

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES



**BIOCONTROL DE HONGOS
MANCHADORES EN LA MADERA DE
BROSIMUM ALICASTRUM (CONGONA)**

Presentado por:

Julio André Gamarra Bustamante

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO FORESTAL

Lima - Perú
2015

RESUMEN

Esta Tesis se realizó con el fin de probar la acción antagonista del hongo *Trichoderma harzianum* para ejercer control sobre *Lasiodiplodia theobromae* y *Cladosporium herbarum*, éstos hongos promueven la mancha azul en la madera en condiciones tropicales. Para las pruebas de laboratorio se utilizó madera de *Brosimum alicastrum* (Congona) debido a que es muy susceptible al manchado, y porque por sus características de color permiten distinguir fácilmente la presencia del micelio de los hongos manchadores en la madera. Las pruebas fueron realizadas bajo condiciones controladas de laboratorio, utilizándose como referencia la metodología propuesta en la norma ASTM D 4445-03. Se probaron cinco concentraciones diferentes de *T. harzianum* como controlador, empleando probetas de madera de congona tratadas en solución de esporas de *L. theobromae*, *C. herbarum* y una mezcla de esporas de ambos como bloques de prueba. Luego de un periodo de incubación de cuatro semanas, se evaluaron las probetas de madera con ayuda del programa informático Scion Image, el cual permite medir la superficie manchada a nivel porcentual. Los resultados obtenidos muestran que *T. harzianum* genera un control superficial en *L. theobromae*, extendiéndose la mancha de manera interna en la madera. Mientras que para *C. herbarum* y para la mezcla de ambos, no se muestra una diferencia significativa entre el testigo y las concentraciones a nivel superficial.

Palabras clave: Biocontrol, *Brosimum alicastrum*, *Trichoderma harzianum*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Cladosporium herbarum*, hongos manchadores.

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. Introducción	11
II. Revisión de Literatura	12
1.1. Generalidades.....	12
1.1.1. La Madera	12
1.1.2. Decoloración de la Madera	12
1.1.3. Tipos de manchas	13
1.1.4. Organismos causantes de manchas en la madera.....	15
1.1.5. Penetración y desarrollo de los hongos manchadores en la madera	17
1.1.6. Factores que favorecen el manchado de la Madera	19
1.1.7. Tipos de control.....	22
1.1.8. Acción antagonista de especies de Trichoderma	23
1.2. Antecedentes	24
1.3. Análisis digital de manchas en la madera.....	24
III. Materiales y Métodos.....	26
1. Lugar de ejecución	26
2. Materiales.....	26
2.1. Madera.....	26
2.2. Cultivo de los hongos manchadores:.....	26
2.3. Elaboración de la solución y aplicación de esporas:.....	27
2.4. Elaboración del biocontrolador:	27
2.5. Elaboración de cámaras húmedas.....	27
2.6. Habilitado de las probetas de madera.....	28
3. Diseño de la investigación	28
4. Procedimiento:.....	30
IV. Resultados y discusión.....	43
1. Cultivo de hongos	43
2. Confrontación de hongo controlador con hongos manchadores	47
3. Conteo de unidades formadoras de colonias.....	48
4. Área manchada.....	48
V. Conclusiones	59
VI. Recomendaciones	61
VII. Referencias bibliográficas	63
VIII. Anexos.....	65

Índice de tablas

	Página
TABLA 1: DISEÑO EXPERIMENTAL DE LA INVESTIGACIÓN	29
TABLA 2: PROMEDIO PORCENTUAL DEL ANÁLISIS DE MANCHADO POR CONCENTRACIÓN Y TIPO DE HONGO, ANTES DE LIJAR.	49
TABLA 3: PROMEDIO PORCENTUAL DEL ANÁLISIS DE MANCHADO POR CONCENTRACIÓN Y TIPO DE HONGO, DESPUÉS DE LIJAR.	50
TABLA 4: ANÁLISIS DE VARIANZA PARA: PORCENTAJE DE ÁREA MANCHADA SIN LIJAR.....	53
TABLA 5: AGRUPAR INFORMACIÓN UTILIZANDO EL MÉTODO DE TUKEY Y UNA CONFIANZA DE 95%	53
TABLA 6: AGRUPAR INFORMACIÓN UTILIZANDO EL MÉTODO DE DUNNETT Y UNA CONFIANZA DE 95%.....	54
TABLA 7: ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS: MEDIA, ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN PARA <i>L. THEOBROMAE</i>	54
TABLA 8: ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS: MEDIA, ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN PARA <i>C. HERBARUM</i>	54
TABLA 9: ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS: MEDIA, ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN PARA EL MIX.....	55
TABLA 10: ANÁLISIS DE VARIANZA PARA: PORCENTAJE DE ÁREA MANCHADA DESPUÉS DE LIJAR.....	55
TABLA 11: AGRUPAR INFORMACIÓN UTILIZANDO EL MÉTODO DE TUKEY Y UNA CONFIANZA DE 95%	56
TABLA 12: AGRUPAR INFORMACIÓN UTILIZANDO EL MÉTODO DE DUNNETT Y UNA CONFIANZA DE 95%.....	56
TABLA 13: ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS: MEDIA, ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN PARA <i>L. THEOBROMAE</i>	57
TABLA 14: ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS: MEDIA, ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN PARA <i>C. HERBARUM</i>	57
TABLA 15: ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS: MEDIA, ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN PARA EL MIX.....	57
TABLA 16: ANTES DE LIJAR:	65
TABLA 17: DESPUÉS DE LIJAR:.....	69
TABLA 18: MODELO LINEAL GENERAL: PORCENTAJE DE MANCHADO ANTES DE LIJAR VS. HONGO, CONCENTRACIÓN.	75
TABLA 19: ANÁLISIS DE VARIANZA PARA: PORCENTAJE DE MANCHADO ANTES DE LIJAR, UTILIZANDO SC AJUSTADA PARA PRUEBAS. ...	75
TABLA 20: COMPARACIONES POR PAREJAS DE TUKEY: RESPUESTA = PORCENTAJE DE MANCHADO ANTES DE LIJAR, TÉRMINO =	76
TABLA 21: COMPARACIONES MÚLTIPLES DE DUNNETT CON UN CONTROL: RESPUESTA = PORCENTAJE DE MANCHADO ANTES DE LIJAR	76
TABLA 22: ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS: MEDIA, ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN PARA <i>L. THEOBROMAE</i> ,.....	76
TABLA 23: ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS: MEDIA, ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN PARA <i>C. HERBARUM</i> ,.....	77
TABLA 24: ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS: MEDIA, ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN PARA EL MIX,.....	77
TABLA 25: ANOVA: PORCENTAJE DE MANCHADO DESPUÉS DE LIJAR VS HONGO, CONCENTRACIÓN.....	78
TABLA 26: COMPARACIONES POR PAREJAS DE TUKEY: RESPUESTA = PORCENTAJE DE MANCHADO DESPUÉS DE LIJAR, TÉRMINO = H078	78
TABLA 27: COMPARACIONES MÚLTIPLES DE DUNNETT CON UN CONTROL: RESPUESTA = PORCENTAJE DE MANCHADO DESPUÉS DE LIJAR	79
TABLA 28: ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS: MEDIA, ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN PARA <i>L. THEOBROMAE</i> ,.....	79
TABLA 29: ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS: MEDIA, ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN PARA <i>C. HERBARUM</i> ,.....	79
TABLA 30: ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS: MEDIA, ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA, DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y COEFICIENTE DE VARIACIÓN PARA EL MIX,.....	80

Índice de figuras

	Página
FIGURA 1	DIAGRAMA DE FLUJO DE PROCEDIMIENTOS30
FIGURA 2	DESARROLLO DE <i>L. THEOBROMAE</i> EN PDA.31
FIGURA 3	DESARROLLO DE <i>C. HERBARUM</i> EN PDA.32
FIGURA 4	DESARROLLO DE LA CONFRONTACIÓN ENTRE <i>T. HARZIANUM</i> Y <i>L. THEOBROMAE</i>32
FIGURA 5	DESARROLLO DE LA CONFRONTACIÓN ENTRE <i>T. HARZIANUM</i> Y <i>C. HERBARUM</i>33
FIGURA 6	CÁMARA DE NEUBAUER33
FIGURA 7	PROBETA DE 7x20x70 MM.34
FIGURA 8	SOLUCIÓN BIOCONTROLADORA AL 4%.....35
FIGURA 9	DISTRIBUCIÓN DE LAS PROBETAS PARA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO EN UN VASO DE PRECIPITADO DE 600 ML.....36
FIGURA 10	APLICACIÓN DEL BIOCONTRALADOR.....37
FIGURA 11	PROBETAS INOCULADAS CON EL BIOCONTROLADOR, BAJO ALMACENAMIENTO.38
FIGURA 12	DISTRIBUCIÓN DE LAS PROBETAS TRATADAS DENTRO DE LA PLACA PETRI ANTES DE LA INCUBACIÓN.39
FIGURA 13	CÁMARA HÚMEDA (PLACA PETRI, PAPEL TOALLA Y ROLLO DE ALUMINIO)40
FIGURA 14	SOLUCIÓN DE ESPORAS EN PLACA PETRI.41
FIGURA 15	CULTIVO DE <i>LASIODIPLODIA THEOBROMAE</i>44
FIGURA 16	CULTIVO DE <i>TRICHODERMA HARZIANUM</i>45
FIGURA 17	CULTIVO DE <i>CLADOSPORIUM HERBARUM</i>46
FIGURA 18	CONFRONTACIÓN DE <i>T. HARZIANUM</i> CON <i>L. THEOBROMAE</i>47
FIGURA 19	CONFRONTACIÓN DE <i>T. HARZIANUM</i> CON <i>C. HERBARUM</i>48
FIGURA 20	PROMEDIO PORCENTUAL DEL ANÁLISIS DE MANCHADO POR CONCENTRACIÓN Y TIPO DE HONGO, ANTES DE LIJAR.50
FIGURA 21	PROMEDIO PORCENTUAL DEL ANÁLISIS DE MANCHADO POR CONCENTRACIÓN Y TIPO DE HONGO, DESPUÉS DE LIJAR. ..51
FIGURA 22	COMPARACIÓN DE LOS PORCENTAJES DE MANCHADO DE <i>L. THEOBROMAE</i> ANTES Y DESPUÉS DE LIJAR.51
FIGURA 23	COMPARACIÓN DE LOS PORCENTAJES DE MANCHADO DE <i>C. HERBARUM</i> ANTES Y DESPUÉS DE LIJAR.52
FIGURA 24	COMPARACIÓN DE LOS PORCENTAJES DE MANCHADO DEL MIX ANTES Y DESPUÉS DE LIJAR.52

Índice de anexos

Página

ANEXO 1 RESULTADOS PORCENTUAL DEL ÁREA MANCHADA.....	65
ANEXO 2 RESULTADOS ESTADÍSTICOS	75

I. INTRODUCCIÓN

En la producción maderera, el mayor porcentaje de pérdidas de madera por manchado es causado por hongos. Generalmente ese manchado se genera en la albura pero ocasionalmente puede presentarse en el duramen. Decoloraciones en el duramen, usualmente indican el estado incipiente de pudriciones.

Los hongos manchadores, pueden ser divididos en 2 grupos: aquellos conocidos como mohos y que se desarrollan en la superficie de la madera, produciendo decoloraciones, y que pueden fácilmente eliminarse por el cepillado, y aquellos que penetran en la madera, produciendo coloraciones que no pueden ser eliminadas.

Para encontrar una solución que ayude a combatir este problema de una manera más amigable con el ambiente se propone trabajar con un hongo del género *Trichoderma*, ya que posee buenas cualidades para el control de enfermedades en plantas causadas por hongos. Las especies del género *Trichoderma* son los antagonistas más utilizados para el biocontrol debido a su ubicuidad, a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores (Papavizas et al. 1982). Se ha comprobado que el género *Trichoderma* es efectivo en el campo agrícola, sin embargo en el ámbito forestal no se conoce información al respecto, esta es una de las razones para la elaboración de esta tesis y forjar las bases para futuros estudios que ayuden a controlar el manchado de la madera sin tener que utilizar productos químicos que perjudiquen la salud de las personas y dañen el medio ambiente.

El objetivo principal es conocer la efectividad de *Trichoderma harzianum* como controlador biológico de *Lasiodiplodia theobromae* y *Cladosporium herbarum*, hongos causantes de manchas en las maderas latifoliadas en condiciones tropicales, para así obtener una alternativa viable al uso de productos químicos nocivos para el hombre y el medio ambiente.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. GENERALIDADES

1.1.1. LA MADERA

Para la realización de este trabajo se contó con madera de la especie *Brosimum alicastrum* Swartz, conocida en el mercado como Manchinga o Congona.

La Confederación Peruana de la Madera (2008), señala que esta especie pertenece a la familia moraceae, se encuentra en bosque húmedo tropical y bosque seco tropical, de preferencia en suelos aluviales.

Además señala que el árbol puede alcanzar una altura entre los 20 a 40 metros, un diámetro a la altura del pecho (DAP) que varía entre 0,76 a 0,89 metros, de fuste generalmente recto y cilíndrico y una copa grande e irregular. La corteza externa es de color gris pálido a pardo oscuro, con pequeñas lenticelas, desprendible en capas, mientras que la corteza interna es de color amarillo cremoso que exuda un látex blanco cremoso. La madera es de color pardo claro a blanco amarillento, sin encontrar mucha diferencia entre albura y duramen, posee un brillo alto, es de grano entrecruzado, textura fina y un vetado poco pronunciado, esta madera es de densidad media, además presenta dificultades en el secado y aserrío.

Así mismo dice que en cuanto a su durabilidad natural es una especie susceptible al ataque de hongos manchadores de la madera, por tal motivo se recomienda procesarla de inmediato y que en el mercado local su comercio está destinado a la producción de vigas, viguetas, pie derechos, columnas, tijeras, pisos, durmientes, molduras y machihembrados.

1.1.2. DECOLORACIÓN DE LA MADERA

Schmidt (2006) señala que el daño de la madera por hongos está esencialmente causado por la degradación de la pared celular de la madera, lo que disminuye las propiedades mecánicas de la madera y reduce sustancialmente el uso de la misma.

Además afirma que la decoloración de la madera a causa de los mohos y hongos manchadores se alimentan de los nutrientes de las células de la albura. La priorización del daño causado por decoloración depende del uso final de la madera.

Así mismo Schmidt (2006) menciona que varios Deuteromycetes y Ascomycetes manchan sustratos leñosos. *Phialophora fastigiata* (Hyphomycetes) causa una mancha gris de madera

de álamo. *Arthrographis cuboides* (Hyphomycetes) produce una mancha rosa en varias maderas duras y de maderas blandas.

De acuerdo con Boyce (1961), el manchado de la madera a causa de los hongos se puede dividir en 2 grupos: (1) aquellos conocidos como mohos, que se desarrollan en la superficie de la madera causando decoloraciones que pueden ser eliminadas mediante el cepillado, y (2) aquellas que penetran en la madera y no pueden ser eliminadas al cepillarlas.

También menciona que la mancha se produce ya sea de una forma desconocida o por una solución de color real secretada por las hifas que manchan la madera. La decoloración es generalmente más intenso en los radios, debido a que la mayor parte del material de alimentación se encuentra en las cavidades de las células de los radios. Los hongos que manchan atacan las paredes de las células en una proporción despreciable o nada en absoluto; por consiguiente, la falta de alimentos, y en algunos casos la falta de humedad, explica por qué el duramen es tan rara vez invadido.

Baxter (1943) menciona que existe una gran variedad de hongos manchadores de la albura entre los cuales se encuentra especies de *Ceratostomella* (Ascomycetes) y también algunos hongos imperfectos como lo son *Sclerophoma*, *Cladosporium*, *Diplodia*, *Trichosporium*, entre otros.

1.1.3. TIPOS DE MANCHAS

Boyce (1961) describe los diversos tipos de manchas que se encuentran en la madera, diferenciando las manchas superficiales producidas por los mohos y las manchas que penetran en la madera producidas por los hongos cromógenos, destacando a la mancha azul como la mancha más conocida y estudiada a nivel mundial.

Además menciona que los mohos, que aparecen como blanquecino esponjosos a crecimientos grisáceos, o como azul-verde, cambios de color verde, en polvo de color amarillento o rojizo en la superficie de la madera, causan manchas superficiales que pueden ser fácilmente retiradas de la madera cepillándola, a pesar de que el micelio puede penetrar profundamente en la madera. Las esporas, que son producidos en abundancia, son generalmente responsables de la decoloración. Los mohos verdes son más frecuentes en la madera, por lo general especies de *Penicillium*, *Trichoderma* y *Glocladium* son las responsables.

Fritz (1952), citado por Boyce (1961) menciona que la mancha marrón de savia se limita a la albura y es común en *Pinus baksiana*, *P. ponderosa* y *P. resinosa*, y ocurre de vez en cuando sobre *P. lambertiana* y *P. monticola*.

Davidson (1954), citado por Boyce (1961), refiere que la mancha de color rojo ladrillo es causada por *Ascocybe grovesii* Wells (Ascomycetes, Endomycetaceae), que aparece como puntos de color rojo ladrillo o áreas grandes sobre la madera, variando en intensidad desde leve a pronunciada.

Boyce (1961), describe diversos tipos de manchas, que se mencionan a continuación:

- La mancha rosa es causada por *Ceotrichum sp.* (Hongo imperfecto, Moniliaceae), ocurre como un jaspeado de color rosa a rojo claro en albura y duramen del pino amarillo meridional.
- La mancha amarilla de las latifoliadas es causada por acción de *Penicillium divaricatum* (Ascomycetes, Aspergilaceae), que se presenta en el Abedul, especies del género *Carya*, el Maple y el Roble.
- La mancha roja de arce negundo esta confina a árboles vivos, se da en el duramen y algunas veces se extiende a la albura o a todas las partes del árbol, desde la raíz hasta las ramas más pequeñas.
- La mancha verde de *Pinus Elliotti*, es una mancha brillante, verdigris – verde de descortezado, se encuentra en el *Pinus elliottii* en condiciones húmedas.
- La mancha gris-oliva de las maderas duras es causada por *Lasiosphaeria pezizula* (B. y C.) Sacc. (Ascomycetes, Sphaeriaceae), es común encontrarlo de trozas almacenadas de haya, eucalipto rojo y tupelo.
- La mancha negro-grisácea es generada a causa de *Torula ligniperda* (Willk.) Sacc. (Hongo Imperfecto, *Dematiaceae*), se ha encontrado causando manchas con forma de rayas o vetas de color canela a grisáceo en el fresno blanco americano, vetas de color oscuro en el eucalipto rojo y en el tilo americano.

La mancha azul, es la más conocida a nivel mundial y es causada por un gran número de hongos, entre ellos se encuentra al *Lasiodiplodia theobromae*, mencionado por Bazán de

Segura, C. en su estudio de la mancha azul en algunas maderas tropicales peruanas. Esta mancha se puede dar en la albura de prácticamente todas las maderas, pero las más susceptibles son las coníferas.

1.1.4. ORGANISMOS CAUSANTES DE MANCHAS EN LA MADERA

Los hongos son organismos vivos de distribución universal, que se encuentran dispersos en la superficie terrestre, aire y agua. Se ubican desde los fríos casquetes polares hasta los áridos desiertos.

La clasificación del reino de los hongos, se divide en el Phylum *Chytridiomycota*, el Phylum *Zygomycota*, el Phylum *Ascomycota*, el Phylum *Basidiomycota* y el grupo Deuteromycota o también conocidos como hongos imperfectos de acuerdo con el Congreso Internacional de Micología (2004).

a. Phylum Ascomycota

Según Norstog y Meterriecks (1983), los miembros de la división Ascomycota (hongos bolsa), o ascomycetes, son probablemente los más útiles para la economía humana. Por ejemplo la penicilina que proviene de *Penicillium notatum*, hay hongos que intervienen en la elaboración de pan y bebidas. Además, algunos ascomycetes son agentes parasitantes que causan enfermedades. Los hongos saprofitos destruyen gran cantidad de alimentos, ropa y productos de madera.

Así mismo Norstog y Meterriecks (1983), mencionan que los ascomycetes obtienen su nombre de sus órganos reproductivos denominados ascas, donde las ascosporas se producen por divisiones meióticas. Además de las ascosporas, existen esporas no sexuales denominadas conidias, que se producen en gran número. Algunos ascomycetes producen solo conidias y como no se conoce sus órganos reproductivos son derivados al grupo deuteromycota (hongos imperfectos).

De acuerdo con Murray, P (2006), los ascomicetos incluyen tanto formas levaduriformes como miceliales. Las hifas presentan tabiques y las esporas asexuales se forman a partir de células conidiógenas localizadas en los conidióforos. La espora sexual de los ascomicetos es la ascospora, la cual se desarrolla en el interior de un saco o asco.

b. Grupo Deuteromycota

Alexopoulos (1996), citado por Alarcón (2006), denomina al grupo deuteromycota como hongos imperfectos, por ser principalmente, hongos en los que no se ha observado un ciclo sexual.

Además menciona que este grupo comprende una gran cantidad de especies de hongos (unas 15.000) en las que la reproducción se realiza solamente por mecanismos asexuales o para sexuales. Asimismo sostuvo que la inmensa mayoría de los Deuteromycetes es terrestre y a mayor parte de ellos son saprobios o parásitos débiles de plantas.

Así mismo menciona que para el hombre son de gran trascendencia las actividades químicas de estos hongos, algunos de los cuales son utilizados en la producción industrial de diversas sustancias, incluyendo los antibióticos.

c. Hongos Cromógenos

JUNAC (1988), indica que se incluyen en este grupo todos aquellos hongos capaces de producir cambios de coloración en los tejidos de la madera o manchas biológicas. Las manchas biológicas pueden tener coloración negra, azul, roja, castaña, amarilla, marrón, o gris.

Así mismo menciona que el ataque más frecuente de estos hongos se presenta en el período de la tumba y almacenamiento de las trozas, bajo condiciones apropiadas de humedad y temperatura, siendo las óptimas para su crecimiento las comprendidas entre 24 y 35 grados centígrados y una humedad superior al 30 por ciento.

También la JUNAC (1988) menciona que las maderas con colores claros tienden a mancharse con mayor facilidad que las maderas oscuras. Asimismo las maderas menos densas tienen una mayor tendencia al manchado.

d. Mohos

La JUNAC (1988) define a los mohos como los hongos de humedad al igual que los cromógenos, no influyen sobre las propiedades de resistencia mecánica de la madera ya que se desarrollan sobre la superficie de la misma y nunca en su interior.

Reiss (1997), citado por Schmidt (2006), señala que el término moho se origina en la vida cotidiana y no es un nombre taxonómico de un grupo sistemático. Los deuteromicetes (hongos imperfectos) constituyen un grupo artificial y comprenden una gran variedad de

20000 – 30000 especies de 1700 géneros de Hyphomycetes y 700 géneros de Coelomycetes. Los mohos poseen un amplio espectro de respuesta fisiológica con respecto a la temperatura, actividad del agua, valor de pH y por lo tanto puede colonizar y dañar diversos materiales. Los mohos son importantes en vista de los daños a los productos alimenticios, deterioro de los materiales naturales (cuero, libros, textiles), con respecto a la salud humana y animal, y para bioquímica y manufactura de antibióticos (772 de alrededor de 3200 antibióticos admitidos se originan a partir de hongos: Müller y Loeffler 1992), ácidos orgánicos, enzimas, quesos, entre otros.

El mismo autor comenta que con frecuencia, los mohos son reconocibles por su rápido crecimiento en la superficie de sustratos, en el que se desarrollan rápidamente. Debido a las especies – color específico de las conidias, madera colonizada por varias especies de hongos puede hacer una impresión multicolor, o lo sobre pasa el negro, por ejemplo, debido a *Aspergillus niger* o verde después de la colonización de *Penicillium sp.* o *Trichoderma spp.*

Así mismo Schmidt (2006) dice que los mohos se desarrollan en cortes frescos después de la tala de árboles, sobre todo en la albura húmeda, sobre la madera almacenada y secada inadecuadamente, durante el transporte marítimo de la madera y productos de madera bajo cubierta y en las pilas de chips de pulpa.

Schmidt (2006), describe, en parte, la acción que ejercen los hongos en la madera, es así que las hifas penetran en la madera sólo unos pocos milímetros y viven en las células del parénquima (azúcar, almidón, proteínas). En el laboratorio, algunas especies degradan pectinas, hemicelulosas y celulosa, pero no las paredes celulares lignificadas. Por lo tanto, propiedades de la madera de resistencia permanecen sin cambios.

1.1.5. PENETRACIÓN Y DESARROLLO DE LOS HONGOS MANCHADORES EN LA MADERA

De acuerdo con Schmidt (2006), el inicio para las decoloraciones y pudriciones son en su mayoría a causa de las heridas en los árboles provocadas por animales, rotura de ramas, poda, tumbado, entre otros (Tattar 1978).

Del mismo modo Schmidt (2006), refiere que dependiendo del hongo y especies de árboles, se puede desarrollar diversos tipos de ataques, desde manchas hasta pudriciones. La albura y / o duramen puede ser colonizado. El desarrollo y propagación de la descomposición son

influenciados por las especies de árboles, que pueden ser susceptibles, como el abedul o álamo, o presentan una durabilidad natural en su duramen debido a compuestos inhibidores.

Blanchette (1992), citado por Schmidt (2006), señala que hay que distinguir entre los mecanismos pasivos, que son ya presentes antes del daño, y los mecanismos activos de defensa, que los árboles han formado en el curso de su desarrollo para limitar las heridas, infecciones y daños seniles.

Liese (1996) citado por Schmidt (2006), nos dice que después de que el xilema está herido, dos funciones de defensa tienen que ser diferenciadas: En primer lugar, el árbol debe evitar una interrupción de la corriente de la transpiración por embolia de aire, y segundo, limitar la propagación de microorganismos invasores.

Schmitt (1993), citado por Schmidt (2006) afirma que en las maderas duras, las reacciones de defensa dependen de las células de parénquima fisiológicamente activas. El sistema de conducción de agua está protegido contra daños por tilosis, membranas y sustancias fenólicas o suberina que se depositan en la pared de la célula o en el lumen.

Schmidt (2006) describe cómo se desarrolla la mancha azul en la madera de la siguiente manera, las hifas son de color marrón debido a la melanina (Zink y Fengel 1989) y relativamente gruesas. Algunas especies, como *A. pullulans* desarrollan un color marrón oscuro, clamidosporas de pared gruesa. El color azul-negro de la madera se desarrolla como efecto óptico debido a la refracción de la luz. Las hifas penetran en el vástago de madera de sección transversal o radial a través de la corteza fisurada y se mueven a través de los radios medulares. Los nutrientes de fácil acceso (azúcares, carbohidratos, almidón, proteínas, grasas, extractivos) se toman a partir de las células de los radios de parénquima (Schirp et al. 2003a). De los radios, las hifas penetran en las traqueidas longitudinales con una presión mecánica a través de las puntuaciones aeroladas y crecen allí de célula a célula a través los pits. Debido a que los hongos colonizan las traqueidas y fibras de la albura, los componentes del líquido capilar también pueden ser utilizados como nutrientes. Aunque hay una microhifa especial, transpresoria, lo que puede atravesar la pared celular, probablemente por la presión física y / o acción enzimática (Schmid y Liese 1966; Liese 1970), en la mayoría de los casos, las propiedades de resistencia de la madera se ven apenas afectadas.

1.1.6. FACTORES QUE FAVORECEN EL MANCHADO DE LA MADERA

Schmidt (2006) define que los factores que favorecen el desarrollo de los hongos se encuentran en el árbol y en los factores ambientales del sitio, como son los nutrientes, aire, contenido de humedad de la madera, temperatura, valor de pH y producción de ácidos por parte de los hongos y luz, que se describen a continuación.

a. Nutrientes

Los hongos que habitan la Madera, sean mohos, manchadores o de pudrición durante su etapa inicial se nutren principalmente de azúcares y otros componentes de las células de parénquima.

La cantidad de estos metabolitos primarios son usualmente por debajo del 10% en relación al peso seco de la madera, y estos metabolitos se producen por lo general en células de parénquima de la albura viva o recién muerta.

Henry (2003), citado por Schmidt (2006), señala que varios metales son necesarios para los hongos, por ejemplo, para la degradación de la madera. Enzimas que participan en la degradación de la lignina contienen hierro (lignina-peroxidasa y manganeso, celobiosa deshidrogenasa) o cobre (lacasas) (Rodríguez et al. 2003).

Así mismo menciona que ciertos elementos presentes en los bosques y suelos también logran ser una fuente de nutrientes para los hongos, mejorando la capacidad de hongos para degradar la madera. El contenido de nitrógeno de madera se puede aumentar por contacto con el suelo o por medio de la translocación a través del micelio.

Fengel (1989), citado por Schmidt (2006), además de los componentes de la pared celular, metabolitos primarios y el material de almacenamiento, la madera contiene un amplio espectro de sustancias extraíbles (extractivos, compuestos accesorio, metabolitos secundarios) como ceras, grasas, ácidos grasos y alcoholes, esteroides y resinas.

De acuerdo con Fengel (1989), citado por Schmidt (2006), el duramen es una zona de color oscuro en la parte central de los tallos de la mayoría de especies de árboles y es fisiológicamente formado a partir de la albura, seguido por la disminución del contenido de humedad, la muerte de las células del parénquima, y el incremento del contenido de extractivos. La inhibición de extractos, que causan la durabilidad natural de muchas especies se desarrolla durante la formación del duramen a partir de almidón y carbohidratos solubles

(Magel 2000) y son principalmente fenoles, como terpenoides, flavonoides, estilbenos y taninos.

b. Aire

Schmidt (2006) menciona que como organismos aeróbicos, los hongos de la Madera producen CO₂, agua y energía por medio de la respiración y necesitan oxígeno del aire para ello.

Además presenta la degradación aeróbica de la madera a CO₂, agua y energía de la siguiente manera:

CELULOSA, HEMICELULOSA, LIGNINA – (ECTOENZIMAS) → AZÚCARES,
DERIVADOS DE LIGNINA – (ABSORSIÓN, ENZIMAS INTRACELULARES) → CO₂
+ 2(H) + ½ O₂ – (CADENA RESPIRATORIA) → H₂O + ENERGÍA (ATP)

Así mismo nos dice que son varias las reacciones que ocurren en los hongos de la madera que requieren oxígeno, como la degradación de lignina, la polimerización oxidativa de los fenoles y la síntesis de melanina en la mancha azul y otros hongos.

c. Contenido de humedad de la madera

Schmidt (2006) refiere que como la degradación de la madera por hongos implica enzimas, que son activas en medio acuoso, y porque las hifas constan de hasta 90% de agua, los hongos de la madera necesitan agua. El agua también se utiliza para la absorción de nutrientes, el transporte dentro del micelio y como disolvente para el metabolismo. Sin agua, el metabolismo descansa. La fase de reposo se produce por medio de esporas, en hongos de la madera particularmente por clamidosporas.

Y que en general, el contenido de humedad de la madera es el factor más importante para la degradación de la madera por los hongos y por lo tanto también para la protección de la madera. La humedad en la madera existe en dos formas diferentes: el agua ligada o higroscópica que se encuentra dentro de la pared celular por medio de puentes de hidrógeno en los grupos hidroxilo principalmente en la celulosa y las hemicelulosas y a menor medida en la lignina y el agua libre o capilar está situada en el lumen de la célula, así como en otros orificios y cavidades del tejido.

Para el desarrollo de los hongos manchadores es necesario que la madera presente agua libre en su composición.

d. Temperatura

Schmidt (2006) menciona que para los hongos de la madera se puede definir que la temperatura mínima que requieren para su desarrollo es por lo general 0 °C, ya que por debajo del punto de congelación no hay disponible agua líquida necesaria para su metabolismo.

Así mismo dice que el rango óptimo, dependiendo de la especie se encuentra entre 20 y 40 °C. El rango máximo para el crecimiento del micelio y daño a la madera por la mayoría de los hongos es a menudo de 40-50 °C, ya que a ésta temperatura la proteína (enzima) se desnaturaliza por efecto del calor.

e. Valor del pH y producción de ácidos por los hongos

Según Thörnqvist et al. (1987), citado por Schmidt (2006), el valor del pH influye en la germinación de las esporas, el crecimiento micelial, la actividad enzimática (degradación de la madera), y la formación del cuerpo fructífero. El óptimo para los hongos de la madera es a menudo ligeramente ácido de pH 5-6. Los basidiomycetes tienen un intervalo óptimo de pH 4-6 y un rango total de aproximadamente 2,5-9. Los ascomycetes, hongos de podredumbre blanda en particular, pueden tolerar más sustratos alcalinos a un pH de aproximadamente 11. Por lo tanto, los valores de pH desde 3.3-6.4 en el agua capilar madera de árboles vivos y en extractos acuosos de madera y muestras de corteza de los árboles de las zonas templadas y de madera comercial (Sandermann y Rothkamm 1959; Rayner y Boddy 1988; Fengel Wegener y 1989; Landi y Staccioli 1992; Roffael et al. 1992a, 1992b) corresponden con las demandas de pH de hongos de la madera.

f. Luz

De acuerdo con Jennigs y Lysek (1999), citados por Schmidt (2006), a primera vista, la luz podría no tener ningún significado para los hongos, porque los hongos son carbono heterótrofos, sin embargo el requerimiento de luz se produce en particular en el inicio de la etapa reproductiva y la maduración de los cuerpos fructíferos. La luz es la señal de que el micelio ha alcanzado la superficie, donde las esporas se encuentran en un medio favorable para su liberación.

En Ascomycetes, la formación de conidios es inducido por la luz, mientras que en el desarrollo de las ascosporas se da en oscuridad (Reiss, 1997). Los ciclos de luz – oscuridad

generan cambios arrítmicos en el crecimiento y reproducción de especies de *Penicillium* y otros deuteromicetes.

Algunos hongos pueden crecer permanentemente en los sitios expuestos a la luz, por ejemplo, los hongos crece en las superficies de las plantas (Schmidt 2006).

1.1.7. TIPOS DE CONTROL

Para poder controlar a los hongos manchadores se pueden aplicar 2 tipos de control, el químico y el biológico.

a. Control Químico

De acuerdo con Manners (1986) toda sustancia conservadora de la madera debe penetrar efectivamente ésta, y si se utiliza en madera que está dentro de una habitación, debe ser inodora, más o menos incolora y no debe tener un efecto importante sobre el posterior recubrimiento. Para la preservación se pueden usar compuestos como la creosota, arsénico o sales hidrosolubles; en casos en los que la creosota no es aceptable, pero no es apropiada una sal hidrosoluble, como en algunos casos en exteriores, se utilizan fungicidas disueltos en hidrocarburos. Estos fungicidas son apropiados, pero más costosos que la creosota o los compuestos hidrosolubles; entre los que más se utilizan están el pentaclorofenol, el naftanato de cobre y quinolinolato 8 de cobre.

b. Control Biológico

H. S. Smith (1919) emplea por primera vez el término “control biológico” para referirse al uso de enemigos naturales (introducidos o manipulados) para el control de insectos plaga.

Nicholls (2008), hace referencia a DeBach (1964), quien define al control biológico como el uso de uno o más organismos para reducir la densidad de una planta o animal que causa daño al hombre.

Guedez (2008) menciona que La Organización Internacional de Lucha Biológica (OILB) define el control biológico como "la utilización de organismos vivos, o de sus productos, para evitar o reducir las pérdidas o daños causados por los organismos nocivos".

Así mismo menciona a Pérez Consuegra, (2004), quien hace referencia a una definición más reciente de control biológico enunciada por Van Driesche y Bellows (1996) donde expresa que "el control biológico es el uso de parasitoides, depredadores, patógenos, antagonistas y

poblaciones competidoras para suprimir una población de plagas, haciendo esta menos abundante y por tanto menos dañina que en ausencia de éstos".

1.1.8. ACCIÓN ANTAGONISTA DE ESPECIES DE TRICHODERMA

Hanson R. (2008), nos indica en su libro "Química de los Hongos", que las especies de *Trichoderma* se encuentran dispersas en el suelo desnudo y desarrollan una significativa acción antagonista contra varios tipos de hongos, incluyendo varios agentes patógenos de las plantas.

Además nos dice que, las especies de trichoderma muestran un bajo potencial fitotóxico. La actividad antagonista de estos organismos se desarrolla en tres etapas. En la primera etapa algunas especies de trichoderma producen antibióticos volátiles que penetran en el suelo e inhiben el crecimiento de otros hongos. En la segunda etapa producen metabolitos no volátiles de acción anti micótica y en la tercera etapa producen un sistema enzimático extracelular con actividad celulolítica y quitinasa, que permite a las especies de trichoderma penetrar en otros hongos y obtener sus nutrientes. Por ejemplo los metabolitos volátiles antimicóticos de la especie *Trichoderma harzianum* es 6-n-pentil pirona, que tiene una potente actividad inhibidora contra un amplio rango de agentes patógenos de las plantas, incluyendo *Botrytis cinerea*, *Pythium ultimum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani* y *Gaeumannomyces graminis*. La exitosa aplicación de estos hongos como agente biocontrolador se basa en la diversidad de agentes anti micóticos y en el sistema enzimático extracelular que produce. La formación de esta amplia gama de metabolitos antagonistas minimiza el desarrollo de organismos y permite a las especies de *Trichoderma* mantener su ventaja competitiva.

De acuerdo a Olaf Schmidt (2006) existen varias especies de *Trichoderma* que son antagónicas contra otros organismos y también pueden destruir hongos parásitos.

Orietta Fernández (2001) señala que al género trichoderma como un hongo antagonista que por su versatilidad, adaptabilidad y fácil manipulación ha permitido su uso como controlador biológico, así mismo afirma que el género trichoderma efectúa su acción controladora en la mayoría de casos por acción de competencia de espacio y nutrientes, siendo en pocos casos que ejerce acción sobre algunos patógenos debido a su capacidad de colonizar rápidamente el medio.

M. Verma et al (2007), señala las tres modalidades que poseen las especies de *Trichoderma* para efectuar su biocontrol, las cuales señala son por micoparasitismos, antibiosis, que es la acción de secretar componentes antimicrobianos y la acción de competencia por nutrientes.

1.2. ANTECEDENTES

En Brasil Barbosa et al (2001), probó la acción antagonista del diversas especies de *Trichoderma*, una de ellas era *T. harzianum*, contral el hongo *Cladosporium herbarum*, en la especie *passiflora edulis* Sims. En este caso el hongo *C. herbarum* es causante de la enfermedad de la verruga disminuyendo la producción y calidad de los frutos. El estudio comprobó la acción antagonista de *T. harzianum* sobre *C. herbarum* debido a que posee una mayor velocidad de crecimiento y a la generación de antibióticos capaces de afectar el desarrollo de *C. herbarum*.

G. Mortuza y L. Ilang utilizaron a *T. harzianum* y *T. viride* como biocontroladores de *Lasiodiplodia theobromae* en frutos del árbol de platano, comprobando que las especies de *Trichoderma* ejercen una acción parasitaria alrededor de las hifas de *L. theobroma*.

Yitzhak Spiegel (1998) en su evaluación de *Trichoderma spp.* como agente de biocontrol contra hongos del suelo, parásitos de plantas y nemátodes, define al género *trichoderma* como un agente antagonico de hongos debido a la producción de antibióticos volátiles o no volátiles, factores de espacio – nutrientes que limitan el desarrollo del otro hongo y el mico parasitismo directo que degrada la pared celular del hongo hospedero usando enzimas líticas secretadas por *trichoderma spp.*

Andros Briceño (2008) en su estudio Biopreservantes contra el mancha azul de la madera de pino caribe, utiliza como una de las cepas biocontroladoras a la especie *Trichoderma harzianum*, siendo la especie a controlar *Lasiodiplodia theobromae* dando como resultado un buen control del hongo manchador.

1.3. ANÁLISIS DIGITAL DE MANCHAS EN LA MADERA

Robinson S.C. (2009) menciona que las manchas en la madera pueden ser fácilmente analizadas usando un software denominado Scion Image.

El manual del software nos dice que Scion Image es un programa de procesamiento de imágenes y análisis para el PC. Se basa en la popular imagen del NIH en la plataforma

Macintosh. Se puede adquirir, visualizar, editar, mejorar, analizar y animar imágenes. Lee y escribe archivos TIFF y BMP.

Así mismo Scion Image para Windows se puede utilizar para medir el área, media, perímetro, etc., definido por el usuario de las regiones de interés. También lleva a cabo análisis automatizado de partículas y proporciona herramientas para la medición de longitudes de trayectoria y ángulos. Los resultados pueden imprimirse, exportar a archivos de texto, o copiar al portapapeles.

Wijekoon C.P. y Goodwin P.H. (2008) utilizan el análisis digital de imágenes con el software Scion Image para cuantificar la infección causada por el hongo *Colletotrichum destructivum* en las hojas de un tabaco silvestre (*Nicotiana benthamiana*).

Por otro lado Robinson S.C. (2009) nos dice que el análisis de color de las superficies de madera manchada requiere de método no subjetivo, repetible, para determinar el porcentaje de pigmentación en la superficie de la madera. Así mismo utiliza Scion Image lo que le permite un procedimiento más rápido, menos subjetivo, y fácilmente repetible que es superior a la simple percepción visual humana.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El ensayo fue realizado en el laboratorio de preservación y secado de la madera de la Facultad de Ciencias Forestales (F.C.F.) de la Universidad Nacional Agraria la Molina.

2. MATERIALES

Para nombrar los materiales utilizados en la tesis se dividió el procedimiento por trabajos realizados, teniendo así el cultivo de los hongos manchadores, la elaboración y aplicación de la solución de esporas, la elaboración del biocontrolador, la elaboración de las cámaras húmedas y el habilitado de las probetas.

2.1. MADERA

La especie maderable utilizada fue *Brosimum alicastrum* (congona, manchinga), la cual fue proporcionada por el laboratorio de preservación y secado de la madera de la Facultad de Ciencias Forestales. Posee una densidad básica 0.68 gr/cm³, es una madera clara, por tal motivo dificulta la distinción de albura y duramen y es muy susceptible al ataque de hongos manchadores de madera.

2.2. CULTIVO DE LOS HONGOS MANCHADORES:

- **Los Hongos:** Los dos hongos manchadores, *L. theobromae* y *C. herbarum*, fueron proporcionados por el laboratorio de preservación y secado de la madera de la F.C.F., mientras que el hongo controlador *T. harzianum* fue adquirido del SENASA, bajo la forma de arroz inoculado.
- Placas Petri estériles.
- Medio de cultivo PDA: el medio de cultivo para los hongos es a base de papa (200 gr.), dextrosa (10 gr.), agar (15 gr.) y 1000 ml de agua destilada.
- Bísturí
- Mechero
- Agua destilada: utilizado como agente antibiótico en la elaboración del medio de cultivo PDA.

- Auto clave: utilizado para esterilizar el medio de cultivo y las probetas de madera.
- Matraz
- Sacabodado
- Incubadora: usado para la crianza de los hongos manchadores y la confrontación del agente controlador versus los hongos manchadores.

2.3. ELABORACIÓN DE LA SOLUCIÓN Y APLICACIÓN DE ESPORAS:

- Baqueta de vidrio
- Agua destilada estéril
- Atomizador
- Gotero

2.4. ELABORACIÓN DEL BIOCONTROLADOR:

- Tamiz vibratorio eléctrico
- Frasco de vidrio para el envasado de las esporas
- Probeta de 1000 ml
- Vaso de precipitado
- Balanza
- Espátula

2.5. ELABORACIÓN DE CÁMARAS HÚMEDAS

- Placas Petri
- Papel toalla
- Agua destilada estéril
- Papel aluminio
- Porta objeto

2.6. HABILITADO DE LAS PROBETAS DE MADERA

- Sierra circular
- Garlopa
- Ingletadora

Para definir a *T. harzianum* como posible controlador se realizaron pruebas previas de confrontación en placas Petri entre *T. harzianum* contra *L. theobromae* (figura 4) y *T. harzianum* contra *C. herbarum* (figura 5), obteniendo respuestas positivas en cuanto a velocidad de desarrollo (competencia por nutrientes) y sobreposición sobre el hongo manchador.

3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Se utilizó como agente biocontrolador a *Trichoderma harzianum* administrado en solución de esporas a 5 concentraciones diferentes y un testigo, empleando como hongos manchadores de la madera a *L. theobromae* y *C. herbarum* de manera aislada y combinada, utilizando 10 repeticiones para cada tratamiento, como se aprecia en el Cuadro N° 1.

Se realizó un diseño completo al azar (DCA), considerando como variable el porcentaje de superficie manchada. Para ello se consideró como Tratamientos a las soluciones controladoras a diferentes concentraciones más un testigo (n° de tratamientos = 6), con una confiabilidad de 95% ($\alpha = 0,05$). Este diseño se aplicó para estudiar por separado el efecto de las soluciones controladoras a diferentes concentraciones en el porcentaje de manchado para dos tipos de hongos y la mezcla de ambos.

Tabla 1: Diseño experimental de la investigación

<i>Agente controlador: Trichoderma harzianum</i>						
<i>Concentración de la solución controladora</i>						
<i>Agente Manchador</i>	<i>0.25%</i>	<i>0.50%</i>	<i>1%</i>	<i>2%</i>	<i>4%</i>	<i>Testigo</i>
<i>A. L. theobromae</i>	10 probetas	10 probetas	10 probetas	10 probetas	10 probetas	10 probetas
<i>B. C. herbarum</i>	10 probetas	10 probetas	10 probetas	10 probetas	10 probetas	10 probetas
<i>A + B (MIX)</i>	10 probetas	10 probetas	10 probetas	10 probetas	10 probetas	10 probetas

Fuente: Elaboración propia.

4. PROCEDIMIENTO:

La figura 1, representa el diagrama de flujo del procedimiento realizado en el desarrollo de la tesis, a fin de tener una mejor comprensión de los pasos realizados.

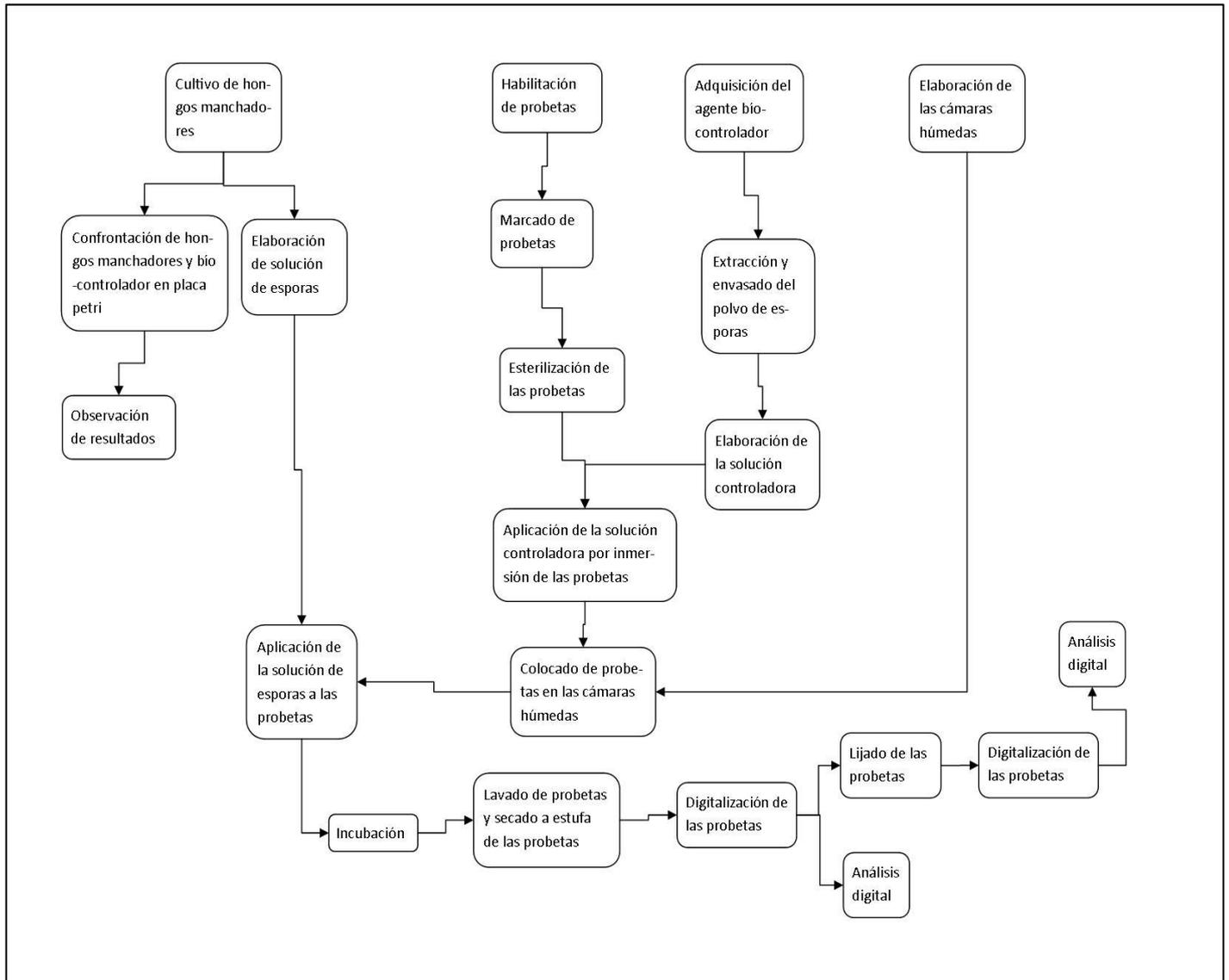


Figura 1 Diagrama de flujo de procedimientos

Fuente: Elaboración propia.

Cultivo de los hongos manchadores: Se cultivó los hongos en un medio conformado por papa, dextrosa y agar (PDA). Las placas se guardaron en una caja de tekpor para mantener las condiciones de temperatura, humedad e iluminación constantes por un período de 10 días, además se midió, en mm, el desarrollo del hongo, tomando como punto central el centro del hongo sembrado y midiendo en sentido horizontal dirección derecha y sentido

vertical dirección superior. Los datos obtenidos fueron trabajados con Pitágoras y promediados para estimar la velocidad de crecimiento en mm/día. En la figura 2 se observa el desarrollo de *L. theobromae* y en la figura 3 se observa el desarrollo de *C. herbarum*.



Figura 2 Desarrollo de *L. theobromae* en PDA.

Fuente: Elaboración propia.



Figura 3 Desarrollo de *C. herbarum* en PDA.

Fuente: Elaboración propia.

Confrontación de los hongos: la confrontación se llevó a cabo en placas petri conteniendo medio de cultivo PDA. Se realizó la siembra de los hongos de prueba contra *Trichoderma harzianum* en extremos opuestos, como se muestra en las figuras 4 y 5. Selladas las placas con cinta de parafilm, fueron llevadas a incubación a $27 \pm 2^\circ\text{C}$. Se midió el incremento diamétrico de los hongos inoculados de manera diaria, por un período de 10 días.

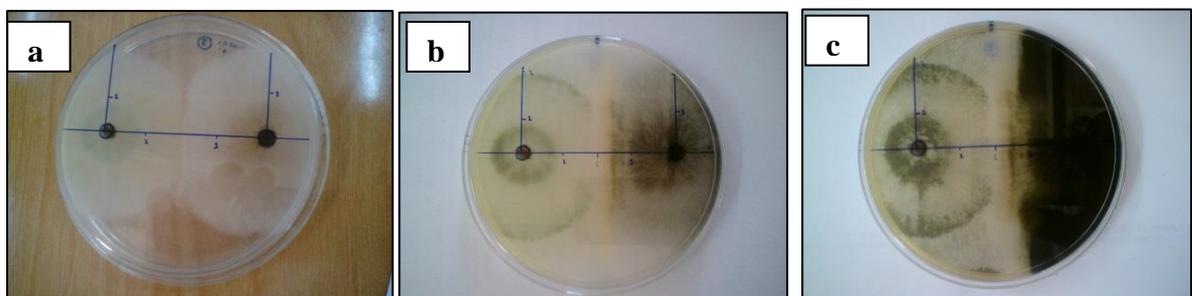


Figura 4 Desarrollo de la confrontación entre *T. harzianum* y *L. theobromae*.

Dónde: a) Desarrollo de los hongos después de 24 h de incubación, b) desarrollo de los hongos después de 48 h, c) desarrollo de los hongos después de 120 h.

Fuente: Elaboración propia.

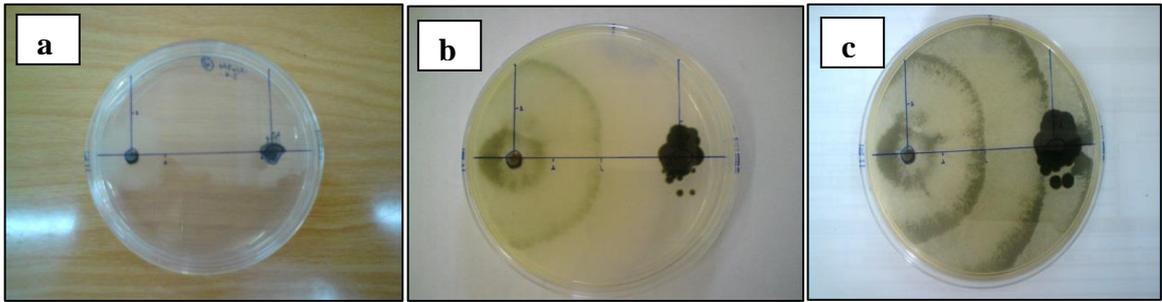


Figura 5 Desarrollo de la confrontación entre *T. harzianum* y *C. herbarum*.

Dónde: a) Desarrollo de los hongos después de 24 h de incubación, b) desarrollo de los hongos después de 48 h, c) desarrollo de los hongos después de 120 h.

Fuente: Elaboración propia.

Unidades formadoras de colonias (UFC): Se realizó un conteo de UFC de los hongos manchadores y el hongo controlador, para lo cual se utilizó la cámara de Neubauer. La cámara de Neubauer se trata de una gruesa placa de cristal con forma de portaobjetos, de unos 30 x 70 mm y unos 4 mm de grosor. En la porción centra de la cámara, que es donde se realiza el conteo, está dividida en 3 partes. En la parte central se encuentra grabada una retícula cuadrangular, como se aprecia en la figura 6.



Figura 6 Cámara de Neubauer

Fuente: Elaboración propia

Preparación de las probetas: Las probetas se prepararon a partir de tablas de madera libres de deterioro biológico visible llevándolas a dimensiones de 7 X 20 X 70 mm de corte tangencial, como se muestra en la figura 7. Posteriormente, las probetas se esterilizaron en estufa a $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta peso constante. Luego, las probetas fueron sumergidas en un recipiente con agua durante 48 h y finalmente se esterilizaron por calor húmedo en autoclave a 121°C durante 10 minutos.

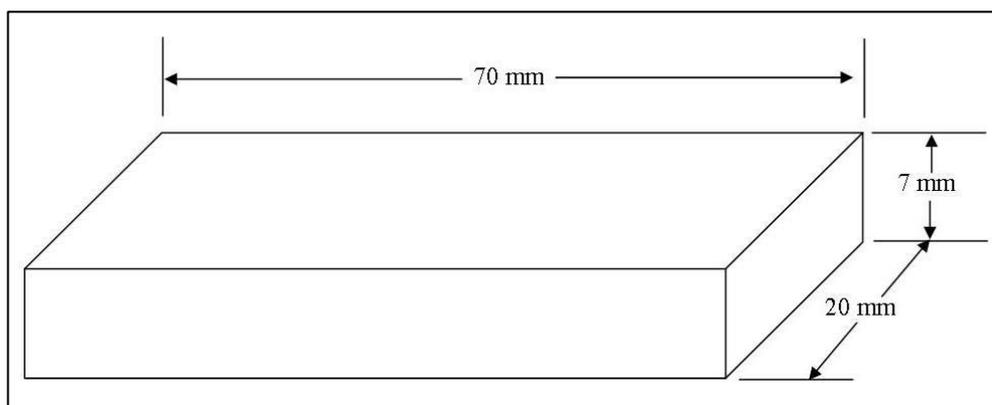


Figura 7 Probeta de 7x20x70 mm.

Fuente: Elaboración propia.

Obtención de esporas de *T. harzianum*: La sepa de *T. harzianum* utilizada fue propagada en granos de arroz con un peso total de 100 gr. Luego, se colocó el arroz con *T. harzianum* en un tamizador eléctrico obteniéndose esporas que fueron envasadas en un frasco de vidrio para su almacenaje.

Elaboración del biocontrolador: se utilizaron un vasos de precipitación de 600 ml donde se preparó las soluciones al 4%, 2%, 1%, 0,5% y 0,25% de concentración de polvo de esporas en agua destilada, figura 8.

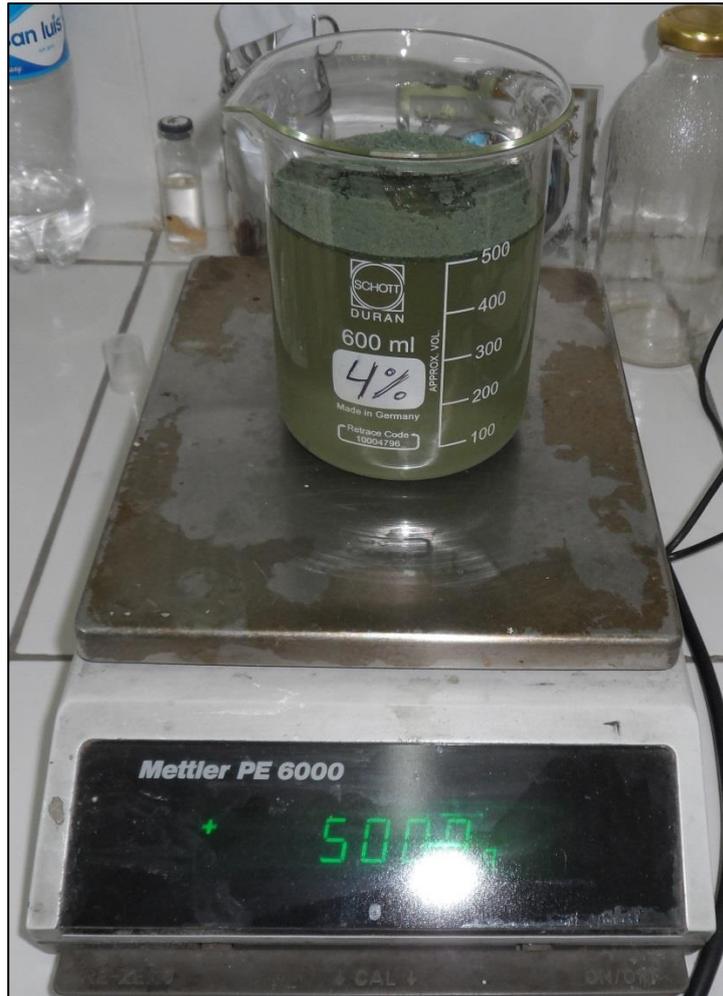


Figura 8 Solución biocontroladora al 4%

Fuente: Elaboración propia.

Aplicación del biocontrolador: Las probetas fueron colocadas dentro de un vaso de precipitado de 600 ml, de acuerdo a la distribución mostrada en la Norma ASTM D 4445-03, que se presenta en la figura 9, luego se vertió la solución controladora y se mantuvieron en inmersión durante 15 segundos, como se ve en la figura 10, en seguida se retiró la solución y se almacenaron las probetas por 24 horas, cubriendo la boca del vaso con plástico para evitar la deshidratación de las probetas, como se presenta en la figura 11.

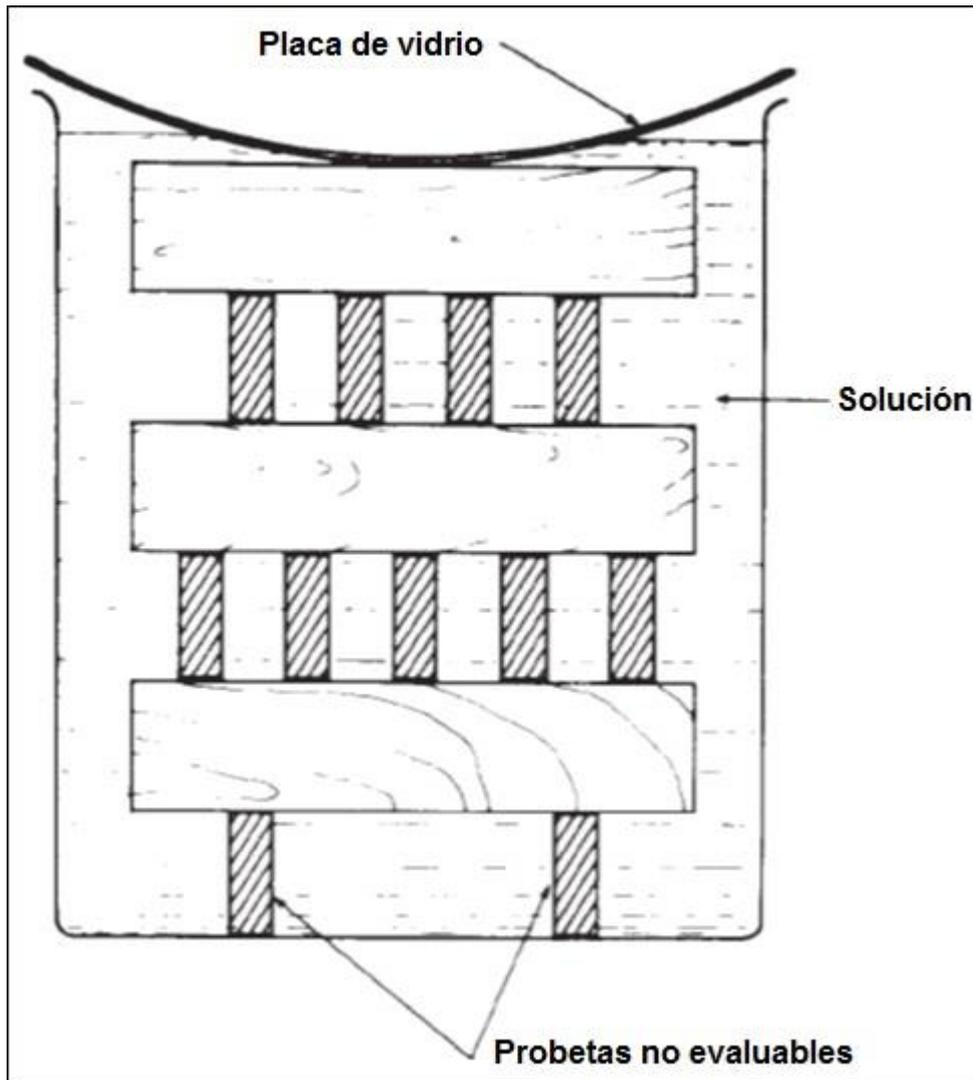


Figura 9 Distribución de las probetas para aplicación del tratamiento en un vaso de precipitado de 600 ml.

Fuente: Norma Técnica ASTM D 4445 – 03.



Figura 10 Aplicación del biocontralador

Fuente: Elaboración propia.



Figura 11 Probetas inoculadas con el biocontrolador, bajo almacenamiento.

Fuente: Elaboración propia.

Preparación de la cámara húmeda: Se cortó el papel toalla de tal manera que entre en la placa Petri, se colocó 4 hojas por placa y se humedecieron totalmente, luego se colocó pequeños rollos de papel aluminio previamente esterilizado para evitar el contacto directo de las probetas con el papel toalla. La figura 12 muestra la distribución de las probetas dentro de la placa Petri y la figura 13 presenta las cámaras húmedas listas para su uso.

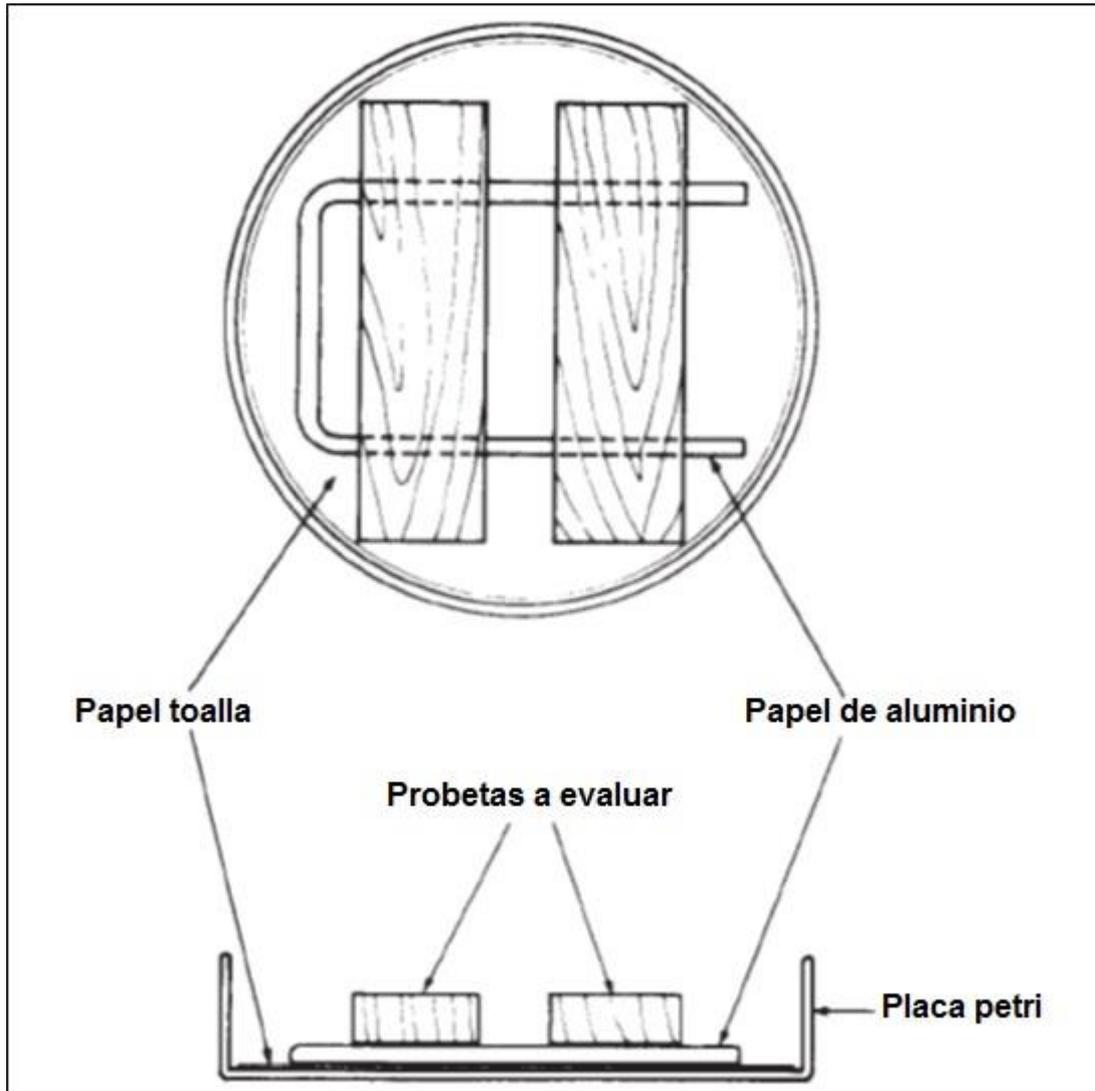


Figura 12 Distribución de las probetas tratadas dentro de la placa Petri antes de la incubación.

Fuente: Norma Técnica ASTM D 4445 – 03.



Figura 13 Cámara húmeda (placa Petri, papel toalla y rollo de aluminio)

Fuente: Elaboración propia.

Aplicación del hongo manchador: luego de 24 horas de haber aplicado la solución controladora, se aplicó 0,25 ml de suspensión de esporas (figura 14) del hongo manchador a cada probeta con una pipeta graduada sobre la superficie de las probetas tratadas con el agente biocontrolador, de acuerdo a lo establecido en la Norma ASTM D 4445-03. Además se complementó mediante 3 aplicaciones de la suspensión de esporas por aspersión.

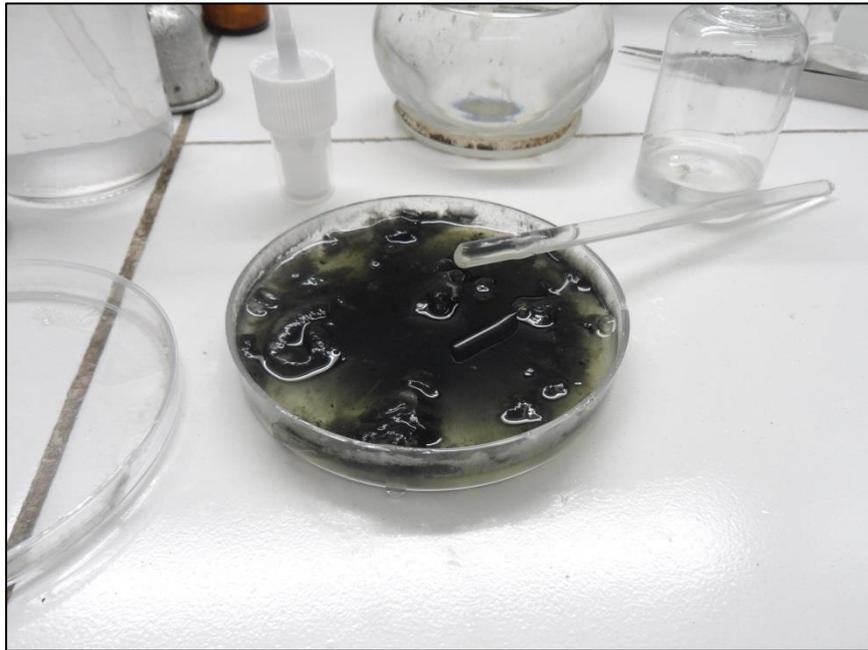


Figura 14 Solución de esporas en placa Petri.

Fuente: Elaboración propia.

Incubación de las muestras: las placas fueron colocadas en bolsas de polietileno para evitar su deshidratación, luego se colocaron dentro de una incubadora a una temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Evaluación de resultados: se evaluaron a 4 semanas después de inoculadas las muestras, de acuerdo con lo establecido en la Norma ASTM D 4445-03. Para la evaluación las probetas se lavaron con agua destilada y luego de secarlas a estufa por un lapso de 24 horas, se procedió a escanear las probetas para analizarlas con el programa informático Scion Image, con el cual se determinó el porcentaje de área manchada mediante análisis de color. Finalmente se procedió a lijar las probetas disminuyendo su espesor en 2 mm para evaluarlas nuevamente con el programa Scion Image y determinar el área afectada por el hongo manchador.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. CULTIVO DE HONGOS

Se hizo cinco repeticiones por hongo, observando que todas las placas Petri con cultivo de *L. theobromae* (figura 15) y *T. harzianum* (figura 16) consiguieron ocupar toda la placa en tres días, mientras que *C. herbarum* (fiura 17) tardó más de los 10 días de evaluación.

La velocidad de crecimiento en placa Petri obtenida por cada hongo fue de:

- *Trichoderma harzianum*: 18.38 mm/día.
- *Lasioidiplodia theobromae*: 18.71 mm/día.
- *Cladosporium herbarum*: 2.83 mm/día.

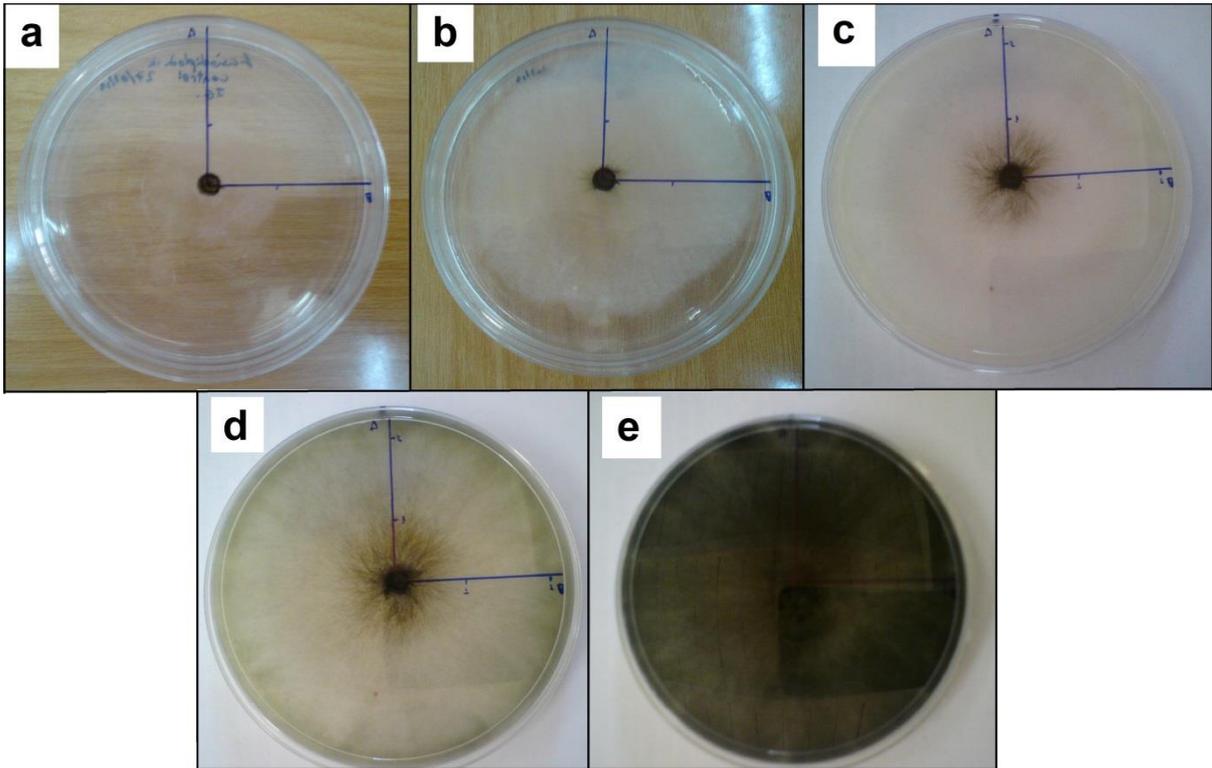


Figura 15 Cultivo de *Lasiodiplodia theobromae*.

Donde: a) Día 1 de evaluación. b) Día 2 de evaluación. c) Día 3 de evaluación. d) Día 4 de evaluación. e) Día 7 de evaluación.

Fuente: Elaboración propia.

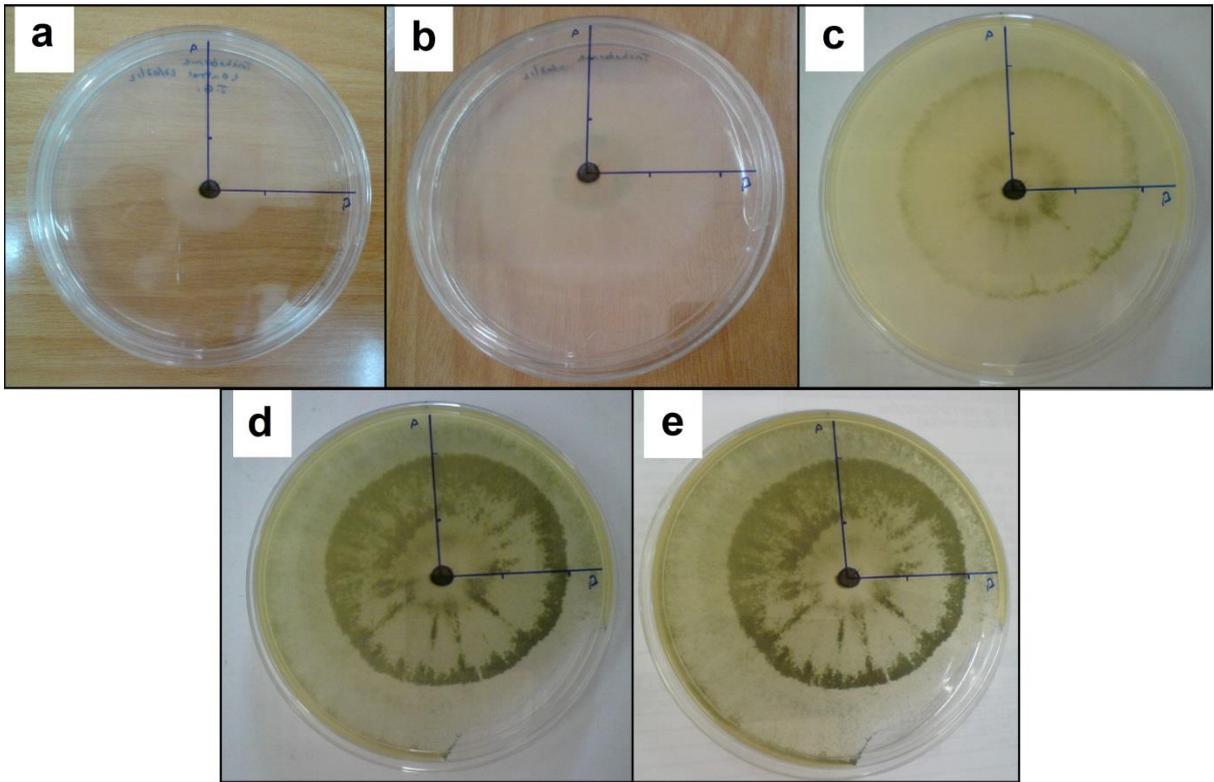


Figura 16 Cultivo de *Trichoderma harzianum*.

Donde: a) Día 1 de evaluación. b) Día 2 de evaluación. c) Día 3 de evaluación. d) Día 8 de evaluación. e) Día 9 de evaluación.

Fuente: Elaboración propia.

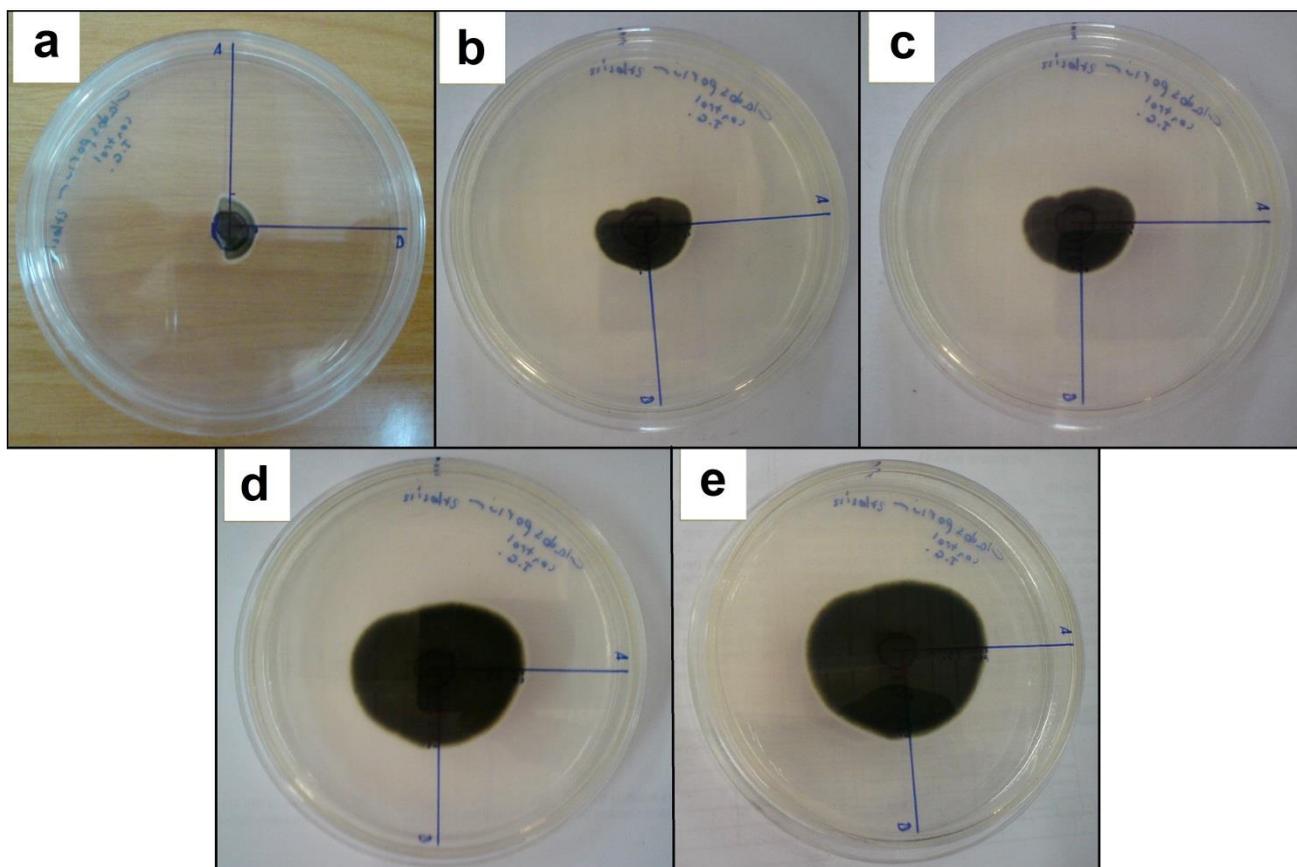


Figura 17 Cultivo de *Cladosporium herbarum*

Donde: a) Día 1 de evaluación. b) Día 4 de evaluación. c) Día 5 de evaluación. d) Día 9 de evaluación. e) Día 10 de evaluación.

Fuente: Elaboración propia.

2. CONFRONTACIÓN DE HONGO CONTROLADOR CON HONGOS MANCHADORES

Se realizó 5 repeticiones por cada confrontación, dando como resultado que *T. harzianum* y *L. theobromae* tuvieron similar velocidad de colonización de la placa Petri, como se aprecia en la figura 18, mientras que al evaluar *T. harzianum* con *C. herbarum* se aprecia que la velocidad de colonización del hongo controlador es superior al hongo manchador, evitando así su desarrollo en la placa Petri como se observa en la figura 19.

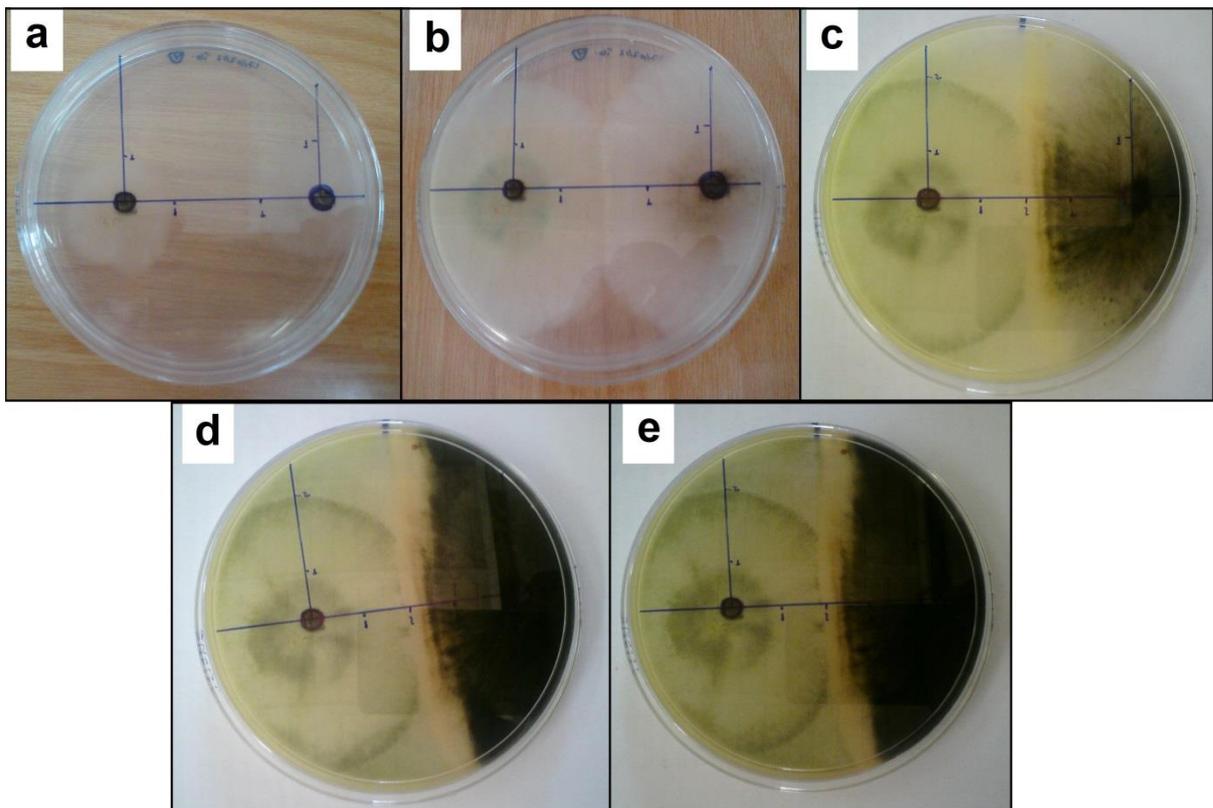


Figura 18 Confrontación de *T. harzianum* con *L. theobromae*.

Donde a) Día 1 de evaluación. b) Día 2 de evaluación. c) Día 3 de evaluación. d) Día 4 de evaluación. e) Día 5 de evaluación.

Fuente: Elaboración propia.

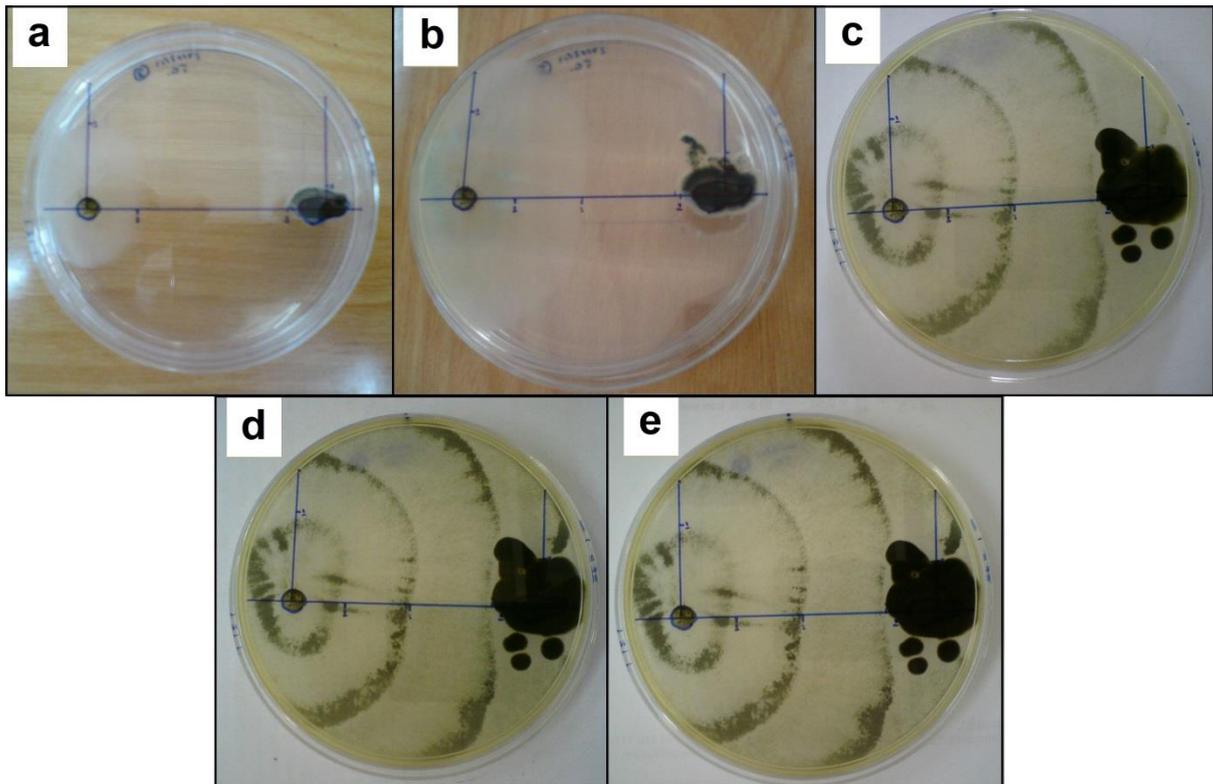


Figura 19 Confrontación de *T. harzianum* con *C. herbarum*.

Donde a) Día 1 de evaluación. b) Día 2 de evaluación. c) Día 5 de evaluación. d) Día 7 de evaluación. e) Día 9 de evaluación.

Fuente: Elaboración propia.

3. CONTEO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS

Utilizando la cámara de Neubauer, se realizó el conteo de UFC para cada tipo de hongo, como recomienda Bastidas, O., para esto se realizaron 5 repeticiones por muestra, obteniendo un promedio de 1.5×10^7 UFC/ml para *T. harzianum*, 1.09×10^7 UFC/ml para *L. theobromae* y 1.02×10^7 UFC/ml para *C. herbarum*.

4. ÁREA MANCHADA

Se evaluaron 180 probetas, distribuidas en tres grupos de 60 probetas, de acuerdo con el tipo de hongo de prueba, *L. theobromae*, *C. herbarum* y una mezcla de ambos hongos denominada Mix.

Utilizando el programa Scion image se midió el área manchada en comparación a un color negro verdadero en la superficie de las probetas, del resultado obtenido se calculó el porcentaje de área manchada, como se muestra en el cuadro 2.

Tabla 2: Promedio porcentual del análisis de manchado por concentración y tipo de hongo, antes de lijar.

CONCENTRACIÓN	<i>C. herbarum</i> (% de manchado)	<i>L. Theobromae</i> (% de manchado)	<i>MIX</i> (% de manchado)
0,25%	21%	13%	20%
0,50%	17%	11%	24%
1,00%	14%	11%	16%
2,00%	12%	13%	25%
4,00%	18%	10%	17%
TESTIGO BLANCO	16%	31%	19%

Fuente: Elaboración propia.

La figura 20 muestra el promedio porcentual de manchado por concentración y tipo de hongo, en la acción controladora de *T. harzianum* frente a *L. theobromae* se puede apreciar una clara diferencia entre el porcentaje de área manchada de los tratamientos y el testigo, a diferencia de la acción ejercida frente a *C. herbarum* y el Mix.

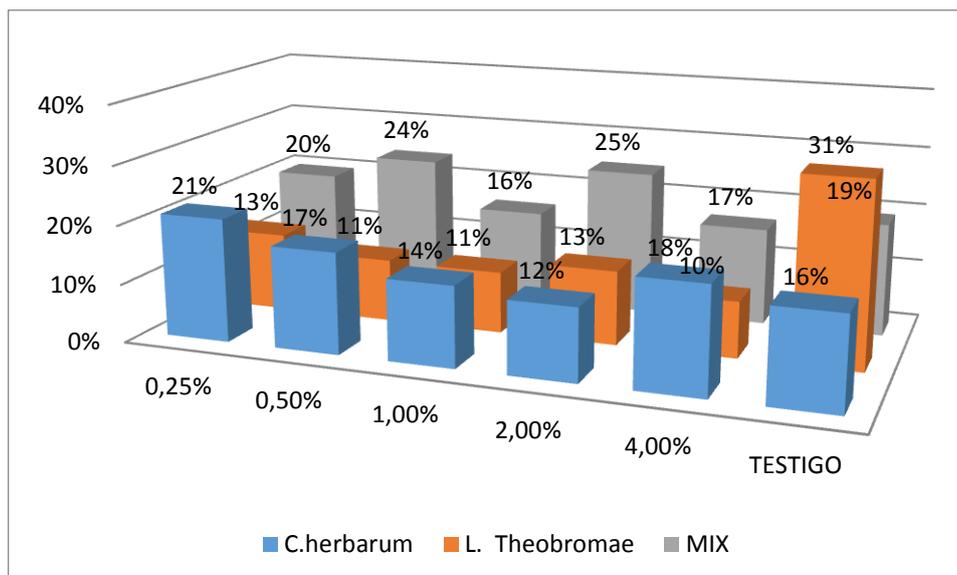


Figura 20 Promedio porcentual del análisis de manchado por concentración y tipo de hongo, antes de lijar.

Fuente: Elaboración propia.

El cuadro 3 presenta los resultados de los promedios porcentuales de manchado obtenidos después de la evaluación para las diversas concentraciones del biocontrolador y los diferentes tipos de hongos a evaluar.

Tabla 3: Promedio porcentual del análisis de manchado por concentración y tipo de hongo, después de lijar.

CONCENTRACION	C. herbarum (% de manchado)	L. Theobromae (% de manchado)	MIX (% de manchado)
0,25%	63%	66%	70%
0,50%	62%	67%	69%
1,00%	59%	60%	68%
2,00%	66%	60%	71%
4,00%	64%	62%	65%
TESTIGO	62%	67%	67%

Fuente: Elaboración propia.

En la figura 21 se puede apreciar que el *T. harzianum* no ejerce ningún tipo de control sobre los hongos manchadores en el interior de la madera, así como ninguna diferencia entre en la concentración y el testigo.

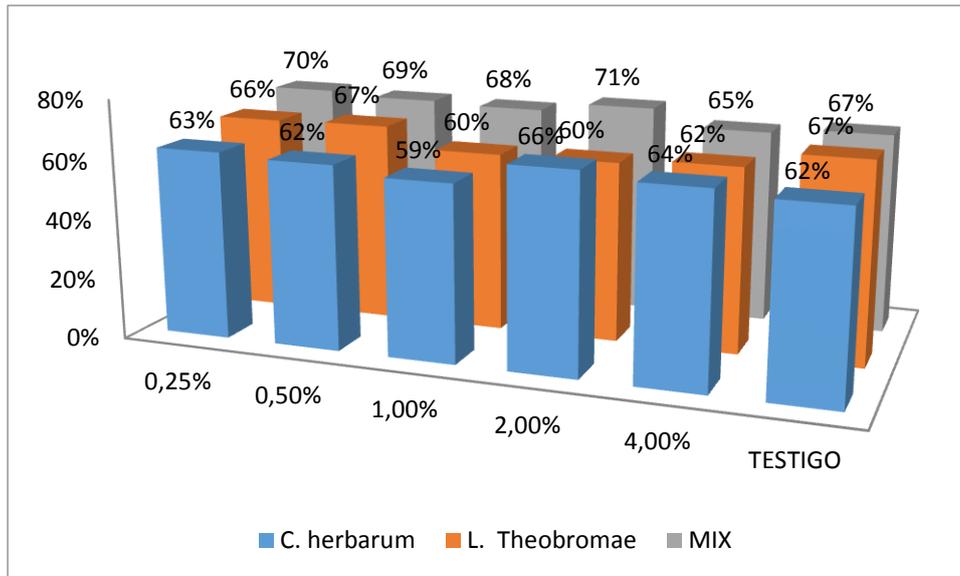


Figura 21 Promedio porcentual del análisis de manchado por concentración y tipo de hongo, después de lijar.

Fuente: Elaboración propia.

Las figuras 22, 23 y 24, muestran el porcentaje de manchado por cada tipo de hongo antes y después de lijar. Se puede apreciar que el *T. harzianum* ejerce un control superficial en las probetas evaluadas.

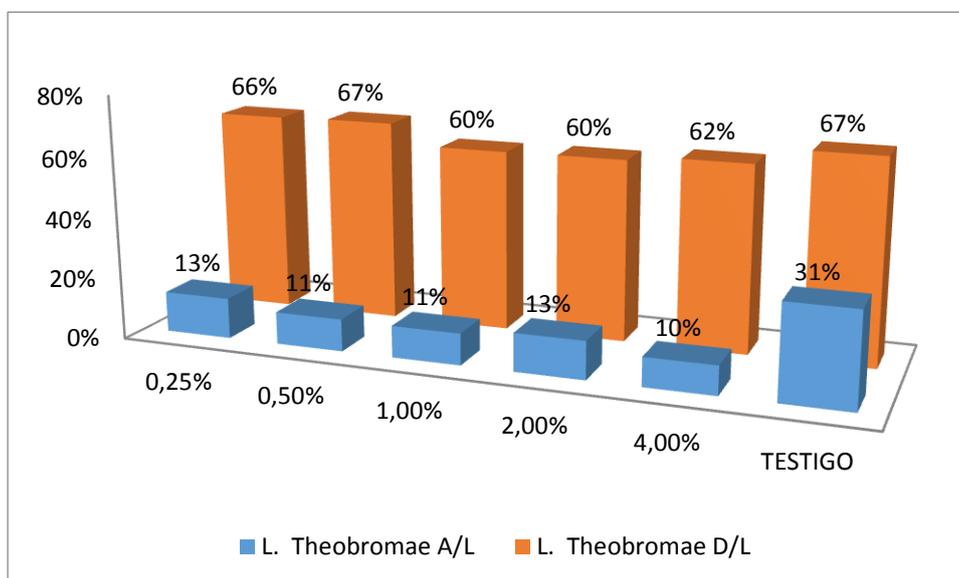


Figura 22 Comparación de los porcentajes de manchado de *L. theobromae* antes y después de lijar.

Fuente: Elaboración propia.

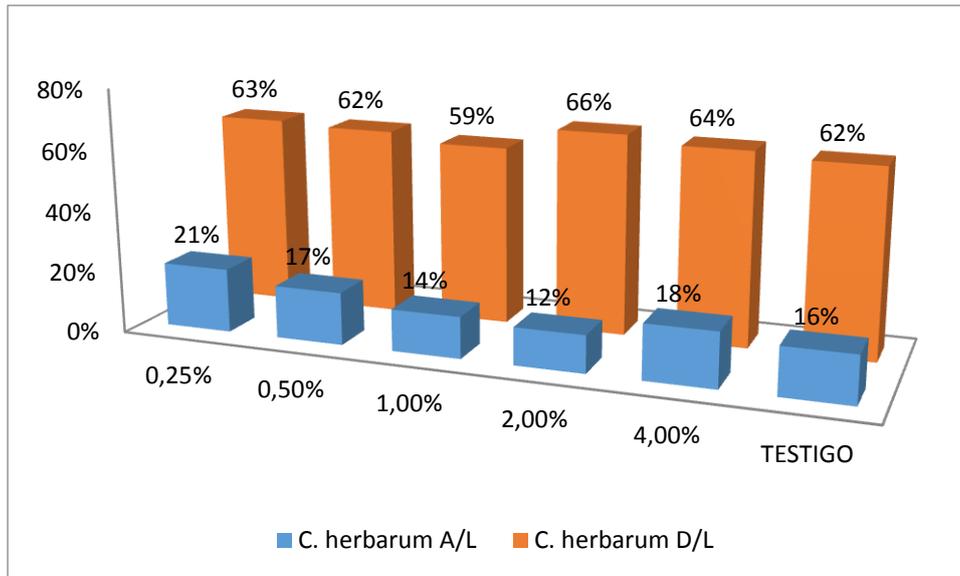


Figura 23 Comparación de los porcentajes de manchado de *C. herbarum* antes y después de lijar.

Fuente: Elaboración propia.

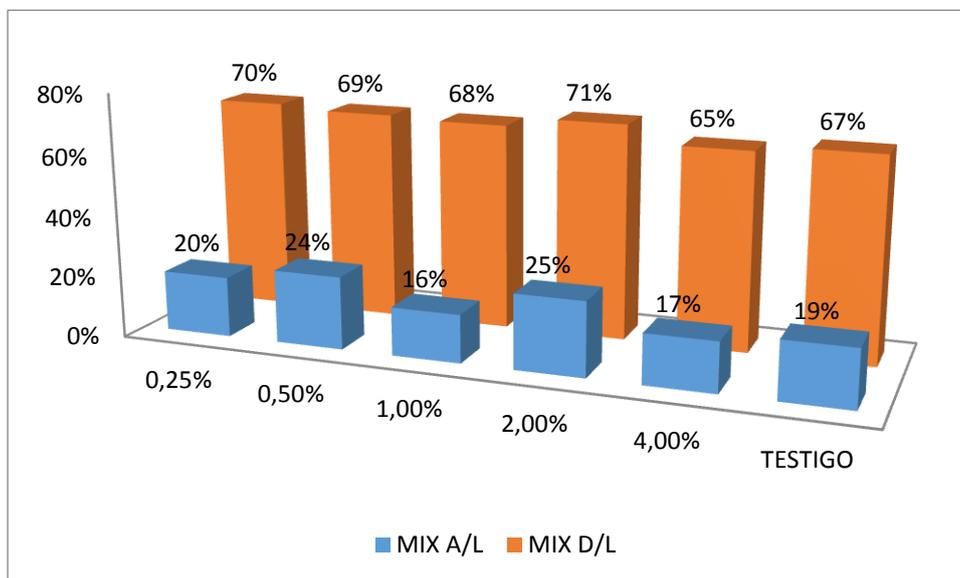


Figura 24 Comparación de los porcentajes de manchado del Mix antes y después de lijar.

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados obtenidos fueron analizados con el programa estadístico Minitab, realizando un Análisis de Varianza (ANVA) comparando el área manchada con el hongo y su

concentración. Luego se procedió a realizar la prueba de Tukey para saber si hay diferencias significativas entre los tipos de hongos manchadores evaluados y sus concentraciones, y por último la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett para determinar diferencias significativas entre las concentraciones y el testigo, es así que se tiene:

Tabla 4: Análisis de varianza para: Porcentaje de área manchada sin lijar.

<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MC</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	$\alpha = 0,05$
HONGO	2	883,85	441,93	57,30	0,000	*
CONCENTRACION	5	1348,29	269,66	34,96	0,000	*
HONGO*CONCENTRACION	10	3182,75	318,28	41,27	0,000	*
Error	162	1249,48	7,71			
Total	179	6664,37				

Fuente: Elaboración propia.

S = 2.777 R-cuad. = 81,25% R-cuad.(ajustado) = 79,28%

Del ANVA se concluye que existe suficiente evidencia estadística para afirmar que los resultados de los tratamientos con los hongos manchadores a concentraciones distintas difieren significativamente entre sí. Asimismo, existe suficiente evidencia estadística para afirmar que existe interacción entre los tipos de hongos y concentraciones.

Tabla 5: Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

<i>HONGO</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>	
MIX	60	20,029	A	
C. herbarum	60	16,452		B
L. theobromae	60	14,705		B

Fuente: Elaboración propia.

Aplicando Tukey se aprecia que existe suficiente evidencia estadística para decir que los resultados entre *L.theobromae* y *C. herbarum* son significativamente diferentes a la mezcla de ambos hongos (Mix).

Tabla 6: Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

<i>CONCENTRACION</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>	
TESTIGO (Control)	30	22,111	A	
0,25%	30	18,070		
0,50%	30	17,328		
1,00%	30	13,441		
2,00%	30	16,607		
4,00%	30	14,816		

Fuente: Elaboración propia

Los resultados obtenidos de la prueba de Dunnett, el cual compara las medias de las diferentes concentraciones con la media testigo, se observa que existe suficiente evidencia estadística para afirmar que las concentraciones son significativamente diferentes al testigo.

Tabla 7: Estadísticas Descriptivas: Media, error estándar de la media, desviación estándar y Coeficiente de variación para *L. theobromae*.

<i>Variable</i>	<i>Concentración</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Error estandar de la media</i>	<i>Desv.Est.</i>	<i>CoefVar</i>
% de manchado antes de lijar - <i>L. theobromae</i>	Testigo	10	31,271	0,936	2,959	9,46
	0,25%	10	13,381	0,727	2,298	17,17
	0,50%	10	10,705	0,922	2,914	27,23
	1,00%	10	10,511	0,285	0,9	8,57
	2,00%	10	12,698	0,956	3,024	23,81
	4,00%	10	9,67	1,07	3,39	35,04

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 8: Estadísticas Descriptivas: Media, error estándar de la media, desviación estándar y Coeficiente de variación para *C. herbarum*.

<i>Variable</i>	<i>Concentración</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Error estandar de la media</i>	<i>Desv.Est.</i>	<i>CoefVar</i>
% de manchado antes de lijar - <i>C. herbarum</i>	Testigo	10	15,848	0,761	2,406	15,18
	0,25%	10	21,025	0,855	2,704	12,86
	0,50%	10	17,308	0,96	3,037	17,55
	1,00%	10	13,837	0,965	3,051	22,05
	2,00%	10	12,472	0,917	2,901	23,26
	4,00%	10	18,223	0,642	2,029	11,13

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 9: Estadísticas Descriptivas: Media, error estándar de la media, desviación estándar y Coeficiente de variación para el Mix.

<i>Variable</i>	<i>Concentración</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Error estandar de la media</i>	<i>Desv. Est.</i>	<i>CoefVar</i>
% de manchado antes de lijar - MIX	Testigo	10	19,21	1,1	3,47	18,07
	0,25%	10	19,8	1,22	3,85	19,46
	0,50%	10	23,97	0,953	3,013	12,57
	1,00%	10	15,976	0,592	1,872	11,72
	2,00%	10	24,652	0,49	1,548	6,28
	4,00%	10	16,559	0,939	2,969	17,93

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 10: Análisis de varianza para: Porcentaje de área manchada después de lijar.

<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MC</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	$\alpha = 0,05$
HONGO	2	1154,69	577,344	27,43	0,000	
CONCENTRACION	5	384,38	76,877	3,65	0,004	
HONGO*CONCENTRACION	10	706,73	70,673	3,36	0,001	
Error	162	3409,71	21,048			
Total	179	5655,51				

Fuente: Elaboración propia

S = 4,588 R-cuad. = 39,71% R-cuad.(ajustado) = 33,38% R-cuad. (ajustado) = 33,38%

Del ANVA realizado a los resultados de las muestras lijadas se observa que existe suficiente evidencia estadística para aceptar que los Hongos y las concentraciones difieren significativamente con un nivel de significación del 5%, esto se puede comprobar con los resultados obtenidos por las pruebas de Tukey (cuadro11) y Dunnet (cuadro 12).

Tabla 11: Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

<i>HONGO</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>	
MIX	60	68,350	A	
<i>C. herbarum</i>	60	62,542		B
<i>L. theobromae</i>	60	63,558		B

Fuente: Elaboración propia.

Aplicando Tukey se aprecia que existe suficiente evidencia estadística para decir que los resultados entre *L.theobromae* y *C. herbarum* son significativamente diferentes a la mezcla de ambos hongos (Mix).

Tabla 12: Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

<i>CONCENTRACION</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>	
TESTIGO (Control)	30	65,391	A	
0,25%	30	66,313	A	
0,50%	30	65,698	A	
1,00%	30	65,633	A	
2,00%	30	63,585	A	
4,00%	30	62,178	A	

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados obtenidos de la prueba de Dunnett, el cual compara las medias de las diferentes concentraciones con la media testigo, se observa que existe suficiente evidencia estadística para afirmar que las concentraciones no son significativamente diferentes al testigo.

Tabla 13: Estadísticas Descriptivas: Media, error estándar de la media, desviación estándar y Coeficiente de variación para *L. theobromae*.

<i>Variable</i>	<i>Concentración</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Error estándar de la media</i>	<i>Desv.Est.</i>	<i>CoefVar</i>
% de manchado después de lijar - <i>L. theobromae</i>	Testigo	10	67,06	1,09	3,44	5,13
	0,25%	10	66,093	0,946	2,991	4,53
	0,50%	10	66,575	0,596	1,884	2,83
	1,00%	10	59,82	1,54	4,88	8,16
	2,00%	10	60,06	1,35	4,22	7,03
	4,00%	10	61,74	1,54	4,86	7,88

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 14: Estadísticas Descriptivas: Media, error estándar de la media, desviación estándar y Coeficiente de variación para *C. herbarum*.

<i>Variable</i>	<i>Concentración</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Error estándar de la media</i>	<i>Desv.Est.</i>	<i>CoefVar</i>
% de manchado después de lijar - <i>L. theobromae</i>	Testigo	10	62,06	1,86	5,9	9,5
	0,25%	10	62,75	1,39	4,39	7
	0,50%	10	61,61	1,54	4,87	7,91
	1,00%	10	58,87	2,17	6,85	11,64
	2,00%	10	66,167	0,945	2,989	4,52
	4,00%	10	63,8	1,19	3,77	5,9

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 15: Estadísticas Descriptivas: Media, error estándar de la media, desviación estándar y Coeficiente de variación para el Mix.

<i>Variable</i>	<i>Concentración</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Error estándar de la media</i>	<i>Desv.Est.</i>	<i>CoefVar</i>
% de manchado después de lijar - <i>L. theobromae</i>	Testigo	10	67,05	1,64	5,18	7,73
	0,25%	10	70,1	1,48	4,7	6,7
	0,50%	10	68,71	1,57	4,97	7,23
	1,00%	10	67,84	1,7	5,39	7,9
	2,00%	10	70,87	1,29	4,07	5,74
	4,00%	10	65,22	1,33	4,22	6,47

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con Barbosa et al (2001) se coincide que la velocidad de crecimiento de *T. harzianum* es mayor que la de *C. herbarum*, llegando, en este caso, a tener un desarrollo

aproximadamente 6 veces mayor, lo cual favorece a la hora de realizar el control biológico, ya que *T. harzianum* puede abarcar mayor espacio que *C. herbarum* y así evitar su desarrollo.

Observando los resultados de la confrontación se puede concordar con los resultados obtenidos por Yitzhak Spiegel (1998), Orietta Fernández (2001) y M. Verma et al (2007), quienes mencionan que uno de los tipos de control por parte de *T. harzianum* es la competencia de espacio y nutrientes, para este caso en particular a una observación simple se ve que existe una competencia por espacio dentro de la placa Petri.

Los resultados estadísticos de porcentaje de manchado antes de lijar demuestran que *T. harzianum* está ejerciendo algún tipo de control sobre los hongos manchadores sin embargo después de realizar el análisis de las muestras después de lijarlas, se aprecia que el porcentaje de manchado de las probetas es mucho mayor, esto se da debido a que el *T. harzianum* al ser un hongo superficial no ejerce ningún tipo de control dentro de la madera, lo cual favorece el desarrollo de los hongos manchadores.

V. CONCLUSIONES

- 1) *T. harzianum* muestra buena respuesta como controlador frente a *L. theobromae* a nivel superficial.
- 2) A nivel de profundidad, es decir después de lijado, se concluye que *T. harzianum* no ejerce ningún tipo de biocontrol frente a *L. theobromae*, *C. herbarum* y el Mix.
- 3) De acuerdo a los resultados observados se puede afirmar que el *T. harzianum* limita el desarrollo superficial de *C. herbarum* ya que posee mayor velocidad de crecimiento.
- 4) Comparando los resultados obtenidos de la acción del biocontrolador con las diferentes concentraciones no se encuentra diferencias significativas.
- 5) En cuanto a la acción manchadora de los hongos sobre la madera de *B. alicastrum*, *C. herbarum* tiene menor efecto manchador que *L. theobromae*, sin embargo la mezcla de ambos hongos (Mix) produce el mayor porcentaje de manchado.
- 6) En el desarrollo de los hongos en placa Petri, *L. theobromae* tiene mayor velocidad de crecimiento que *C. herbarum* y *T. harzianum* similar velocidad de crecimiento que *L. theobromae*.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar futuras investigaciones en biocontrol con especies de hongos que logren penetrar en la madera, a diferencia de *T. harzianum* que es un mohó, para esto se debería utilizar hongos albinos del género *Ophiostoma*.
- El tiempo de inmersión de las probetas en el biocontrolador puede ser un factor favorable en la acción que ejerce el biocontrolador frente a los hongos manchadores, por este motivo debería probarse en futuras investigación el biocontrolador a diferentes tiempos de inmersión de las probetas de madera.
- Además se deberían realizar pruebas a diferentes períodos de incubación del hongo controlador, si bien en este trabajo se realizó una incubación de 24 horas una vez realizada la inmersión de las muestras en la solución controladora, es posible que a un mayor tiempo de incubación se obtenga una respuesta más favorable a la obtenida en este trabajo.
- Se debe controlar la cantidad de solución manchadora que se aplica sobre las muestras debido a que podría generar un posible lavado de la solución controladora.
- Realizar pruebas en campo de biocontrol de *T. harzianum*.
- Realizar las pruebas químicas correspondientes para *T. harzianum* para saber si ejerce control por antibiosis y una evaluación a nivel microscópico de las hifas para conocer si ataca por parasitismo a los hongos patógenos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barbosa, MA. Rehn, K. Menezes, M. Marriano, R. 2001 Antagonism of Trichoderma Species on *Cladosporium Herbarum* and their Enzimatic Characterization. Brazilian Journal of Microbiology 32: 98-104. BR. (en línea). Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822001000200005&script=sci_arttext
- Bastidas, O. Technical note – Neubauer chamber cell counting. s.e. (en línea). Consultado el 10 de febrero de 2015. Disponible en: <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf>
- Baxter, D. 1943 Pathology in Forest Practice. Wiley, New York. US. 618p.
- Boyce, J.S. 1961. *Forest Pathology*, 3rd edition. McGraw-Hill. New York, New York. US. 572p.
- Confederación Peruana de la Madera. 2008 Compendio de información técnica de 32 especies forestales, Tomo I. 2º Edición. Lima, PE. (en línea). Disponible en: <http://www.infobosques.com/descargas/biblioteca/125.pdf>
- Golam Mortuza, M. y Ilang, L. 1999 Potencial for Biocontrol of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. in Banana Fruits by Trichoderma Species. Biological Control 15(3): 235-240.
- Guédez, C. y otros. 2008 Control Biológico: una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. Academia, Trujillo, VE. 7(13): 50-74. (en línea). Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/29752/1/articulo5.pdf>.
- Irney, D. Alarcón, A. 2006 Evaluación de técnicas de conservación para hongos filamentosos y levaduriformes en el cepario de la Pontificia Universidad Javeriana. Tesis Microbióloga Industrial Bogotá D. C., CO. Pontificia Universidad Javeriana. s.p. (en línea). Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis260.pdf>.

- Murray, P. 2006 Microbiología Médica. Editor Elsevier. ES. 976 p.
- Nicholls Estrada, C. 2008 Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Ciencia y Tecnología, Editorial Universidad de Antioquía. Medellín, CO. 282p. (en línea). Disponible en: <https://www.socla.co/wp-content/uploads/2014/ClaraNicholls.pdf>
- Norma ASTM D 4445-03 Standard Test Method for Fungicides for Controlling Sapstain and Mold on Unseasoned Lumber (Laboratory Method). ASTM International. US.
- Norstog, K. y Meyerriecks, A. 1983 Biology. US. s.e.
- Papavizas G. C., Lewis J. A. and Abd-El Moity T. H. (1982) Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology* 72: 126-132.
- Robinson S. C. 2009 A. Method for Digital Color Analysis of Spalted Wood Using Scion Image Software. 2. (en línea). Disponible en <http://www.mdpi.com/1996-1944/2/1/62/htm>.
- Schmidt, O. 2006 Wood and tree fungi: Biology, damage, protection, and use. Berlín, DE. 334p.
- Verma, M. Brar, S. Tyagi, RD. Surampalli, R. Valero, JR. 2007 Antagonistics fungi, *Trichoderma spp.*: Panoply of biological control. *Biomechanical Engineering Journal* 37: 1-20.
- Yitzhak Spiegel, I. Chet. 1998 Evaluation of *Trichoderma spp.* as a biocotrol agent against soilborne fungi and plant-parasitic nematodes in Israel. *Integrated Pest Management Reviews* 3: 169-175.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1

RESULTADOS PORCENTUAL DEL ÁREA MANCHADA

Tabla 16: Antes de lijar:

Muestra N°	HONGO	CONCENTRACION	PORCENTAJE DE MANCHADO
1	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	30,59
2	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	34,08
3	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	35,90
4	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	29,21
5	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	28,86
6	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	28,36
7	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	28,40
8	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	29,78
9	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	35,71
10	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	31,82
11	<i>L. theobromae</i>	0,25%	11,40
12	<i>L. theobromae</i>	0,25%	15,46
13	<i>L. theobromae</i>	0,25%	14,06
14	<i>L. theobromae</i>	0,25%	15,47
15	<i>L. theobromae</i>	0,25%	15,42
16	<i>L. theobromae</i>	0,25%	14,81
17	<i>L. theobromae</i>	0,25%	14,77
18	<i>L. theobromae</i>	0,25%	9,60
19	<i>L. theobromae</i>	0,25%	12,87
20	<i>L. theobromae</i>	0,25%	9,95
21	<i>L. theobromae</i>	0,50%	9,29
22	<i>L. theobromae</i>	0,50%	8,25
23	<i>L. theobromae</i>	0,50%	8,94
24	<i>L. theobromae</i>	0,50%	10,34
25	<i>L. theobromae</i>	0,50%	13,38
26	<i>L. theobromae</i>	0,50%	14,14
27	<i>L. theobromae</i>	0,50%	7,07
28	<i>L. theobromae</i>	0,50%	7,57
29	<i>L. theobromae</i>	0,50%	13,33
30	<i>L. theobromae</i>	0,50%	14,74

Continuación

Muestra N°	HONGO	CONCENTRACION	PORCENTAJE DE MANCHADO
31	<i>L. theobromae</i>	1,00%	9,90
32	<i>L. theobromae</i>	1,00%	10,86
33	<i>L. theobromae</i>	1,00%	10,89
34	<i>L. theobromae</i>	1,00%	12,43
35	<i>L. theobromae</i>	1,00%	9,90
36	<i>L. theobromae</i>	1,00%	9,19
37	<i>L. theobromae</i>	1,00%	10,88
38	<i>L. theobromae</i>	1,00%	10,99
39	<i>L. theobromae</i>	1,00%	9,90
40	<i>L. theobromae</i>	1,00%	10,17
41	<i>L. theobromae</i>	2,00%	16,49
42	<i>L. theobromae</i>	2,00%	15,54
43	<i>L. theobromae</i>	2,00%	8,29
44	<i>L. theobromae</i>	2,00%	9,78
45	<i>L. theobromae</i>	2,00%	16,85
46	<i>L. theobromae</i>	2,00%	10,27
47	<i>L. theobromae</i>	2,00%	10,87
48	<i>L. theobromae</i>	2,00%	14,77
49	<i>L. theobromae</i>	2,00%	11,67
50	<i>L. theobromae</i>	2,00%	12,45
51	<i>L. theobromae</i>	4,00%	8,06
52	<i>L. theobromae</i>	4,00%	14,12
53	<i>L. theobromae</i>	4,00%	14,34
54	<i>L. theobromae</i>	4,00%	9,09
55	<i>L. theobromae</i>	4,00%	6,19
56	<i>L. theobromae</i>	4,00%	8,72
57	<i>L. theobromae</i>	4,00%	14,78
58	<i>L. theobromae</i>	4,00%	7,14
59	<i>L. theobromae</i>	4,00%	7,33
60	<i>L. theobromae</i>	4,00%	6,89
61	<i>C. herbarum</i>	TESTIGO	10,26
62	<i>C. herbarum</i>	TESTIGO	18,09
63	<i>C. herbarum</i>	TESTIGO	15,10
64	<i>C. herbarum</i>	TESTIGO	16,49
65	<i>C. herbarum</i>	TESTIGO	16,76
66	<i>C. herbarum</i>	TESTIGO	14,66
67	<i>C. herbarum</i>	TESTIGO	18,04
68	<i>C. herbarum</i>	TESTIGO	14,80
69	<i>C. herbarum</i>	TESTIGO	15,84
70	<i>C. herbarum</i>	TESTIGO	18,44
71	<i>C. herbarum</i>	0,25%	22,53
72	<i>C. herbarum</i>	0,25%	23,69

Continuación

Muestra N°	HONGO	CONCENTRACION	PORCENTAJE DE MANCHADO
73	<i>C. herbarum</i>	0,25%	25,45
74	<i>C. herbarum</i>	0,25%	19,78
75	<i>C. herbarum</i>	0,25%	19,46
76	<i>C. herbarum</i>	0,25%	18,96
77	<i>C. herbarum</i>	0,25%	24,32
78	<i>C. herbarum</i>	0,25%	17,78
79	<i>C. herbarum</i>	0,25%	19,36
80	<i>C. herbarum</i>	0,25%	18,92
81	<i>C. herbarum</i>	0,50%	23,04
82	<i>C. herbarum</i>	0,50%	15,98
83	<i>C. herbarum</i>	0,50%	20,53
84	<i>C. herbarum</i>	0,50%	16,76
85	<i>C. herbarum</i>	0,50%	19,25
86	<i>C. herbarum</i>	0,50%	13,74
87	<i>C. herbarum</i>	0,50%	14,21
88	<i>C. herbarum</i>	0,50%	14,81
89	<i>C. herbarum</i>	0,50%	19,02
90	<i>C. herbarum</i>	0,50%	15,74
91	<i>C. herbarum</i>	1,00%	11,80
92	<i>C. herbarum</i>	1,00%	10,87
93	<i>C. herbarum</i>	1,00%	17,80
94	<i>C. herbarum</i>	1,00%	10,94
95	<i>C. herbarum</i>	1,00%	16,78
96	<i>C. herbarum</i>	1,00%	10,36
97	<i>C. herbarum</i>	1,00%	17,30
98	<i>C. herbarum</i>	1,00%	14,88
99	<i>C. herbarum</i>	1,00%	16,36
100	<i>C. herbarum</i>	1,00%	11,28
101	<i>C. herbarum</i>	2,00%	15,20
102	<i>C. herbarum</i>	2,00%	8,74
103	<i>C. herbarum</i>	2,00%	14,65
104	<i>C. herbarum</i>	2,00%	8,94
105	<i>C. herbarum</i>	2,00%	8,76
106	<i>C. herbarum</i>	2,00%	12,83
107	<i>C. herbarum</i>	2,00%	11,22
108	<i>C. herbarum</i>	2,00%	14,50
109	<i>C. herbarum</i>	2,00%	13,30
110	<i>C. herbarum</i>	2,00%	16,58
111	<i>C. herbarum</i>	4,00%	16,19
112	<i>C. herbarum</i>	4,00%	16,38
113	<i>C. herbarum</i>	4,00%	17,45
114	<i>C. herbarum</i>	4,00%	19,37

Continuación

Muestra N°	HONGO	CONCENTRACION	PORCENTAJE DE MANCHADO
115	<i>C. herbarum</i>	4,00%	20,45
116	<i>C. herbarum</i>	4,00%	18,32
117	<i>C. herbarum</i>	4,00%	14,66
118	<i>C. herbarum</i>	4,00%	19,90
119	<i>C. herbarum</i>	4,00%	18,65
120	<i>C. herbarum</i>	4,00%	20,86
121	Mix	TESTIGO	16,13
122	Mix	TESTIGO	14,72
123	Mix	TESTIGO	21,45
124	Mix	TESTIGO	14,29
125	Mix	TESTIGO	22,75
126	Mix	TESTIGO	20,32
127	Mix	TESTIGO	17,19
128	Mix	TESTIGO	24,48
129	Mix	TESTIGO	19,66
130	Mix	TESTIGO	21,16
131	Mix	0,25%	15,79
132	Mix	0,25%	20,00
133	Mix	0,25%	25,81
134	Mix	0,25%	16,73
135	Mix	0,25%	24,06
136	Mix	0,25%	15,91
137	Mix	0,25%	18,75
138	Mix	0,25%	15,90
139	Mix	0,25%	24,47
140	Mix	0,25%	20,62
141	Mix	0,50%	21,28
142	Mix	0,50%	26,55
143	Mix	0,50%	25,26
144	Mix	0,50%	19,27
145	Mix	0,50%	29,89
146	Mix	0,50%	22,20
147	Mix	0,50%	25,40
148	Mix	0,50%	22,04
149	Mix	0,50%	24,10
150	Mix	0,50%	23,71
151	Mix	1,00%	15,63
152	Mix	1,00%	18,97
153	Mix	1,00%	15,49
154	Mix	1,00%	14,58
155	Mix	1,00%	16,06
156	Mix	1,00%	16,49

Continuación

Muestra N°	HONGO	CONCENTRACION	PORCENTAJE DE MANCHADO
157	Mix	1,00%	13,27
158	Mix	1,00%	13,83
159	Mix	1,00%	18,72
160	Mix	1,00%	16,72
161	Mix	2,00%	26,42
162	Mix	2,00%	25,91
163	Mix	2,00%	23,47
164	Mix	2,00%	26,13
165	Mix	2,00%	21,94
166	Mix	2,00%	23,81
167	Mix	2,00%	24,29
168	Mix	2,00%	23,63
169	Mix	2,00%	26,63
170	Mix	2,00%	24,29
171	Mix	4,00%	15,90
172	Mix	4,00%	17,26
173	Mix	4,00%	11,73
174	Mix	4,00%	13,44
175	Mix	4,00%	19,69
176	Mix	4,00%	21,47
177	Mix	4,00%	18,92
178	Mix	4,00%	14,51
179	Mix	4,00%	17,22
180	Mix	4,00%	15,45

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 17: Después de lijar:

MUESTRA N°	HONGO	CONCENTRACION	PORCENTAJE DE MANCHADO
1	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	69,15
2	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	69,11
3	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	61,58
4	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	70,94
5	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	70,19
6	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	66,67
7	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	69,27
8	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	67,25
9	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	65,21
10	<i>L. theobromae</i>	TESTIGO	61,19
11	<i>L. theobromae</i>	0,25%	61,17

Continuación

MUESTRA N°	HONGO	CONCENTRACION	PORCENTAJE DE MANCHADO
12	<i>L. theobromae</i>	0,25%	68,59
13	<i>L. theobromae</i>	0,25%	66,67
14	<i>L. theobromae</i>	0,25%	69,12
15	<i>L. theobromae</i>	0,25%	69,48
16	<i>L. theobromae</i>	0,25%	65,82
17	<i>L. theobromae</i>	0,25%	63,87
18	<i>L. theobromae</i>	0,25%	63,68
19	<i>L. theobromae</i>	0,25%	69,28
20	<i>L. theobromae</i>	0,25%	63,25
21	<i>L. theobromae</i>	0,50%	64,94
22	<i>L. theobromae</i>	0,50%	64,62
23	<i>L. theobromae</i>	0,50%	65,95
24	<i>L. theobromae</i>	0,50%	69,23
25	<i>L. theobromae</i>	0,50%	69,15
26	<i>L. theobromae</i>	0,50%	68,79
27	<i>L. theobromae</i>	0,50%	64,10
28	<i>L. theobromae</i>	0,50%	66,49
29	<i>L. theobromae</i>	0,50%	66,49
30	<i>L. theobromae</i>	0,50%	65,99
31	<i>L. theobromae</i>	1,00%	68,68
32	<i>L. theobromae</i>	1,00%	56,92
33	<i>L. theobromae</i>	1,00%	63,55
34	<i>L. theobromae</i>	1,00%	53,33
35	<i>L. theobromae</i>	1,00%	59,47
36	<i>L. theobromae</i>	1,00%	64,48
37	<i>L. theobromae</i>	1,00%	53,40
38	<i>L. theobromae</i>	1,00%	58,87
39	<i>L. theobromae</i>	1,00%	57,84
40	<i>L. theobromae</i>	1,00%	61,70
41	<i>L. theobromae</i>	2,00%	57,89
42	<i>L. theobromae</i>	2,00%	59,46
43	<i>L. theobromae</i>	2,00%	52,66
44	<i>L. theobromae</i>	2,00%	61,32
45	<i>L. theobromae</i>	2,00%	65,98
46	<i>L. theobromae</i>	2,00%	61,24
47	<i>L. theobromae</i>	2,00%	65,50
48	<i>L. theobromae</i>	2,00%	62,34
49	<i>L. theobromae</i>	2,00%	59,34
50	<i>L. theobromae</i>	2,00%	54,82
51	<i>L. theobromae</i>	4,00%	64,52
52	<i>L. theobromae</i>	4,00%	63,45

Continuación

MUESTRA N°	HONGO	CONCENTRACION	PORCENTAJE DE MANCHADO
53	<i>L.theobromae</i>	4,00%	62,78
54	<i>L.theobromae</i>	4,00%	56,85
55	<i>L.theobromae</i>	4,00%	57,65
56	<i>L.theobromae</i>	4,00%	57,81
57	<i>L.theobromae</i>	4,00%	67,19
58	<i>L.theobromae</i>	4,00%	70,12
59	<i>L.theobromae</i>	4,00%	62,05
60	<i>L.theobromae</i>	4,00%	55,03
61	<i>C.herbarum</i>	TESTIGO	68,49
62	<i>C.herbarum</i>	TESTIGO	59,79
63	<i>C.herbarum</i>	TESTIGO	55,37
64	<i>C.herbarum</i>	TESTIGO	68,91
65	<i>C.herbarum</i>	TESTIGO	56,98
66	<i>C.herbarum</i>	TESTIGO	68,33
67	<i>C.herbarum</i>	TESTIGO	55,91
68	<i>C.herbarum</i>	TESTIGO	55,39
69	<i>C.herbarum</i>	TESTIGO	65,31
70	<i>C.herbarum</i>	TESTIGO	66,15
71	<i>C.herbarum</i>	0,25%	68,64
72	<i>C.herbarum</i>	0,25%	59,02
73	<i>C.herbarum</i>	0,25%	63,78
74	<i>C.herbarum</i>	0,25%	59,34
75	<i>C.herbarum</i>	0,25%	58,70
76	<i>C.herbarum</i>	0,25%	57,98
77	<i>C.herbarum</i>	0,25%	67,66
78	<i>C.herbarum</i>	0,25%	67,35
79	<i>C.herbarum</i>	0,25%	58,79
80	<i>C.herbarum</i>	0,25%	66,23
81	<i>C.herbarum</i>	0,50%	67,28
82	<i>C.herbarum</i>	0,50%	64,21
83	<i>C.herbarum</i>	0,50%	68,45
84	<i>C.herbarum</i>	0,50%	62,38
85	<i>C.herbarum</i>	0,50%	65,64
86	<i>C.herbarum</i>	0,50%	54,44
87	<i>C.herbarum</i>	0,50%	55,91
88	<i>C.herbarum</i>	0,50%	60,61
89	<i>C.herbarum</i>	0,50%	60,61
90	<i>C.herbarum</i>	0,50%	56,59
91	<i>C.herbarum</i>	1,00%	67,39
92	<i>C.herbarum</i>	1,00%	54,68
93	<i>C.herbarum</i>	1,00%	66,78

Continuación

MUESTRA N°	HONGO	CONCENTRACION	PORCENTAJE DE MANCHADO
94	<i>C.herbarum</i>	1,00%	52,22
95	<i>C.herbarum</i>	1,00%	64,75
96	<i>C.herbarum</i>	1,00%	51,67
97	<i>C.herbarum</i>	1,00%	50,29
98	<i>C.herbarum</i>	1,00%	55,34
99	<i>C.herbarum</i>	1,00%	59,41
100	<i>C.herbarum</i>	1,00%	66,15
101	<i>C.herbarum</i>	2,00%	64,12
102	<i>C.herbarum</i>	2,00%	64,80
103	<i>C.herbarum</i>	2,00%	68,02
104	<i>C.herbarum</i>	2,00%	68,00
105	<i>C.herbarum</i>	2,00%	65,59
106	<i>C.herbarum</i>	2,00%	63,74
107	<i>C.herbarum</i>	2,00%	62,03
108	<i>C.herbarum</i>	2,00%	70,71
109	<i>C.herbarum</i>	2,00%	64,10
110	<i>C.herbarum</i>	2,00%	70,56
111	<i>C.herbarum</i>	4,00%	66,67
112	<i>C.herbarum</i>	4,00%	63,10
113	<i>C.herbarum</i>	4,00%	58,94
114	<i>C.herbarum</i>	4,00%	68,50
115	<i>C.herbarum</i>	4,00%	69,90
116	<i>C.herbarum</i>	4,00%	62,30
117	<i>C.herbarum</i>	4,00%	63,39
118	<i>C.herbarum</i>	4,00%	61,85
119	<i>C.herbarum</i>	4,00%	64,85
120	<i>C.herbarum</i>	4,00%	58,45
121	Mix	TESTIGO	70,05
122	Mix	TESTIGO	69,31
123	Mix	TESTIGO	60,74
124	Mix	TESTIGO	62,45
125	Mix	TESTIGO	72,40
126	Mix	TESTIGO	63,10
127	Mix	TESTIGO	61,25
128	Mix	TESTIGO	64,40
129	Mix	TESTIGO	72,78
130	Mix	TESTIGO	74,05
131	Mix	0,25%	68,13
132	Mix	0,25%	75,14
133	Mix	0,25%	75,42
134	Mix	0,25%	64,25

Continuación

MUESTRA N°	HONGO	CONCENTRACION	PORCENTAJE DE MANCHADO
135	Mix	0,25%	67,02
136	Mix	0,25%	65,78
137	Mix	0,25%	75,13
138	Mix	0,25%	66,32
139	Mix	0,25%	75,92
140	Mix	0,25%	67,86
141	Mix	0,50%	70,47
142	Mix	0,50%	69,27
143	Mix	0,50%	60,56
144	Mix	0,50%	73,40
145	Mix	0,50%	61,54
146	Mix	0,50%	74,75
147	Mix	0,50%	69,06
148	Mix	0,50%	70,00
149	Mix	0,50%	73,54
150	Mix	0,50%	64,53
151	Mix	1,00%	70,83
152	Mix	1,00%	60,25
153	Mix	1,00%	62,35
154	Mix	1,00%	68,95
155	Mix	1,00%	66,29
156	Mix	1,00%	70,05
157	Mix	1,00%	70,94
158	Mix	1,00%	77,95
159	Mix	1,00%	69,27
160	Mix	1,00%	61,54
161	Mix	2,00%	67,57
162	Mix	2,00%	67,20
163	Mix	2,00%	73,49
164	Mix	2,00%	72,77
165	Mix	2,00%	77,78
166	Mix	2,00%	65,73
167	Mix	2,00%	65,90
168	Mix	2,00%	71,10
169	Mix	2,00%	74,09
170	Mix	2,00%	73,10
171	Mix	4,00%	68,02
172	Mix	4,00%	60,23
173	Mix	4,00%	60,45
174	Mix	4,00%	62,05
175	Mix	4,00%	63,49

Continuación

MUESTRA N°	HONGO	CONCENTRACION	PORCENTAJE DE MANCHADO
176	Mix	4,00%	67,02
177	Mix	4,00%	71,35
178	Mix	4,00%	70,53
179	Mix	4,00%	67,78
180	Mix	4,00%	61,23

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO 2

RESULTADOS ESTADÍSTICOS

Antes de lijar:

Tabla 18: Modelo lineal general: porcentaje de manchado antes de lijar vs. hongo, concentración.

<i>Factor</i>	<i>Tipo</i>	<i>Niveles</i>	<i>Valores</i>
HONGO	fijo	3	<i>C. herbarum, L. theobromae, MIX</i>
CONCENTRACION	fijo	6	0,25%; 0,50%; 1,00%; 2,00%; 4,00%; TESTIGO

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 19: Análisis de varianza para: porcentaje de manchado antes de lijar, utilizando SC ajustada para pruebas.

<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MC</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	$\alpha = 0.05$
HONGO	2	883,85	441,93	57,30	0,000	*
CONCENTRACION	5	1348,29	269,66	34,96	0,000	*
HONGO*CONCENTRACION	10	3182,75	318,28	41,27	0,000	*
Error	162	1249,48	7,71			
Total	179	6664,37				

S = 2,777 R-cuad, = 81,25% R-cuad,(ajustado) = 79,28%

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 20: Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = porcentaje de manchado antes de lijar, Término =

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

<i>HONGO</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>
MIX	60	20,029	A
<i>C. herbarum</i>	60	16,452	B
<i>L. theobromae</i>	60	14,705	B

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 21: Comparaciones múltiples de Dunnet con un control: Respuesta = porcentaje de manchado antes de lijar

Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

<i>CONCENTRACION</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>
TESTIGO (Control)	30	22,111	A
0,25%	30	18,070	
0,50%	30	17,328	
1,00%	30	13,441	
2,00%	30	16,607	
4,00%	30	14,816	

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 22: Estadísticas Descriptivas: Media, error estándar de la media, desviación estándar y Coeficiente de variación para *L. theobromae*,

<i>Variable</i>	<i>Concentración</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Error estándar de la media</i>	<i>Desv, Est,</i>	<i>CoefVar</i>
Porcentaje de manchado antes de lijar - <i>L. theobromae</i>	Testigo	10	31,271	0,936	2,959	9,46
	0,25%	10	13,381	0,727	2,298	17,17
	0,50%	10	10,705	0,922	2,914	27,23
	1,00%	10	10,511	0,285	0,900	8,57
	2,00%	10	12,698	0,956	3,024	23,81
	4,00%	10	9,670	1,070	3,390	35,04

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 23: Estadísticas Descriptivas: Media, error estándar de la media, desviación estándar y Coeficiente de variación para *C. herbarum*,

<i>Variable</i>	<i>Concentración</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Error estándar de la media</i>	<i>Desv, Est,</i>	<i>CoefVar</i>
Porcentaje de manchado antes de lijar - <i>C. herbarum</i>	Testigo	10	15,848	0,761	2,406	15,18
	0,25%	10	21,025	0,855	2,704	12,86
	0,50%	10	17,308	0,96	3,037	17,55
	1,00%	10	13,837	0,965	3,051	22,05
	2,00%	10	12,472	0,917	2,901	23,26
	4,00%	10	18,223	0,642	2,029	11,13

Fuente: Elaboración propia,

Tabla 24: Estadísticas Descriptivas: Media, error estándar de la media, desviación estándar y Coeficiente de variación para el Mix,

<i>Variable</i>	<i>Concentración</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Error estándar de la media</i>	<i>Desv, Est,</i>	<i>CoefVar</i>
Porcentaje de manchado antes de lijar - <i>MIX</i>	Testigo	10	19,210	1,100	3,470	18,07
	0,25%	10	19,800	1,220	3,850	19,46
	0,50%	10	23,970	0,953	3,013	12,57
	1,00%	10	15,976	0,592	1,872	11,72
	2,00%	10	24,652	0,490	1,548	6,28
	4,00%	10	16,559	0,939	2,969	17,93

Fuente: Elaboración propia,

Después de lijado:

Tabla 25: ANOVA: porcentaje de manchado después de lijar vs hongo, concentración

<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>SC</i>	<i>MC</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	$\alpha = 0,05$
HONGO	2	1154,69	577,344	27,43	0,000	
CONCENTRACION	5	384,38	76,877	3,65	0,004	
HONGO*CONCENTRACION	10	706,73	70,673	3,36	0,001	
Error	162	3409,71	21,048			
Total	179	5655,51				

S = 4,588 R-cuad, = 39,71% R-cuad,(ajustado) = 33,38% R-cuad, (ajustado) = 33,38%

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 26: Comparaciones por parejas de Tukey: Respuesta = porcentaje de manchado después de lijar, Término = h0

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

<i>HONGOS</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Agrupación</i>
MIX	68,350	A	
<i>C. herbarum</i>	62,542		B
<i>L. theobromae</i>	63,558		B

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 27: Comparaciones múltiples de Dunnett con un control: Respuesta = porcentaje de manchado después de lijar

Agrupar información utilizando el método de Dunnett y una confianza de 95%

CONCENTRACION	N	Media	Agrupación
TESTIGO (Control)	30	65,391	A
0,25%	30	66,313	A
0,50%	30	65,698	A
1,00%	30	65,633	A
2,00%	30	63,585	A
4,00%	30	62,178	A

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 28: Estadísticas Descriptivas: Media, error estándar de la media, desviación estándar y Coeficiente de variación para *L. theobromae*,

Variable	Concentración	N	Media	Error estándar de la media	Desv, Est,	CoefVar
Porcentaje de manchado después de lijar - <i>L. theobromae</i>	Testigo	10	67,060	1,090	3,440	5,13
	0,25%	10	66,093	0,946	2,991	4,53
	0,50%	10	66,575	0,596	1,884	2,83
	1,00%	10	59,820	1,540	4,880	8,16
	2,00%	10	60,060	1,350	4,220	7,03
	4,00%	10	61,740	1,540	4,860	7,88

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 29: Estadísticas Descriptivas: Media, error estándar de la media, desviación estándar y Coeficiente de variación para *C. herbarum*,

Variable	Concentración	N	Media	Error estándar de la media	Desv, Est,	CoefVar
Porcentaje de manchado después de lijar - <i>C. herbarum</i>	Testigo	10	62,060	1,860	5,900	9,50
	0,25%	10	62,750	1,390	4,390	7,00
	0,50%	10	61,610	1,540	4,870	7,91
	1,00%	10	58,870	2,170	6,850	11,64
	2,00%	10	66,167	0,945	2,989	4,52
	4,00%	10	63,800	1,190	3,770	5,90

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 30: Estadísticas Descriptivas: Media, error estándar de la media, desviación estándar y Coeficiente de variación para el Mix,

<i>Variable</i>	<i>Concentración</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Error estándar de la media</i>	<i>Desv, Est,</i>	<i>CoefVar</i>
Porcentaje de manchado después de lijar - Mix	Testigo	10	67,05	1,64	5,18	7,73
	0,25%	10	70,10	1,48	4,70	6,70
	0,50%	10	68,71	1,57	4,97	7,23
	1,00%	10	67,84	1,70	5,39	7,90
	2,00%	10	70,87	1,29	4,07	5,74
	4,00%	10	65,22	1,33	4,22	6,47

Fuente: Elaboración propia.