del efecto de fungicidas frente al hongo *R. solani*, donde los tratamientos (T16) Homai*, (T15) Parachupadera*, (T14) Vitavax*, (T12) Benopoint*, (T9) Rovral*, (T8), Homai, (T7) Parachupadera, (T8) Homai, (T4) Benopoint y (T1) Rovral inhibieron al 100 % el crecimiento micelial del hongo, seguidos de (T2) Kaptan, (T10) Kaptan*, (T11) Mancozeb inhibieron al 80.87, 79.57 y 76.09 respectivamente, superando significativamente al testigo; demostrándose la eficacia de estos fungicidas con actividad inhibitoria. Probablemente esto se deba a que cada fungicida se ubica en diferentes grupos, con diferente ingrediente activo y modo de acción (Latorre 1989; Mont 1993). El Coeficiente de Variabilidad para el ensayo fue de 5.19 %, el cual se considera aceptable para dar confiabilidad a los resultados obtenidos (Cuadro 7).

El fungicida Rovral es de contacto, inhibió completamente el desarrollo del hongo *R. solani*; Rovral pertenece al grupo de las Dicarboximidias; las cuales actúan básicamente interfiriendo la actividad de la síntesis de ADN y alteran la permeabilidad celular. En

interacción con los tioles bloquean la fosforilación oxidativa, alterando también el proceso de la respiración de acuerdo con lo descrito por Latorre (1989) y Mont (1993) con respecto al modo de acción que tienen estos fungicidas y que previenen las enfermedades causadas por varias especies de hongos pertenecientes a la división: Deuteromycota Clase: Agonomycetales, y *R. solani* pertenece a esta división (Butler and Bracker 1970), por lo que se esperaba que hubiera respuesta en la inhibición al 100% a este fungicida.

Benopoint, es un fungicida sistémico que pertenece al grupo de los Benzimidazoles, se postula que el modo de acción de benomyl, en solución acuosa se hidroliza en metil benzimidazol carbamato (MBC) responsable de la fungotóxicidad; además, se reporta que el MBC es fungistático y actúa inhibiendo el desarrollo micelial sin afectar mayormente la germinación de las conidias. El proceso más afectado e inhibido en las células fungosas es el metabolismo celular y la síntesis del ADN, con el cual el patógeno queda totalmente impedido para crecer y desarrollarse (Latorre 1989; Mont 1993). Los Benzimidazoles, según los mismos autores indican que estos fungicidas son recomendados para controlar hongos Deuteromycetes y además que estos no crean resistencia después de su aplicación.

Los fungicidas Vitavax (carboxin+captan), Parachupadera (captan flutolanil) y Homai (tiofanate+thiram), son fungicidas compuestos, todos ellos inhibieron al 100% el crecimiento micelial del hongo *R. solani*, probablemente se debe a que dichos fungicidas, dentro de su composición, presentan dos tipos de ingredientes activos (curativo-sistémico) los cuales actúan afectando diversos procesos metabólicos del patógeno, teniendo así un mayor rango de acción tóxica sobre varias especies de hongos pertenecientes a la división Deuteromycota. Al respecto, Latorre (1989), Mont (1993), Mont (2002), indican que este tipo de formulación complementa la acción de muchos fungicidas sistémicos, que son muy específicos a los patógenos que controlan, ampliándoles el espectro de acción; además, reporta que a causa de su acción específica afecta procesos específicos del metabolismo del hongo, hay la tendencia de provocar la aparición de individuos resistentes, problema que se atenúa con la incorporación de otra sustancia, generalmente un fungicida de contacto, con acción múltiple en el metabolismo fungoso.

Cuadro 6: Efecto *in vitro* de fungicidas en la inhibición del crecimiento micelial del hongo *Rhizoctonia solani* agente causal de la pudrición del cuello en el cultivo de *Gypsophila paniculata*.

Trats.	Fungicidas	Media (Inhibición %)	Significancia (P≤0,05)
T 16	Homai*	100	a
T 15	Parachupadera*	100	a
T 14	Vitavax*	100	a
T 12	Benopoint*	100	a
T 9	Rovral*	100	a
T 8	Homai	100	a
T 7	Parachupadera	100	a
T 6	Vitavax	100	a
T 4	Benopoint	100	a
T 1	Rovral	100	a
T 2	Kaptan	80.80	b
T 10	Kaptan*	79.57	c
T 11	Mancozeb*	76.09	d
T 3	Mancozeb	72.52	e
T 13	Sportak*	68.65	f
T 5	Sportak	64.02	g
T 17	Testigo	0	h

*=Dosis alta de fungicidas

Cuadro 7: Análisis de Variancia del efecto de fungicidas *in vitro* frente al hongo *Rhizoctonia solani* agente causal de la pudrición del cuello en el cultivo de *Gypsophila paniculata*.

F. V.	G.L.	S.C.	C.M.E.	Fc	F (5%)	F(1%)	Sig.
Trats.	16	281.2688	17.5793	4206.6598	1.8591	2.3985	*
Error	48	0.20058	0.0041				
Total	67	281.4756					

C.V. = 5.19

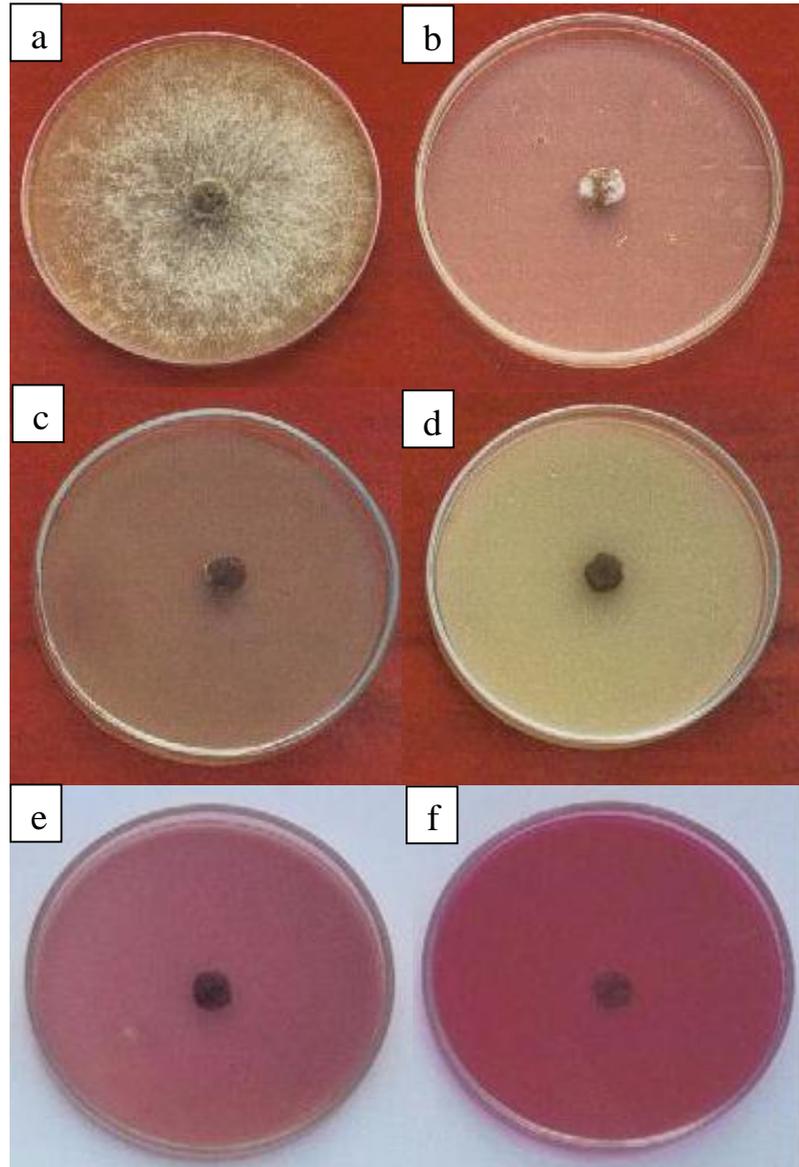


Figura 3: Inhibición al 100 % del crecimiento micelial del hongo *Rhizoctonia solani* a) Testigo, b) Rovral, c) Benopoint, d) Parachupadera, e) Homai y f) Vitavax con dosis baja y alta.

4.5. EFECTO DE BIOCONTROLADORES EN CONDICIONES *in vitro*

En el Cuadro 8, se observa el crecimiento micelial de los biontroladores *T. harzianum* y *T. viride* frente al hongo *R. solani*, en donde a los 3 días después de incubación (ddi) se observó antagonismo por competencia de *T. harzianum* y *T. viride* con un crecimiento micelial de 6.17 y 5.78 cm de diámetro respectivamente; mientras que, *R. solani* creció 2.81 y 2.75 cm de diámetro (Figura 4a y Figura 5a), posteriormente a los 4 y 5 ddi se observó colonización de *T. harzianum* y *T. viride* sobre la colonia del hongo *R. solani* (Figura 4b y Figura 5b), y

a los 6 ddi se presentó invasión total de los antagonistas sobre la superficie de la colonia del hongo *R. solani* y esporulación de coloración verde oscuro (Figura 4c y Figura 5c), por lo que se registró grado 4 de antagonismo para los 2 biocontroladores (Cuadro 9).

Los resultados obtenidos, coinciden con varios estudios quienes indican que diferentes cepas de *Trichoderma* spp. poseen capacidad de crecer rápidamente que los hongos fitopatógenos y ello hace que aumente su capacidad antagónica (Dennis 1971; Hadar 1979; Chet 1990). Así mismo, Cook and Baker (1983) indican que la velocidad de crecimiento presentadas por las especies de *Trichoderma* son motivos de utilización de estos hongos como antagonista para el control de *R. solani* y *Sclerotium rolfsii*. Otros investigadores como Dennis and Webster (1971) afirman que la velocidad de crecimiento de *Trichoderma* spp. es un carácter ventajoso en la disputa por colonizar el área, compitiendo por espacio y nutrientes, esta es una manera de ejercer biocontrol al reducir el desarrollo micelial de la colonia de *R. solani*. *T. harzianum* desarrolló rápidamente, colonizando y esporulando sobre la cepa (AG-4) de *R. solani* aislada del cultivo de maní (Elad *et al.* 1980; Benhamou and Chet 1993). Guédeza *et al.* (2012) concluyeron que los principales modos de acción de aislamientos de *T. harzianum* fueron parasitismo y competencia (espacio y nutrientes), superando el crecimiento de *R. solani* y *S. rolfsii* impidiendo el desarrollo normal e inhibiendo en más del 50 % de su desarrollo. *T. harzianum* y *T. viride* ocasionan destrucción de las hifas del hongo patógeno, debido a la acción de enzimas como la glucanasa, quitinasa y proteasa a través de las cuales degradan la pared celular de la hifa produciendo la muerte (Chet 1989, Chet 1990, Sandoval *et al.* 1995).

El establecimiento de la capacidad antagónica o el grado antagónico de las cepas de *Trichoderma* en condiciones *in vitro* es una necesidad prioritaria y se constituye en una premisa para la selección de cepas, no solamente para las pruebas siguientes en condiciones de invernadero y campo, sino que también se puede generar información sobre una posible formulación con un vehículo apropiado que les dé mayor estabilidad y eficacia en condiciones de campo. De esta manera se pueden obtener resultados consistentes y satisfactorios en el manejo biológico de patógenos no solamente en agroecosistemas, sino también en ecosistemas de vegetación natural donde poco se sabe sobre el impacto que tienen las poblaciones nativas e invasivas de fitopatógenos y su posible manejo con microorganismos antagonistas.

Cuadro 8: Velocidad de crecimiento micelial (cm) *in vitro* de *Trichoderma harzianum* y *T. viride* frente a *Rhizoctonia solani*, agente causal de pudrición del cuello en el cultivo de *Gypsophila paniculata*.

Trata- mientos	Hongo antagonista y patógeno	Crecimiento micelial de los hongos (cm)			
		2 días	3 días	4 días	6 días
T 1	<i>T. harzianum</i>	2.26	6.17	7.67	8.00
	<i>R. solani</i>	1.05	2.81	4.50	4.50
T 2	<i>T. viride</i>	2.15	5.78	7.80	7.90
	<i>R. solani</i>	1.08	2.75	4.53	4.60
T 3	<i>T. harzianum</i>	2.24	5.75	8.00	8.00
T 4	<i>T. viride</i>	2.22	5.67	8.00	8.00
T 5	<i>R. solani</i>	1.09	2.85	4.70	6.20

Cuadro 9: Grado de parasitismo de *Trichoderma harzianum* y *T. viride* sobre *R. solani*, en condiciones *in vitro*.

Antagonistas	Grado de antagonismo sobre <i>R. solani</i>
<i>Trichoderma harzianum</i>	4
<i>T. viride</i>	4

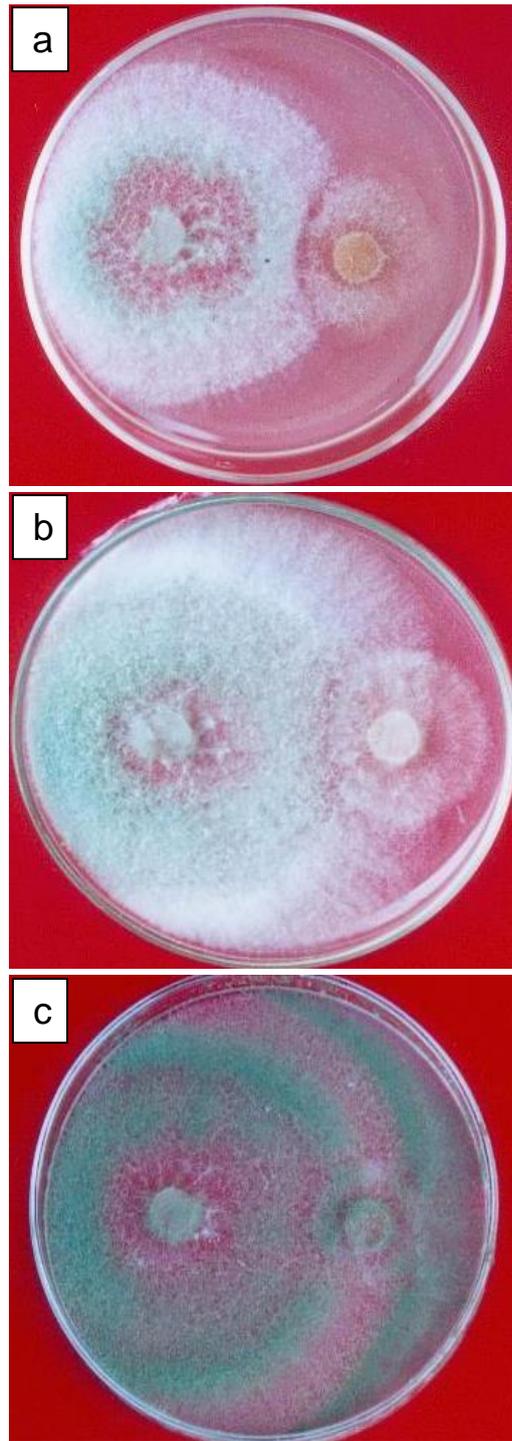


Figura 4: Antagonismo de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia solani*, a) a los 3 días después de incubación (ddi) se observó antagonismo por competencia. b y c) a los 4 y 6 ddi se observó colonización y esporulación de *T. harzianum* sobre la colonia del hongo *R. solani*.

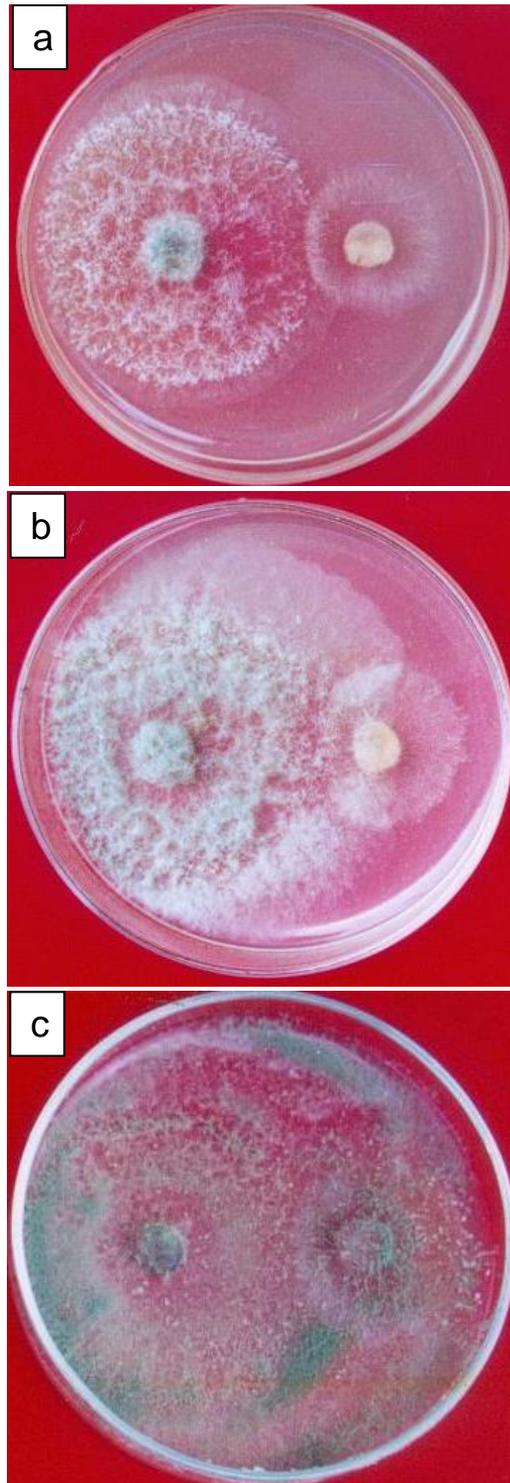


Figura 5: Antagonismo de *Trichoderma viride* frente a *Rhizoctonia solani*, a) a los 3 ddi se observó se observó antagonismo por competencia. b y c) a los 4 y 6 ddi se observó colonización y esporulación de *T. viride* sobre la colonia del hongo *R. solani*.

4.6. EFECTO DE FUNGICIDAS Y *Trichoderma* spp. EN CAMPO

4.6.1. Incidencia de la enfermedad

En el Cuadro 10, se presentan los resultados del efecto de fungicidas a dosis baja, dosis alta y *Trichoderma* spp. sobre la incidencia (%) de la enfermedad de pudrición del cuello en *Gypsophila*, al final de las evaluaciones la menor incidencia se obtuvo con los tratamientos (T16) *T. harzianum*, (T10) Kaptan*, (T17) *T. viride* y (T15) Homai*, registrándose valores de 12.50, 18.42, 20.00 y 22.5 % de incidencia respectivamente, en comparación con el testigo el cual presentó mayor incidencia alcanzando 51.28 %.

En el valle del callejón de Huaylas, durante los meses de enero a mayo, se registró T° máxima de 23.1, T° media 16.8 y T° mínima 10.3 °C, probablemente estas condiciones favorecieron a la viabilidad de las conidias de *T. harzianum* y este actuó protegiendo la zona de inoculación (perímetro del cuello/corona de la planta) del ataque de *R. solani*, coincidiendo con el reporte de Nampoothiri *et al.* (2004), Chet and Baker (1981), Kredics *et al.* (2003); quienes indicaron que la temperatura óptima para la germinación de las conidias, el crecimiento del tubo germinativo, crecimiento del micelio, habilidades competitivas y producción de metabolitos volátiles y no volátiles de los aislamientos de *Trichoderma* spp. se encuentra entre 15 y 30 °C por lo tanto puede producir enzima quitinasa en una amplia gama de condiciones ambientales.

Así mismo, en el presente estudio para las aplicaciones de *T. harzianum* se empleó como sustrato trigo pelado, al ser hongos saprófitos posiblemente las conidias estuvieron viables por varios días o semanas. Según, Lewis y Papavizas (1987) observaron que las conidias y clamidosporas pueden formarse sobre sustratos naturales (granos de cereales) inoculados en el suelo, en el presente estudio es probable que estas estructuras se formaron y que el biocontrolador pudo haber estado protegiendo al tejido de la planta del ataque de *R. solani*; por lo tanto, hubo menor número de plantas muertas, registrándose 12.5 % de Incidencia. Estos resultados coinciden también con los reportes de Elad *et al.* (1980), quienes constataron que con la aplicación de *T. harzianum* en el suelo infestado por *R. solani* se redujo la incidencia en 7.5 % en el cultivo de frijol, así mismo Ahumada (2002) con la aplicación de *T. harzianum* con dosis de 10 g/kg registró menor índice de daño (ID) de 2.2 por el ataque de *R. solani* en algodónero, Andrabi *et al.* (2010) obtuvo una incidencia de

9,27 % en garbanzo y Hohman *et al.* (2011), redujo la mortandad de plantones de pinos en 29%. De acuerdo a los reportes de Harman *et al.* (2004) indican que *Trichoderma* spp. aplicado al suelo comienza a propagarse y tiene una rápida colonización en la zona de inoculación de esta forma se reduce el inóculo de la población de fitopatogenos. Se obtuvieron resultados similares con la aplicación de *T. harzianum* frente a *R. solani* en condiciones de invernadero, reduciendo la muerte de plántulas de fríjol, tomate y fresa (Sandoval *et al.* 1995; Elad *et al.* 1980; Chet 1989; Harman 1996). Los resultados de la aplicación de fungicidas no tuvieron éxito en el control de la enfermedad, probablemente esto se pudo deber a que durante la ejecución del trabajo se presentaron precipitaciones las que posiblemente lavaron el producto de la superficie del tejido; además se suma a esto la poca residualidad que tienen los fungicidas de contacto, y por otro lado las aplicaciones fueron realizadas cada 15 días, todo esto pudo haber influenciado en los resultados obtenidos. Sin embargo, con el tratamiento Kaptan* se registró incidencia de 18.42 %, este resultado muestra similitud a los obtenidos por Poddar *et al.* (2004) registrándose 13.26 % en plántulas de garbanzo; Silveira *et al.* (2003), 14 % de incidencia en plantones de eucalipto Ahumada (2002) obtuvo un reducido ataque de *R. solani* con ID de 2.1 en plántulas de algodonero, lo que demuestra que Kaptan posee propiedades protectantes en los tejidos de la planta.

Con el fungicida Homai* (Tiofanate-metil + Thiram) se obtuvo una incidencia de 22.50 %, estos resultados concuerdan con lo reportado por Mercado y Rodríguez (2001), Goulart (2002) con la aplicación de Homai obtuvieron 82.5 % de germinación de semillas de algodonero (*Gossypium hirsutum*) para el control de *R. solani*, demostrándose menor número de plantas infectadas por chupadera fungosa en post emergente; así mismo concuerda con los resultados obtenidos por Menten y Paralela (1996), Wang and Davis (1997), Goulart *et al.* (2000) que con la aplicación de Tiofanate-metil + Thiram redujeron la incidencia de chupadera fungosa en vivero y campo en más de 90 % en algodonero. La reducción de la incidencia se debe al modo de acción y a los ingredientes activos (contacto-sistémico) que actúan afectando diversos procesos metabólicos del patógeno (Latorre, 1989). Mont (1993), indica que el fungicida Homai tiene acción sistémica y se transloca por el xilema penetrando en los tejidos de la planta afectando al hongo a nivel de la tubulina. Estos productos en el futuro podrían ser incorporados en el manejo integrado de la enfermedad de pudrición del cuello en *Gypsophila*, para así reducir la mortandad de plantas.

Cuadro 10: Efecto de fungicidas y *Trichoderma* spp. a nivel de campo sobre la incidencia (%) de la enfermedad de pudrición del cuello en *Gypsophila paniculata*, en el valle del callejón de Huaylas, Ancash.

N°	Tratamientos	Incidencia (%)						
		1 ^{ra}	2 ^{da}	3 ^{ra}	4 ^{ta}	5 ^{ta}	6 ^{ta}	7 ^{ma}
T1	Rovral	00	03	11	16	26	26	43
T2	Kaptan	00	00	5	8	8	10	25
T3	Manzate	00	04	09	15	23	28	33
T4	Benopoint	00	00	08	10	13	18	28
T5	Vitavax	00	03	15	18	28	28	33
T6	Parachupad.	00	05	20	28	30	30	43
T7	Homai	00	00	15	20	25	30	33
T8	Testigo	00	03	08	18	31	41	51
T9	Rovral*	00	05	05	08	15	20	28
T10	Kaptan*	00	02	03	03	08	11	18
T11	Manzate*	00	00	05	10	20	20	28
T12	Benopoint*	00	00	08	10	18	26	34
T13	Vitavax*	00	03	05	10	13	20	30
T14	Parchupad.*	00	00	10	18	18	20	28
T15	Homai*	00	00	05	05	08	10	23
T16	<i>T. harzianum</i>	00	00	03	03	05	08	13
T17	<i>T. viride</i>	00	00	08	10	13	13	20

*= Dosis alta de fungicidas

4.6.2. Peso fresco de la parte aérea de *Gypsophila* (Kg)

En el Cuadro 11, se observa los resultados de peso fresco de la parte aérea de *G. paniculata* por el efecto de fungicidas y *Trichoderma* spp., donde con los tratamientos (T16) *T. harzianum*, (T15) Homai*, (T17) *T. viride* y (T1) Rovral se obtuvieron mayor peso fresco registrándose 13.4, 12.5, 12.3 y 12.1 kg respectivamente y en el tratamiento (T8) testigo alcanzó 6.1 kg. Estos resultados coinciden con los estudios realizados por Baker and Cook (1982) y Hohman *et al.* (2011) señalan que *Trichoderma* spp. es un organismo promotor del crecimiento de raíces, lo que conlleva mayor altura y mayor peso verde de la parte aérea.

Otros investigadores como Chang *et al.* (1986), Galeano *et al.* (2009), indican que los

mecanismos de acción de *T. harzianum* se basan en el principal papel como promotor de crecimiento vegetal que tiene, este antagonista se asocia a las raíces de la planta por medio de las hifas y crece a medida que lo hace el sistema radicular con el que se encuentran asociados, alimentándose de los productos de desecho y de exudados que secreta las raíces, ello conlleva a un incremento en la captación de agua y nutrientes, explora mayor volumen de suelo, se incrementa la solubilización de nutrientes orgánicos como el fósforo, proporcionándole de esta forma mayor vigor y crecimiento de las plantas.

Este mayor vigor de la planta posee mayor tolerancia frente a diferentes tipos de estrés tanto abióticos y bióticos. Esto es sustentado por la investigación de Harman (1996), donde demuestra que *Trichoderma* spp. tiene la facilidad de colonizar la zona de la rizósfera de las plantas contribuyendo en un mayor desarrollo radicular, foliar y mayor productividad en maíz y pastos cultivados con menor requerimiento de fertilizantes nitrogenados.

En nuestro estudio probablemente este comportamiento tuvo *T. harzianum* y *T. viride* al ser aplicados en *Gypsophila* donde las plantas desarrollaron vigorosamente y se cosecharon mayor número de tallos florales. Los tratamientos con los fungicidas Homai* y Rovral se obtuvieron mayor peso fresco con respecto al resto de los fungicidas en estudio. Homai* al ser un fungicida compuesto tiene un amplio espectro de control preventivo y curativo actuando sobre la respiración impidiendo la normal captación de oxígeno por parte de los hongos patógenos (Rubio, G *et al.* 2008).

Cuadro 11. Peso fresco de la parte aérea de *Gypsophila paniculata* por efecto de fungicidas a dosis baja y alta y *Trichoderma* spp., en el valle del callejón de Huaylas, Prov. de Caraz-Ancash.

Tratamientos	Peso fresco de la parte aérea de <i>G. paniculata</i> (Kg.)
T1 Rovral	12.1
T2 Kaptan	11.9
T3 Manzate	6.9
T4 Benopoint	9.7
T5 Vitavax	10.5
T6 Parachupadera	11.0
T7 Homai	9.2
T8 Testigo	6.1
T9 Rovral*	10.5
T10 Kaptan*	11.3
T11 Manzate*	11.2
T12 Benopoint*	7.2
T13 Vitavax*	10.9
T14 Parachupadera*	9.6
T15 Homai*	12.5
T16 <i>T. harzianum</i>	13.4
T17 <i>T. viride</i>	12.3

*= Dosis alta de fungicidas

4.6.3. Rendimiento (Nº de tallos florales cosechados/planta)

En el Cuadro 12 se observa los resultados de rendimiento del efecto de fungicidas a dosis baja, dosis alta y *Trichoderma* spp., donde los tratamientos (T16) *T. harzianum* y (T17) *T. viride* se cosecharon 6.25 y 5.5 tallos florales/planta respectivamente, a diferencia del testigo que solo alcanzó 2.25 tallos florales/planta. El Coeficiente de Variabilidad para el ensayo fue de 17.53 %, el cual se considera aceptable para dar confiabilidad al estudio (Cuadro 13). Los resultados obtenidos con los biocontroladores fueron estadísticamente superiores a los tratamientos con fungicidas, coincidiendo de esta forma con el reporte de muchos investigadores Indar *et al.* (1994), Harman (1996), Chang *et al.* (1986), Galeano *et al.* (2009) donde indican que las cepas de *Trichoderma* spp. promueven el desarrollo y crecimiento del sistema radicular, por consiguiente, mejor desarrollo de la parte aérea,

evidenciándose en los cultivos de pepino, frijol y pimiento, estas características se atribuyen a la producción de hormonas, vitaminas y asimilación de nutrientes como P, Zn, Mg y K. Así mismo, Mont (2002), indica que el efecto de *Trichoderma* spp. produce estimulación directa del desarrollo de la planta consistentemente por la producción de metabolitos; esto se ha encontrado en petunia y marigold con la incorporación del 1% de biomasa seca conteniendo 60 – 80% de clamidosporas del hongo, incrementó el tamaño y el peso de las flores en un 100%.

Con los tratamientos con los fungicidas (T1) Rovral y (T15) Homai* se cosecharon en ambos 4.5 tallos florales/planta, siendo menores a los obtenidos a los biocontroladores, probablemente se deba a que durante la ejecución del trabajo de investigación en los meses de enero a abril se presentaron precipitaciones las que pudo haber influenciado en el lavado de los fungicidas empleados, se suma a esto la poca residualidad, tenacidad y frecuencia de aplicación (c/15 días).

Cuadro 12: Prueba de Duncan ($P \leq 0,05$) de número de tallos florales cosechados/planta de *Gypsophila paniculata* por el efecto de fungicidas a dosis baja y alta y *Trichoderma* spp., en el valle del callejón de Huaylas, Prov. de Caraz-Ancash.

Tratamientos	Media del N° de tallos florales cosechados/planta	Significancia Duncan (0.05)
T16 <i>T. harzianum</i>	6.25	a
T17 <i>T. viride</i>	5.5	b
T01 Rovral	4.5	bc
T15 Homai*	4.5	bc
T05 Vitavax	4.25	c
T11 Manzate*	4.25	c
T14 Parachupadera*	4.0	cd
T06 Parachupadera	3.75	cde
T10 Kaptan*	3.75	cde
T03 Manzate	3.5	cde
T04 Benopoint	3.5	cde
T02 Kaptan	3.0	def
T09 Rovral*	3.0	def
T12 Benopoint*	3.0	def
T13 Vitavax*	3.0	def
T07 Homai	2.75	ef
T08 Testigo	2.25	f

*= Dosis alta de fungicidas

Cuadro 13: Análisis de variancia de número de tallos florales cosechados por planta de *Gypsophila paniculata* en la prueba de fungicidas a dosis baja, dosis alta y *Trichoderma* spp. en callejón de Huaylas, Caraz – Ancash.

F. V.	G. L.	S. C.	C. M.	F. C.	F (5%)	F (1%)	Sig.
Bloques	3	0.514	0.1715	0.3788	2.7978	4.2168	NS
Trats.	16	76.9705	4.8106	10.623	1.8571	2.3985	*
Error	48	21.7352	0.4528				
Total	59	99.2205					

C.V. = 17.53%

V. CONCLUSIONES

1. Mediante la prueba de la patogenicidad se determinó que el agente causal de la enfermedad de pudrición del cuello en *Gypsophila paniculata* es el hongo *Rhizoctonia solani*.
2. Fungicidas Rovral (iprodione), Benopoint (benomil), Vitavax (carboxin+captan), Parachupadera (captan+flutolanil) y Homai (thifanate metil+thiram) a dosis baja y alta inhibieron al 100 % el crecimiento micelial del hongo *R. solani* en condiciones *in vitro*.
3. *Trichoderma harzianum* y *T. viride* a nivel de *in vitro* tuvieron mayor velocidad de crecimiento frente a *R. solani*, observándose invasión total de la colonia y esporulación, alcanzando grado 4 de antagonismo.
4. En campo, menor porcentaje de incidencia se obtuvo con el tratamiento *T. harzianum* registrándose 12.5%, que fue inferior al testigo que alcanzó 51.28 %.
5. Mayor peso fresco y mayor número de tallos florales/planta se obtuvieron con el tratamiento *T. harzianum* registrándose 13.4 kg de peso fresco y un promedio de 6.25 tallos florales/planta y el testigo alcanzó 6.1 kg de peso fresco y un promedio de 2.25 tallos florales/planta.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios de caracterización a fin de determinar y/o clasificar a qué Grupo de Anastomosis pertenece el hongo *Rhizoctonia solani* que afecta a la *Gypsophila* en el valle de Caraz.
2. En campo en área más grande (1 ha) validar la aplicación *Trichoderma* spp. en el cultivo de *Gypsophila*.
3. Según los resultados obtenidos se debe implementar un plan de manejo integrado para el control de la enfermedad de pudrición del cuello en el cultivo de *Gypsophila* para las condiciones del valle de Caraz.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrios, G. N. 1995. Fitopatología. Tercera edición traducida del inglés por Manuel Guzmán Ortiz. Editorial Limusa, S.A. de C. V. México. 837 p.

Ahumada, L. R. 2002. Estudio del efecto de fungicidas y antagonistas biológicos contra chupadera fungosa del algodón Pima (*Gossypium barbadense* L.) en condiciones de campo, tinglado y laboratorio. Tesis. Universidad Nacional de Piura. Facultad de Agronomía. 70 p.

Almaraz-Sánchez, A., Alvarado, D., Tlapal, B., Espinoza, D. 2012. Identificación de hongos antagonistas a *Phytophthora cinnamomi* Rands en bosques de encino Arrayanal, Colima y Tecoaapa, Guerrero. Ciencias Forestales y del Ambiente 18: 341-356.

Anderson, N. A. 1982. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani*. Annual Review of Phytopathology 20: 329-347.

Andrabi, M., Amrishi, V., Kumar, V. R. 2011. Evaluation of different measures to control wilt causing pathogens in chickpea. Journal Plant Protection Research, India. Vol. 51(1)

Adams, P. 1990. The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. Ann. Rev. Phytopathology. 28: 59-72.

Barnett, H. L. and Hunter, B. B. 1998. Illustrated genera imperfect fungi. Editorial Burgess Publishing Company. USA. 241 p.

Baker, K. F. and Cook, R. J. 1982. Biological control of plant pathogens. American Phytopathological Society. St. Paul. Minnesota. 433 p.

Bell, D. K., Wells, H. D., Markham, C. R. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72: 379-382.

Benhamou, N. and Chet, I. 1993. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: Ultrastructure and gold cytochemistry of mycoparitic process. *Phytopathology* 83: 1062-1071.

Benítez, T., Rincón, A., Limon, C., Codon, A. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Int Microbiol.* 7: 249-60.

Butler, E. E. and Bracker, C. 1970. Morphology and Cytology of *Rhizoctonia solani* In: J.R. Parmeter, Jr., ed. *Rhizoctonia solani* biology y pathology. University of California. Press. Berkeley 255 p.

Chang, Y., Chang, Y., Baker, R., Kleifeld, O., Chet, I. 1986. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. *Plant Disease* 70: 145-148.

Chet, I. 1989. Biological Control of Soil-borne Plant Pathogens with fungal antagonists in combination with soil treatments. The Hebrew University of Jerusalem, Faculty of Agriculture, Rehovot, Israel, 6 p.

Chet, I. 1990. Biological control of soil borne plant pathogens with fungal antagonists in combinations with soil treatments. In: Hornby, D. Biological control of soil-borne plant pathogens. C-A-B International. 15-25.

Chet, I. and Baker, R. 1981. Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 71: 286-290.

Cook, R. J. and Baker, K. F. 1983. The nature and practice of biological control of plant Pathogens, 190-195. In: *Phytophthora*. Its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology. APS. St. Paul, MN-USA.

Cook, R. and Baker, K. 1989. The nature of practice of Biological Control of Plant Pathogens. Second Edition. USA, 539 p.

Cremlyn, R. 1989. Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. Editorial Limusa. México. 356 p.

Chiriboga, H.; Gómez, G. y Garcés, K. 2015. Protocolos para formulación y aplicación del bio insumo: *Trichoderma* spp. para el control biológico de enfermedades. IICA Paraguay.

Dennis, C. and Webster, J. 1971. Antagonistic Properties of species-24. groups of *Trichoderma*. I: Production of non-volatile antibiotics. Trans Brit Mycol Soc. 57: 25-39.

Elad, Y., Chet, I. and Katan, J. 1980. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 70: 119-121.

Ezziyani, M., Pérez, C., Requena, M., y Rubio, L. 2004. Biocontrol por *Streptomyces rochei-ziyani*, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. Anal Biol. 26: 69-78.

Farr, D. F., Bills, G. F., Chamuris, G. P. and Rossman, A. Y. 1989. Fungi on plants and plant Products in the United States. The American Phytopatological Society. S. T. Paúl Minnesota. USA. 1239 p.

Fernández, J. and Suárez L. 2009. Inhibición *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *passiflorae* en Maracuyá (*Passiflora edulis* Sims) del municipio zona bananera colombiana. Revista Facultad Nacional de Agronomía. Medellin 62: 4743-4748.

Frank, J. A., Leach, S. S. and Wedd, R. E. 1976. Evaluation of potato clone reaction to *Rhizoctonia solani* Plant Diseases Reporter 60: 910-912.

Fravel, D. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant disease. *Ann. Rev. Phytopathology*. 26: 75-91.

French, E. R. y Hebert, T. T. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. Editorial IICA. San José, Costa Rica. 277 p.

Galeano, M., Méndez, F., Urbaneja, A. 2009. Efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai (Cepa T-22) sobre cultivos hortícolas. Departamento I+D. Koppert Biological Systems.

Galindo, J. J. 1979. Morphological variability, virulence and anastomosis of *R. solani* Kuhn. associated with bean roots and soils in New York. M. Sc. thesis. Ithaca, Cornell Univ.

Goodman, R. N., Zoltan, K., Wood, K. R. 1986. The Biochemistry and Physiology of Plant Disease. University of Missouri Press, Columbia, Missouri 65211. Printed and bound in the United States of America. 435 p.

Goulart, A. C., Andrade, P. J. & Borges, E. P. 2000. Controle do tombamento de plântulas do algodoeiro causado por *Rhizoctonia solani* pelo tratamento de sementes com fungicidas. *Summa Phytopathologica* 26: 362-368.

Goulart, A. C. 2002. Efeito do tratamento de sementes de algodão com fungicidas no controle do tombamento de plântulas causado por *Rhizoctonia solani*. *Fitopatología Brasileira* 27: 399-402.

Guédeza, C., Cañizaleza, L., Castilloa, C. Olivarb, R. 2012. Evaluación *in vitro* *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, en plantas de tomate. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 32: 44-49.

Fernández, R. y Suárez, C. 2009. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp *passiflorae* en maracuyá (*Passiflora edulis*) del municipio zona bananera colombiana. *Rev Fac Nal Agr Medellín*. 62: 4743.

Hadar, Y., Chet, I. and Henis, Y. 1979. Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-

off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 69: 64-68.

Harman, G. E. 1996. *Trichoderma* for biocontrol of plant pathogens: From basic research to commercialized products. Cornell University NYSAES Departments of Horticultural Science and of Plant Pathology. <http://www.nvsaes.cornell.edu/talks/harman.html>. 6 p.

Harman, G., Howell, C., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic avirulent plant symbionts. *Nat Rev Microbiol* 2: 43-56.

Hohmann, P. E., Jones, E., Hill, R., and Stewart, A. 2011. Understanding *Trichoderma* in the root system of *Pinus radiata*: associations between rhizosphere colonization and growth promotion for commercially grown seedlings. *fungus biology*. Vol. 115: 759-767.

Howell, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolutions of current concepts. *Plant Dis.* 87: 4-10.

Hoy, M. and Herzog, D. 1985. Biological control in agricultural I-P-M Systems. Academic Press Inc. Orlando, Florida. 589 p.

Indar, J., Abramsky, M., Cohen, D., and Cvhet, I. 1994. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedling grown under comercial condition *Kluwer Academic Publishers* 100: 337-347.

Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., Nagy, E. 2003. Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Food Technology and Biotechnology* 41(1): 37-42.

Latorre, G. 1989. Fungicidas y Nematicidas. Avances y aplicabilidad. Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad de Chile. Santiago de Chile. 215 p.

Larsón, R. A. 1996. Introducción a la floricultura. A. G. Editor S. A. México. 552 p

Lenne, J. M., Vargas, A., Torres, C. 1983. Descripción de las enfermedades de las principales leguminosas forrajeras tropicales. Cali, CIAT 50 p.

Lewis, J. A. and Papavizas, G. C. 1987. Permeability changes in hyphae of *Rhizoctonia solani* induced by gremlin's preparations of *Trichoderma* and *Gliocladium*. *Phytopathology*. 77: 699-703.

Martínez, B., Pérez, J., Infante, D., Duarte, Y. y Moreno, M. 2013. Antagonismo de aislamientos de *Trichoderma* spp., frente a *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm. *Revista Protección Vegetal* 28: 192-198.

Mercado, W. I. y Rodríguez, R. del P. 2001. Fungicidas para el manejo del cancro y la pudrición de los cafetos. *J. Agric. Univ. P. R.* Vol. 85 (3-4)

Menten, J. O. & Paradela, A. 1996. Tratamiento químico de semillas de algodón para control de *Rhizoctonia solani*. *Summa Phytopathologica* 22: 60.

Mir, G. H., Devi, L. S., Ahmad, S., Kumar, V.M., and Williams, P. 2011. Antagonistic potential of native isolates of *Trichoderma viride* on corn pathogen complex of saffron (*Crocus sativus*). *Plant Pathology Journal* 10: 73-78.

Mont, R. M. 1993. Principios de control de enfermedades de las plantas. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú. 287 p.

Mont, R. M. 2002. Manejo Integrado de Enfermedades de las Plantas. Ministerio de Agricultura. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Lima-Perú. 210 p.

Nampoothiri, K. M., Baiju, T. V., Sandhya, C., Sabu, A., Szakacs, G., y Pandey, A. 2004. Process optimization for antifungal chitinase production by *Trichoderma harzianum*. *Process Biochemistry*. 39: 1583-1590.

Ogoshi, A. 1987. Ecology and Pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Ann. Rev. Phytopathology*. 25: 125-143.

Plaats-Niterink, A. Vander. 1981. Monograph of the *Pythium*. (Key to 87 species, descriptions, and illustration). Stud. Mycol. 21: 1-242.

Parmeter, J. R. and Whitney, H. S. 1979. Taxonomy and Nomenclature of the imperfect state. Pp. 7–19. In: J. R. Parmeter, Jr. Ed. *Rhizoctonia solani*. Biology and pathology. University of California press. Berkeley 255 p.

Poddar, R. K., Singh, D. V., Dubey, S. C. 2004. Management of chickpea wilt through combination of fungicides and bioagents. Indian Phytopathol. 57: 39-43.

Rodríguez, I. 1990. Efecto antagónico de ocho aislamientos de *Trichoderma* contra *Fusarium moniliforme* y *Fusarium subglutinans*. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo Universidad Agraria de La Habana.

Rubio, G., Baltodano, F., Abanto, L., Wilson, J., y Muñoz, M. 2008. Resistencia *in vitro* de *Rhizoctonia solani* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai. REBIOL. Universidad Nacional de Trujillo Vol. 28(2).

Salinger, J. P. 1991. Producción Comercial de Flores. Editorial ACRIBIA, S. A. Zaragoza-España. 371 p.

Sandoval R., López I., García, M., Mendoza D. 1995. *Trichoderma harzianum* (Cepa A-34) un biopreparado de amplio espectro para micopatología del tomate y del pimiento. Boletín Técnico INISAV, La Habana, Cuba 38 p.

Samuels, G. J. 2004. *Trichoderma* a guía to identification and biology. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service (USDA-ARS). USA. 55 p.

Shanda I., and Baker, R. 1982. Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*, Phytopathology 70: 404-411.

Sherwood, R. T. 1970. Physiology of *Rhizoctonia solani*. 1.0.; Parmeter J. R. (ed. Biology and pathology of *R. solani*. Berkeley, Univ. Calif. 69-72.

Silveira, S. F., Alfenas, A. C., Maffia, L. A. & Suzuki, M. S. 2003. Controle químico da mela de estacas e da queima de folhas de eucalipto, causadas por *Rhizoctonia* spp. Fitopatologia Brasileira 28: 642-649.

Sneh, B., Burpee, L., y Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* Species. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 133 p.

Stefanova, M., Leiva, A., Larrinaga, L., Coronado, M., 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 16: 509-516.

Strashnov, Y., Elad, Y., Sivan, A. and Chet, I. 1985. Integrated control of *Rhizoctonia solani* by methyl bromide and *Trichoderma harzianum*. Plant Pathology 34: 146-151.

Silva, L. 2003. Métodos biológicos. Sistema de integración Centro Americana. San José - Costa Rica.

Talboys, P. W. 1978. Dysfunction of the water system. In: Horsfall JG, Cowling EB (eds) Plant disease. An advanced treatise III. Academic Press, New York London, 141-162.

Wang, H., and Davis, R. M. 1997. Susceptibility of selected cotton cultivars to seedling disease pathogens and benefits of chemical seed treatments. Plant Disease Vol. 18: 1085-1088.

Wells, K. and Bandoni, R. J. 2001. Heterobasidiomycetes. In The Mycota VIIB: Systematics and Evolution, ed. D.J. McLaughlin, E.G. McLaughlin & P.A. Lemke. Berlin: Springer-Verlag, pp. 85 - 120.

VII. ANEXOS

Cuadro 14: Crecimiento micelial (cm.) del hongo *Rhizoctonia solani* después de 24 horas de incubación a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis baja.

Tratamientos	Fungicidas	Repeticiones				X (cm)
		I	II	III	IV	
T1	Rovral	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T2	Kaptan	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T3	Manzate	1.10	1.10	1.00	1.20	1.10
T4	Benopoint	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T5	Sportak	1.20	1.25	1.20	1.30	1.24
T6	Vitavax	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T7	Parachupadera	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T8	Homai	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T0	Testigo	1.70	1.75	1.70	1.65	1.70

Cuadro 15: Crecimiento micelial (cm.) del hongo *Rhizoctonia solani* después de 48 horas de incubación a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis baja.

Tratamientos	Fungicidas	Repeticiones				X (cm)
		I	II	III	IV	
T1	Rovral	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T2	Kaptan	1.20	1.30	1.25	1.30	1.26
T3	Manzate	1.30	1.30	1.40	1.35	1.34
T4	Benopoint	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T5	Sportak	2.00	1.80	1.70	2.00	1.88
T6	Vitavax	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T7	Parachupadera	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T8	Homai	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T0	Testigo	4.80	4.80	4.50	4.60	4.70

Cuadro 16: Crecimiento micelial (cm.) del hongo *Rhizoctonia solani* después de 72 horas de incubación a T° de 25 °C con tratamiento de fungicidas a dosis baja.

Tratamientos	Fungicidas	Repeticiones				X (cm)
		I	II	III	IV	
T1	Rovral	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T2	Kaptan	1.40	1.30	1.50	1.40	1.40
T3	Manzate	2.00	1.70	1.90	2.10	1.90
T4	Benopoint	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T5	Sportak	2.50	2.40	2.30	2.40	2.40
T6	Vitavax	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T7	Parachupadera	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T8	Homai	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T0	Testigo	7.80	7.40	7.50	7.20	7.47

Cuadro 17: Crecimiento micelial (cm.) del hongo *Rhizoctonia solani* después de 4 días después de incubación (ddi) a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis baja.

Tratamientos	Fungicidas	Repeticiones				X (cm)
		I	II	III	IV	
T1	Rovral	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T2	Kaptan	1.50	1.50	1.70	1.60	1.55
T3	Manzate	2.30	2.00	2.40	2.20	2.33
T4	Benopoint	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T5	Sportak	3.00	3.00	2.90	2.90	2.950
T6	Vitavax	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T7	Parachupadera	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T8	Homai	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T0	Testigo	8.20	8.20	8.20	8.20	8.20

Cuadro 18: Crecimiento micelial (cm.) del hongo *Rhizoctonia solani* después de 24 horas de incubación (ddi) a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis alta.

Tratamientos	Fungicidas	Repeticiones				X (cm)
		I	II	III	IV	
T9	Rovral	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T10	Kaptan	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T11	Manzate	1.30	1.20	1.20	1.10	1.25
T12	Benopoint	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T13	Sportak	1.40	1.30	1.35	1.25	1.33
T14	Vitavax	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T15	Parachupadera	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T16	Homai	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T0	Testigo	1.70	1.75	1.70	1.65	1.70

Cuadro 19: Crecimiento micelial (cm.) del hongo *Rhizoctonia solani* después de 48 horas de incubación a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis alta.

Tratamientos	Fungicidas	Repeticiones				X (cm.)
		I	II	III	IV	
T9	Rovral	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T10	Kaptan	1.20	1.25	1.50	1.20	1.29
T11	Manzate	1.40	1.60	1.50	1.60	1.53
T12	Benopoint	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T13	Sportak	1.40	1.70	1.70	1.40	1.55
T14	Vitavax	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T15	Parachupadera	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T16	Homai	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T0	Testigo	4.80	4.80	4.50	4.60	4.70

Cuadro 20: Crecimiento micelial (cm.) del hongo *Rhizoctonia solani* después de 72 horas de incubación a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis alta.

Tratamientos	Fungicidas	Repeticiones				X (cm.)
		I	II	III	IV	
T9	Rovral	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T10	Kaptan	1.40	1.30	1.40	1.30	1.35
T11	Manzate	1.80	1.90	1.70	1.70	1.83
T12	Benopoint	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T13	Sportak	1.90	2.10	1.80	2.00	1.95
T14	Vitavax	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T15	Parachupadera	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T16	Homai	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T0	Testigo	7.80	7.40	7.50	7.20	7.47

Cuadro 21: Crecimiento micelial (cm.) del hongo *Rhizoctonia solani* después de 4 días después de incubación a T° de 25°C con tratamiento de fungicidas a dosis alta.

Tratamientos	Fungicidas	Repeticiones				X (cm.)
		I	II	III	IV	
T9	Rovral	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T10	Kaptan	1.80	1.60	1.70	1.60	1.70
T11	Manzate	1.90	2.10	1.90	1.95	2.00
T12	Benopoint	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T13	Sportak	2.50	2.70	2.60	2.50	2.60
T14	Vitavax	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T15	Parachupadera	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T16	Homai	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T0	Testigo	8.20	8.20	8.20	8.20	8.20

Cuadro 22: Número de plantas evaluadas sanas de *Gypsophila paniculata* en la prueba de fungicidas a dosis baja.

Trats.	Fungicidas	Evaluaciones realizadas						
		1ª eval	2ª eval	3ª eval	4ª eval	5ª eval	6ª eval	7ª eval
T1	Rovral	38/40	37/40	34/40	32/40	28/40	28/40	26/40
T2	Captan	40/40	40/40	36/40	37/40	37/40	36/40	30/40
T3	Manzate	39/40	38/40	36/40	33/40	30/40	28/40	26/40
T4	Benopoint	40/40	40/40	37/40	36/40	35/40	33/40	29/40
T5	Vitavax	40/40	39/40	34/40	33/40	29/40	29/40	27/40
T6	Parachupdra	40/40	38/40	32/40	29/40	28/40	28/40	22/40
T7	Homai	40/40	40/40	34/40	32/40	30/40	28/40	27/40
T8	Testigo	39/40	38/40	36/40	32/40	27/40	23/40	19/40

Los datos del numerador indica total de plantas evaluadas sanas, datos del denominador indica total de plantas evaluadas por tratamiento.

Cuadro 23: Número de plantas sanas evaluadas de *Gypsophila paniculata* en la prueba de fungicidas a dosis alta.

Trats.	Fungicidas	Evaluaciones realizadas						
		1ª eval	2ª eval	3ª eval	4ª eval	5ª eval	6ª eval	7ª eval
T9	Rovral*	39/40	38/40	38/40	36/40	33/40	31/40	28/40
T10	Captan*	38/40	37/40	37/40	37/40	35/40	34/40	31/40
T11	Manzate*	40/40	40/40	38/40	36/40	32/40	32/40	29/40
T12	Benopoint*	38/40	38/40	35/40	34/40	32/40	29/40	25/40
T13	Vitavax*	40/40	39/40	38/40	38/40	35/40	32/40	28/40
T14	Parachupdra	40/40	40/40	36/40	33/40	33/40	32/40	29/40
T15	Homai*	40/40	40/40	38/40	38/40	37/40	36/40	31/40
T8	Testigo*	39/40	38/40	36/40	32/40	27/40	23/40	19/40

• = dosis alta. Los datos del numerador indica total de plantas evaluadas sanas, datos del denominador indica total de plantas evaluadas por tratamiento.

Cuadro 24: Número de plantas sanas evaluadas de *Gypsophila paniculata* en el ensayo con biocontroladores a nivel de campo.

Trats.	Biocontroladores	Evaluaciones realizadas						
		1ª eval	2ª eval	3ª eval	4ª eval	5ª eval	6ª eval	7ª eval
T1	<i>T. harzianum</i>	40/40	40/40	39/40	39/40	38/40	37/40	35/40
T2	<i>T. viride</i>	40/40	40/40	37/40	36/40	35/40	35/40	32/40
T3	Testigo	39/40	38/40	36/40	32/40	27/40	23/40	19/40

Los datos del numerador indica total de plantas evaluadas sanas, datos del denominador indica total de plantas evaluadas por tratamiento con la aplicación de biocontroladores.

Cuadro 25: Efecto del tratamiento con los fungicidas a dosis baja y alta a nivel de *in vitro* sobre el crecimiento e inhibición del crecimiento micelial (%) del hongo *Rhizoctonia solani*.

Nombre comercial	Dosis baja	Crec. (cm)	Inh. (%)	Dosis alta	Crec. (cm)	Inh. (%)
Rovral	1.5 g/l	0.00	100.0	2.5 g/l	0.00	100.0
Kaptan	1.5 g/l	1.58	80.8	2.5 g/l	1.68	79.6
Manzate	1.5 g/l	2.23	72.9	2.5 g/l	1.96	76.1
Benopoint	1.5 g/l	0.00	100.0	2.5 g/l	0.00	100.0
Sportak	1.0 ml/l	2.95	64.02	1.5 ml/l	2.58	68.6
Vitavax	1.0 g/l	0.00	100.0	2.0 g/l	0.00	100.0
Parachupdra	2.0 g/l	0.00	100.0	3.0 g/l	0.00	100.0
Homai	1.5 g/l	0.00	100.0	2.5 g/l	0.00	100.0
Testigo	-	8.20	-	-	8.20	-

Cuadro 26: Número de tallos florales cosechados/planta y peso verde de *Gypsophila paniculata* en la prueba de fungicidas a dosis baja.

Trats.	Fungicidas	N° de tallos florales cosechados/planta					Peso verde (Kg)
		R1	R2	R3	R4	X	
T1	Rovral 50 pm	4	5	4	5	4.5	12.1
T2	Kaptan basf	3	2	4	3	3.0	11.9
T3	Manzate-200	4	3	3	4	3.5	6.9
T4	Benopoint 50pm	4	3	3	4	3.5	9.7
T5	Vitavax - 300	4	5	4	4	4.25	10.5
T6	Parachupadera 740	3	4	4	4	3.75	11
T7	Homai wp	3	2	2	4	2.75	9.2
T8	Testigo	3	2	2	2	2.25	6.1

X = Promedio de tallos florales cosechados/planta, R = Repeticiones

Cuadro 27: Número de tallos florales cosechados/planta y peso verde de *Gypsophila paniculata* en la prueba de fungicidas a dosis alta.

Trats.	Fungicidas	N° de tallos cosechados por planta					Peso verde (kg)
		R1	R2	R3	R4	X	
T9	Rovral 50	2	4	3	3	3.0	10.5
T10	Kaptan Basf	4	4	3	4	3.75	11.3
T11	Manzate-200	4	4	4	5	4.25	11.2
T12	Benopoint 50	4	3	2	3	3.0	7.2
T13	Vitavax - 300	3	4	3	2	3.0	10.9
T14	Parachupadera 740	4	4	5	3	4.0	9.6
T15	Homai	4	5	4	5	4.5	12.5
T8	Testigo	3	2	2	2	2.25	6.1

X = Promedio de tallos florales cosechados/planta, R = Repeticiones

PREPARACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

El medio es útil para el crecimiento de la mayoría de los hongos cultivables. Los ingredientes y preparación se presentan en el anexo.

Medio PDA

Papa	200 g
Dextrosa	18 g
Agua destilada	1L
Agar	20g

Preparación: Se hizo hervir 250 g de papa trozada en 500 ml de agua destilada por 20 minutos, paralelamente a esto se disolvió el agar en otros 500 ml de agua destilada, luego se filtró usando un tamiz obteniéndose el caldo de papa, se mezcló las dos preparaciones, se agregó dextrosa y agregó agua destilada hasta completar 1000 ml.; posteriormente, el medio fue envasado en erlenmeyers de 100 ml para luego someterlo a esterilización.

Medio Corn Meal Agar (CMA)

Útil para el aislamiento y esporulación de algunas especies de *Phytophthora*, los ingredientes que se utilizaron fueron los siguientes:

Harina de maíz	20 g
Dextrosa	15 g
Peptona	20 g
Agar	18 g
Agua destilada	1 L

Preparación: Disolver harina de maíz en 500 de agua destilada, hervir /1 hora, filtrar a través de un tamiz, agregar la dextrosa y peptona; en 500 ml disolver el agar luego mezclar con el filtrado de maíz, completar a 1L con agua destilada, mezclar bien y luego envasar en erlenmeyers y someter a autoclave para su esterilización.

Medio PAR (Piramicina Ampicilina Rifampicina)

Es un medio selectivo que permite aislar Oomycetes, siendo muy utilizado para el aislamiento y esporulación de *Phytophthora infestans*.

Preparación: Se preparó el medio CMA como medio base y se esterilizó en autoclave (121°C a 15 lb/pulg² por 15 min), cuando el medio estuvo a punto de plaqueo (45°C), se agregaron los antibióticos y fungicidas en las siguientes dosis:

Pimaricina	10mg/L
Ampicilina	10 mg/L
Rifampicina	250 mg/L
PCNB	100 mg/L
Benomil	10 mg/L