

“Evaluación en laboratorio de la capacidad antagonista de *Trichoderma spp.*, frente al crecimiento de lanosa (*Rosellinia spp.*), en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum L.*)”

Rosa Tamar Ger Iñiguez
Escuela de Desarrollo Integral Agropecuario (EDIA)
Universidad Politécnica Estatal del Carchi (UPEC)
Nuevo Campus, Av. Universitaria y Antisana
Tulcán-Ecuador
rosa.ger@upec.edu.ec

Resumen

Para evaluar en laboratorio la capacidad antagonista de *Trichoderma spp.*, frente al crecimiento de lanosa (*Rosellinia spp.*) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum L.*), se realizó el aislamiento y purificación de la cepa del patógeno lanosa (*Rosellinia spp.*) comprobándose la patogenicidad mediante los postulados de Koch en su hospedante papa (*Solanum tuberosum L.*).

Mediante un Diseño Completamente al Azar se evaluó 8 tratamientos (3 fuentes de *Trichoderma spp.*, el testigo absoluto, un biofungicida a base de metabolitos de microorganismos y 3 testigos químicos (Benzimidazoles) con 8 repeticiones, para medir la actividad antagonista diferencial de las cepas de *Trichoderma spp.*, frente a la acción patogénica ejercida por *Rosellinia spp.* El T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), el antagonista llegó a cubrir el 100% de las placas, evidenciando el micoparasitismo como mecanismo de biocontrol a través de la disolución de la pared celular del fitopatógeno por actividad enzimática con penetración física de la pared celular. Mientras tanto en: T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 2) y T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3), prevaleció la competencia por espacio y nutrientes como mecanismo de biocontrol.

Palabras claves: *Trichoderma spp.*, *Rosellinia sp.*, capacidad antagonista, patogenicidad, micoparasitismo.

Abstract

Laboratory to evaluate the antagonistic capacity of *Trichoderma spp.*, against woolly growth (*Rosellinia spp.*) in the potato crop (*Solanum tuberosum L.*), isolation and purification of the strain was carried woolly pathogen (*Rosellinia spp.*) verifying pathogenicity by the them by Koch's postulates in the host potato (*Solanum tuberosum L.*)

Using a completely randomized design with 8 treatments were evaluated (3 power *Trichoderma spp.* Absolute control, fungicide metabolites based microorganisms and 3 chemical controls (benzimidazoles), with 8 replicates, to measure differential antagonistic activity *Trichoderma spp* strains, against pathogenic action exerted by *Rosellinia spp.* T1 (*Rosellinia spp.*, Vs *Trichoderma spp.*, Source 1), the antagonist comes to cover 100% of the plates, showing mycoparasitism and biocontrol mechanism through the dissolution of the cell wall by enzymatic activity fitopatogen physical penetration cell wall. In the meantime: (*Rosellinia spp.*, *Trichoderma spp* vs, source 2) and T3 (*Rosellinia spp.*, *Trichoderma spp.*, vs source 3), prevailed competition for space and nutrients as a mechanism of biocontrol.

Keywords: *Trichoderma spp.*, *Rosellinia spp.*, antagonistic capacity, pathogenicity, mycoparasitism.

1. INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.), es un cultivo tradicional en la sierra ecuatoriana el cual forma parte de la canasta familiar de todos los estratos sociales, la demanda de este cultivo es muy elevada conllevando a ser uno de los principales rubros económicos de los agricultores en la provincia del Carchi.

Debido a los altos ingresos dados por este cultivo se ha llegado a convertir en un mono cultivo a nivel de la provincia, lo que ha originado problemas de patógenos de suelo y de semilla, a través de la proliferación de hongos fitopatógenos causantes de diversas enfermedades. (Pumisacho & Sherwood, 2002) *Lanosa* (*Rosellinia spp.*) es uno de los principales hongos fitopatógenos del suelo que afecta a los tubérculos de la papa causando la enfermedad conocida como “Lanosa” (INIAP-CIP-BID, 1997) en el Ecuador y como “mortaja blanca” en Colombia, debido al manto micelial blanco que recubre las partes infectadas. *Rosellinia* no necesariamente es un parásito, también puede vivir de manera saprófita sobre restos de cosechas o rastrojos, lo que le permite sobrevivir por largo tiempo en el hospedante la papa (*Solanum tuberosum* L.), causando pudriciones en raíces, estolones y tubérculos, disminuyendo la producción de hasta un 90% (Pumisacho & Sherwood, 2002).

El control de fitopatógenos en los cultivos se lo ha realizado mediante el uso de productos químicos convencionales, los cuales han dado buenos resultados; pero en la actualidad están perdiendo vigencia por la presencia de métodos más amigables para la salud humana y el medio ambiente; tal es el caso del control biológico. Dicho método utiliza microorganismos antagonistas como *Trichoderma spp.* Las especies del género *Trichoderma*, son utilizadas dentro del control biológico, debido a su fácil aislamiento, rápido crecimiento y su capacidad antagonista sobre diversos hongos fitopatógenos como; *Rhizoctonia spp.*, *Fusarium spp.*, *Phytophthora spp.*, *Pythium spp.*, entre otros, que causan graves daños a cultivos de importancia económica como papa (*Solanum tuberosum* L.), maíz (*Zea mays* L.), tomate (*Solanum lycopersicum*), cebolla (*Allium cepa*), trigo (*Triticum aestivum*), etc. Los mecanismos utilizados por *Trichoderma* para desplazar al fitopatógeno son: competencia directa por el espacio y por los nutrientes; producción de metabolitos, antibióticos y parasitismo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Equipos Materiales y sustancias:

(Autoclave, cámara de flujo laminar, contador de colonias, estufa/Esterilizador, Microscopio compuesto, balanza analítica, pH metro, Indumentaria para laboratorio, cajas Petri, bisturí, Pinzas de punta plana, vasos de precipitación de 50/100/250ml, frasco autoclavable 250/600ml, asa de platino, lámparas de alcohol, vidrio reloj, espátula, probeta graduada, piseta platica, tubos de ensayo, jeringuillas, papel parafilm, gasa, algodón, papel comercio, cinta masquin, material vegetativo infectado, *Trichoderma spp.*, alcohol potable y antiséptico, PDA, Bensimidazoles.

2.2. Método: Se utilizó el diseño experimental Completamente al Azar D.C.A conformado por ocho tratamientos, con ocho repeticiones, tres fuentes diferentes de *Trichoderma spp.*, cuatro testigos químicos (Bensimidazoles) un testigo absoluto En la evaluación de la investigación se realizaron pruebas de significancia de Tukey al 5 %, y ANOVA

2.3. Características del diseño experimental:

Tratamientos evaluados en la investigación.

Factor:	Fuentes comerciales de <i>Trichoderma spp.</i>
Tratamientos	Producto
T1	<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1
T2	<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2
T3	<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3
T4	Extractos de frutas, plantas y metabolitos de microorganismos
T5	Testigo absoluto
T6	Tiabendazol
T7	Benomil
T8	Tiofanato Metil

Elaborado por: Ger Tamar, 2013

2.4. Plan de recolección de la información

2.4.1. Velocidad de crecimiento en (mm/día) de los hongos:

Los datos para la velocidad de crecimiento micelial fueron registrados tanto para *Rosellinia spp.*, y *Trichoderma spp.*, se tomó la medida en milímetros por día con la ayuda de un scalímetro.

2.4.2. Tiempo:

Los datos fueron registrados durante 50 días, los primeros 8 días cada 24 horas y el resto del tiempo cada 48 horas, a la misma hora 17:00 pm.

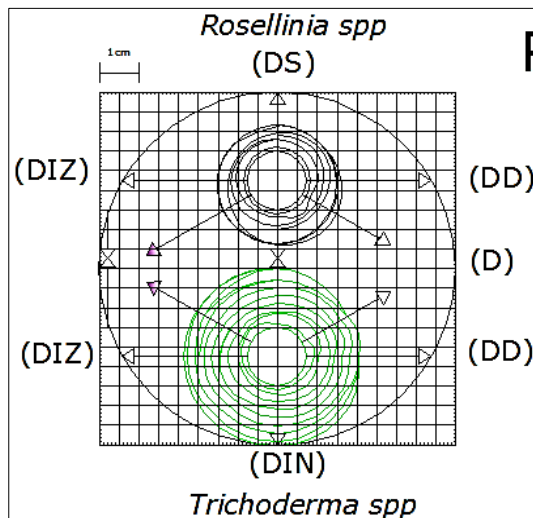
2.4.3. Antagonismo :

El antagonismo se consideró por medio del efecto y mecanismos de biocontrol ocasionado por parte del antagonista hacia el patógeno, se registró las dos distancias de enfrentamiento; distancia inferior para *Rosellinia spp.* , distancia superior para *Trichoderma spp.* , en milímetros por día.

2.4.4. Crecimiento micelial de los hongos:

Se registró los datos desde las 24 horas después de su siembra, durante los 50 días, tomando como referencia para *Rosellinia spp.*, se tomó la distancia inferior (DIN), mientras tanto para *Trichoderma spp.* , se registró la distancia superior (DS).

Puntos de lectura del antagonismo, *Rosellinia spp.*, versus *Trichoderma spp.*



Elaborado por: Ger Tamar, 2013

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Prueba de antagonismo (distancia inferior, ocupada por *Rosellinia spp.*)

3.1.1. Crecimiento de (*Rosellinia spp.*, distancia inferior), a los 8 días después de su siembra.

Tabla 1: ANOVA para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 8 días después de su siembra

F.V.	SC	gl	CM	F cal
Total	187,79	63		
Tratamientos	139,64	7	19,95	23,20**
Error	48,15	56	0,81	
CV	22,07%			
X	19,60 mm			

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Después de haber realizado el análisis de varianza (Tabla1) para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, se observó diferencia estadística significativa entre tratamientos. El coeficiente de variación fue de 22,07 % y el promedio del experimento de 19,60 mm en crecimiento del patógeno.

Tabla 2: Prueba de Tukey al 5 % para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 8 días después de su siembra

TRATAMIENTO	MEDIAS (mm)				
T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2)	7,06	A			
T4 (Extractos de frutas plantas y metabolitos de microorganismos)	7,25	A			
T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1)	7,69	A			
T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3)	13,81	A	B		
T8 (Tiofanato de metil)	21,00		B	C	
T6 (Tiabendazol)	24,63			C	
T7 (Benomil)	35,38				D
T5 (Testigo absoluto)	39,94				D

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

En la tabla 2 se pueden observar las medias del crecimiento en milímetros para cada tratamiento ubicándose, en la categoría A los tratamientos T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 2), con 7,06 mm , T4 (*Rosellinia spp.*, vs Metabolitos de microorganismos), con 7,25 mm

de promedio y T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), con 7,69 mm; en el rango A y B se encontró el tratamiento, T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3) ,con 13,81 mm ; además en el rango B y C, se ubicó el tratamiento T8 (*Rosellinia spp.*, vs Tiofanato Metilo), con 21,00 mm ; en el rango C , estuvo el tratamiento T6 (*Rosellinia spp.*, vs Tiabendazol) con 24,63 mm; en el rango D, se ubicó el tratamiento T7 (*Rosellinia spp.*, vs Benomil) , con 35,38 mm, y T5 siendo este el testigo absoluto (*Rosellinia spp.*) con un promedio de crecimiento de 39,94 mm.

Los Bensimidazoles son fungicidas pertenecientes al grupo sistémicos, el modo de acción de estos es; inhibición del ensamblaje de los microtúbulos, impidiendo, el proceso de división celular en los hongos patógenos (Davidsed, 1982, citado por Besoain) (1989). Este grupo de fungicidas tienen poco efecto inhibitorio en la germinación de esporas de hongos sensibles, dependiendo de la concentración y del medio de cultivo, afectan en: desarrollo del tubo germinativo, multiplicación celular e inhiben fuertemente el crecimiento de las hifas (Erwin, 1973; Hammerschlag y Sisler, 1973, citado por Besoain, 1989).

3.1.2. Crecimiento de (*Rosellinia spp.*, distancia inferior) a los 20 días después de su siembra.

Tabla 3: ANOVA para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 20 días después de su siembra

F.V.	SC	gl	CM	F cal
Total	318,30	63		
Tratamientos	243,95	7	34,85	26,25**
Error	74,36	56	1,33	
CV	26,52%			
X	22,79 mm			

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Después de haber realizado el análisis de varianza para el crecimiento de *Rosellinia spp.*, a los 20 días después de su siembra, se pudo observar que existió una diferencia estadísticamente significativa al 1% entre tratamientos, con un coeficiente de variación de 26,52 % y el promedio del experimento fue de 22,79 mm de crecimiento en el medio PDA.

Tabla 4: Prueba de Tukey al 5 % para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 20 días después de su siembra

TRATAMIENTO	MEDIAS (mm)				
T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1)	0,13	A			
T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2)	6,00	A	B		
T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3)	11,00	A	B		
T4 (Extractos de frutas plantas y metabolitos de microorganismos)	16,63		B	C	
T8 (Tiofanato de metil)	29,38			C	D
T7 (Benomil)	38,88				D
T5 (Testigo absoluto)	39,94				D
T6 (Tiabendazol)	40,38				D

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

En la tabla 4 se observa las medias de cada tratamiento del espacio ocupado por el patógeno, en la categoría A , se encontró el tratamiento T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), con 0,13 mm ; en el rango A y B estuvieron los tratamientos T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 2), con 6,00 mm y T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3) ,con 11,00 mm , después se ubicó en el rango B y C el T4 (*Rosellinia spp.*, vs Metabolitos de microorganismos), con 16,63 mm de promedio ; en el rango C y D se encontró el tratamiento T8 (*Rosellinia spp.*, vs Tiofanato Metilo), con 29,38 mm y en el rango D estuvieron los tratamientos T7 (*Rosellinia spp.*, vs Benomil) , con 38,88 mm ; T5 el testigo absoluto (*Rosellinia spp.*) con un promedio de crecimiento de 39,94 mm y por último el T6 (*Rosellinia spp.*, vs Tiabendazol) con 40,38 mm.

Nicole, Ruel, & Ovellette (1994) detallan que la relación patógeno-hospedante en las estructuras celulares particulares de los hongos pueden estar envueltas en la alteración de la pared celular. Los hongos patógenos pueden producir una amplia modificación de sus estructuras celulares especializadas en la penetración del hospedante estos pueden ser: apresorios, haustorios o microhifas. La alteración de los tejidos resulta de la presión mecánica y de actividad enzimática.

El problema en el uso del grupo de Bensimidazoles es el rápido desarrollo de poblaciones fungosas resistentes (Alvarez, 1989;

Carreño y Pinto de Torres, 1979; Davidse, 1982, citados por Besoain).

3.1.3. Crecimiento de (*Rosellinia spp.*, distancia inferior) a los 50 días después de su siembra.

Tabla 5: ANOVA para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 50 días después de su siembra

F.V.	SC	gl	CM	F cal
Total	376,49	63		
Tratamientos	285,28	7	40,75	25,02**
Error	91,21	56	1,63	
CV	29,39%			
X	23,63 mm			

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Después de haber realizado el análisis de varianza para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, a los 50 días después de su siembra en PDA, se observó que existió una diferencia significativa estadísticamente al 1% entre tratamientos, con un coeficiente de variación de 29,39 % y el promedio del experimento fue 23,63 mm de espacio ocupado por el patógeno.

Tabla 6: Prueba de Tukey al 5% para la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 50 después de su siembra

TRATAMIENTO	MEDIAS (mm)			
T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1)	0,00	A		
T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3)	5,06	A		
T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2)	5,88	A		
T4 (Extractos de frutas plantas y metabolitos de microorganismos)	21,63		B	
T7 (Benomil)	38,00			C
T8 (Tiofanato de metil)	38,13			C
T5 (Testigo absoluto)	39,94			C
T6 (Tiabendazol)	40,38			C

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

En la interpretación de la tabla 6, de los promedios del crecimiento del patógeno en cada tratamiento, en la categoría A se encontraron los tratamientos T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.* Fuente 1), con 0,00 mm; T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3),

con 5,06 mm; y el T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.* Fuente 2), con 5,88 mm; en el rango B estuvo el tratamiento T4 (*Rosellinia spp.*, vs Metabolitos de microorganismos), con 21,63 mm de promedio ; en el rango C se ubicaron los tratamientos T7 (*Rosellinia spp.*, vs Benomil) , con 38,00 mm ; después el T8 (*Rosellinia spp.*, vs Tiofanato Metilo), con 38,13 mm ; luego el T5 el testigo absoluto (*Rosellinia spp.*) con un promedio de crecimiento de 39,94 mm y por último el T6 (*Rosellinia spp.*, vs Tiabendazol) con 40,38 mm.

La capacidad fungicida de los Bensimidazoles beneficia la aparición de resistencia en los patógenos ya que poseen un modo de acción sitio - específica (Álvarez, 1989).

La Lanosa (*Rosellinia spp.*) enfermedad que se propaga a través de la semilla y en menor grado por el suelo, por lo tanto tiene una forma rápida y alarmante de propagación (Pumisacho & Sherwood, 2002). La temperatura es uno de los factores ambientales que modifican el crecimiento y esporulación de los hongos, es así como Bisby (1943), citado por (Orellana, 1978) aunque por cada especie de hongo existe su rango de temperatura la mayoría esporulan 32 a 20°C, la cantidad y calidad de nutrientes es decisivo para el crecimiento y esporulación de los hongos, llegando a necesita sustratos pobres , pero Lanosa desarrolla mejor en materia orgánica y un pH de 5 y 6 influyendo en el desarrollo de la infección siendo más favorable en el rango de 7 (Ayala, 1987).

Los antagonistas ayudan a mitigar los daños que ocasionan las enfermedades. La competencia es uno de los mecanismos de antagonismo en donde el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), presenta disminución de cantidad o espacio disponible. Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente control biológico como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, y por otro lado por factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros. (Ahmad & Baker, 1987)

3.2. Prueba de antagonismo (distancia superior, ocupada por *Trichoderma spp.*)

3.2.1. Crecimiento de (*Trichoderma spp.*, distancia superior) a 8 los días después de su siembra.

Tabla 7: ANOVA para la distancia superior de *Trichoderma spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 8 días después de su siembra

F.V.	SC	gl	CM	F cal
Total	12,48	23		
Tratamientos	4,20	2	2,10	5,34*
Error	8,27	21	0,39	
CV	14,30%			
X	18,77 mm			

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Después de haber realizado el análisis de varianza para la distancia superior de *Trichoderma spp.*, a los 8 días después de su siembra en PDA, se puede afirmar que existió una diferencia significativa estadísticamente al 1% entre tratamientos, el coeficiente de variación fue de 14,30% y el promedio del experimento fue de 18,77 mm en el crecimiento del antagonista.

Tabla 8: Prueba de Tukey al 5 % para la distancia superior de *Trichoderma spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 8 después de su siembra.

TRATAMIENTO	MEDIAS (mm)		
T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1)	23,63	A	
T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2)	18,13	A	B
T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3)	14,56		B

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

En la interpretación de la tabla N° 8 de la prueba de Tukey al 5 %, se observó las medias del crecimiento de cada tratamiento; en la categoría A , se ubicó el tratamiento T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), con 23,63 mm; luego estuvo en la categoría A y B el tratamiento T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 2) con 18,13 mm; mientras que en la categoría B se encontró el tratamiento T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3), con 14,56 mm.

Los antagonistas contribuyen a la atenuación de los daños que causan las enfermedades, poseyendo modos de acción que les permitan ejercer su efecto biorregulador junto con la capacidad de multiplicarse, permitiéndoles ser los

agentes de control biológico de mayor importancia , su control se efectúa de forma lenta pero consigue controlar efectos patogénicos. (Agronomía, 2009)

3.2.2. Crecimiento de (*Trichoderma spp.*, distancia superior) a los 20 días después de su siembra.

Tabla 9: ANOVA para la distancia superior de *Trichoderma spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 20 días después de su siembra.

F.V.	SC	gl	CM	F cal
Total	59,61	23		
Tratamientos	46,92	2	23,46	38,83**
Error	12,69	21	0,60	
CV	14,11%			
X	31,81 mm			

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Después de haber realizado el análisis de varianza para el crecimiento de *Trichoderma spp.*, a los 20 días después de su siembra en PDA, se observó diferencia significativa estadísticamente al 1% entre tratamientos, el coeficiente de variación fue de 14,11% y el promedio del experimento estuvo con 31,81 mm en el crecimiento del antagonista.

Tabla 10: Prueba de Tukey al 5 % para la distancia superior de *Trichoderma spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 20 días después de su siembra

TRATAMIENTO	MEDIAS (mm)		
T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1)	54,88	A	
T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2)	24,00	A	
T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3)	16,56		B

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

En la interpretación de la tabla N°10 de la prueba de Tukey al 5 %, se observó que en la categoría A, estuvieron los tratamientos T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), con 54,88 mm; y el tratamiento T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 2) con 24,00mm; mientras que en la categoría B se encontró el tratamiento T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3), con 16,56 mm del espacio ocupado por el antagonista.

La velocidad de crecimiento de un antagonista no determina la colonización efectiva, sino más bien la aplicación homogénea del mismo en todo el

sustrato, o en de otra forma la velocidad de crecimiento, junto con otro de los mecanismos de acción propia del antagonista, es determinante en el biocontrol del patógeno y colonización del sustrato. (Pérez"(UNAH)., 2009).

3.2.3. Crecimiento de *Trichoderma spp.*, distancia superior) a los 50 días después de su siembra

Tabla 11: ANOVA para la distancia superior de *Trichoderma spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 50 días después de su siembra

F.V.	SC	gl	CM	F cal
Total	62,30	23		
Tratamientos	38,57	2	19,28	17,06**
Error	23,73	21	1,13	
CV	17,60%			
X	38,08mm			

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Después de haber realizado el análisis de varianza del crecimiento de *Trichoderma spp.*, en la tabla 11, se observó diferencia significativa estadísticamente al 1% entre tratamientos, el coeficiente de variación fue de 17,60 % y el promedio del experimento fue 38,08 mm en el espacio ocupado por el antagonista.

Tabla 12: Prueba de Tukey al 5 % para la distancia superior de *Trichoderma spp.*, en cada tratamiento evaluado a los 50 días después de su siembra.

TRATAMIENTO	MEDIAS (mm)		
T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1)	59,75	A	
T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2)	31,75	A	
T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3)	22,75		B

Elaborado por: Ger Tamar, 2014

En la interpretación de la tabla N° 12 de la prueba de Tukey al 5 %, se observó los promedios del crecimiento en milímetros de cada uno de los tratamientos de las fuentes de *Trichoderma spp.*, utilizados en la categoría A estuvieron los tratamientos T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), con 59,75 mm; y el tratamiento T2 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 2) con 31,75 mm; mientras que en la categoría B se encontró el tratamiento T3 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 3), con 22,75mm.

La acción biocontroladora de *Trichoderma* se han descrito diferentes mecanismos de acción que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos.

La capacidad antagonica del *Trichoderma* se mantuvo aumentando hasta el día 50, lo cual demostró que el patógeno dejó de crecer, mientras que el hongo antagonista ocupó el total de la placa, demostrando la competencia por el espacio, nutrientes y micoparasitismo.

3.3. Velocidad de crecimiento de las tres fuentes comerciales de *Trichoderma spp.*, en mm/día evaluado durante 50 días después de su siembra.

Tabla 13: Velocidad de crecimiento del as fuentes comerciales de *Trichoderma spp.*, en mm/día

Fuentes	Velocidad de crecimiento mm/día
T1 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 1)	1,19
T2 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 2)	0,63
T3 (<i>Trichoderma spp.</i> , fuente 3)	0,45

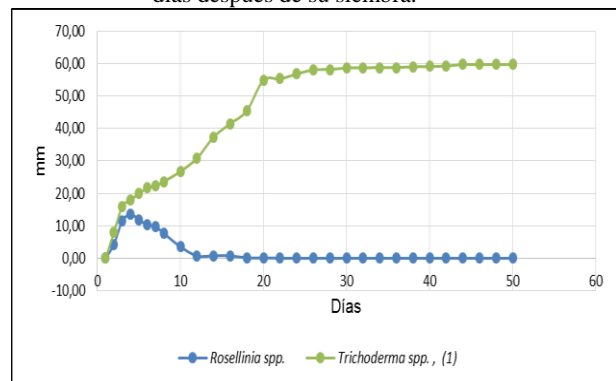
Elaborado por: Ger Tamar, 2014

3.4. Tipo de antagonismo que presentó *Trichoderma spp.*

3.4.1. *Trichoderma spp.*, fuente 1

1

Gráfica 1: Resultados, del tipo de antagonismo de la distancia inferior de *Rosellinia spp.*, y distancia superior *Trichoderma spp.*, fuente (1) T1, a los 50 días después de su siembra.

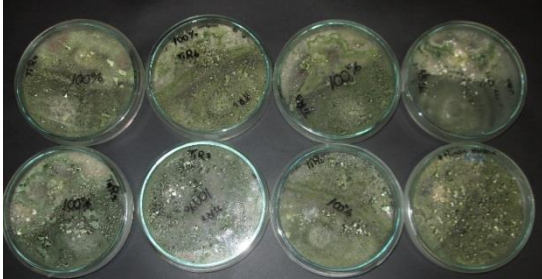


Elaborado por: Ger Tamar, 2014

Trichoderma spp., fuente 1, el mecanismo de biocontrol que se presentó exclusivamente es la competencia de nutrientes y espacio durante los primeros 5 días después de la siembra, desde el

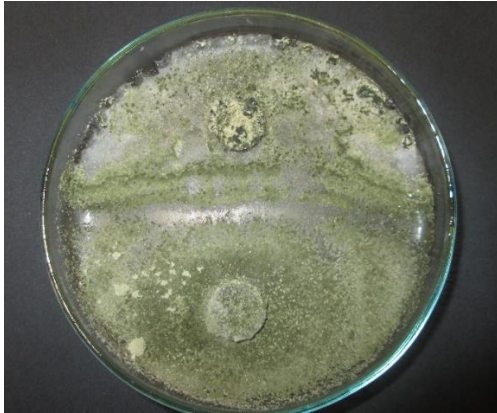
día sexto hasta el día 50 después se sumó a este mecanismo de biocontrol el micoparasitismo.

Fotografía 1: T1 *Rosellinia spp.* , vs *Trichoderma spp.* , fuente 1 a los 50 días



Tomado por: Ger Tamar, 2013

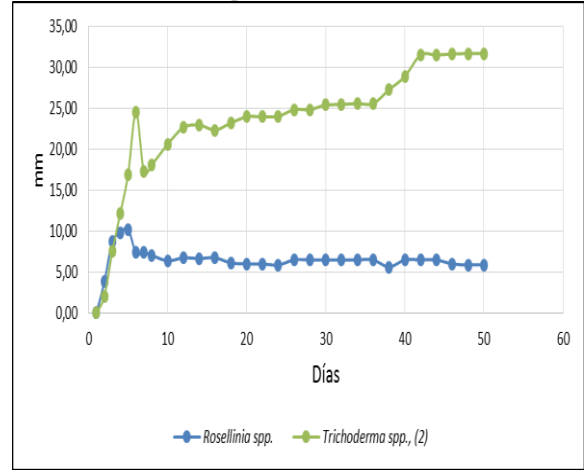
Fotografía 2: Tipo de Antagonismo presentó la Fuente 1 de *Trichoderma spp.*



Tomada por: Ger Tamar, 2014

3.4.2. *Trichoderma spp.* , fuente 2

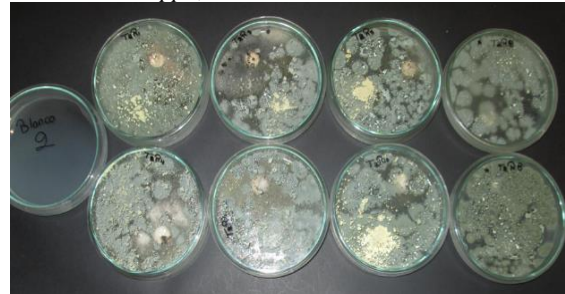
Gráfica 2: Resultados, del tipo de antagonismo de la distancia inferior de *Rosellinia spp.* , y distancia superior *Trichoderma spp.* , fuente (2) T2, a los 50 días después de su siembra.



Elaborado por: Ger Tamar, 2014

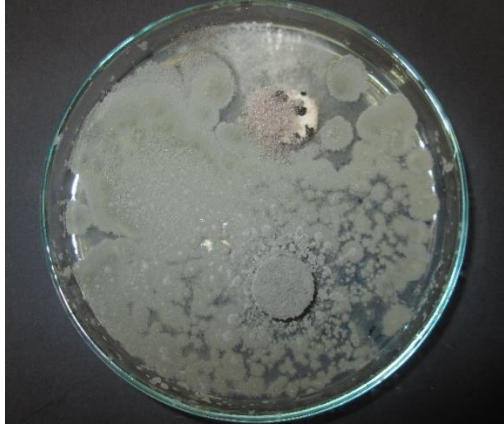
El tratamiento T2 *Rosellinia spp.* , vs *Trichoderma spp.* , según la gráfica 10 y los datos obtenidos se afirmó que en *Trichoderma spp.* , fuente 2, el mecanismo de biocontrol que se presentó exclusivamente fue la competencia de nutrientes y espacio durante los primeros 6 días después de la siembra, desde el día séptimo hasta el día 50 después se suma a este mecanismo de biocontrol el micoparasitismo.

Fotografía 17: T2 *Rosellinia spp.* , vs *Trichoderma spp.* , fuente 2 a los 50 días



Tomado por: Ger Tamar, 2013

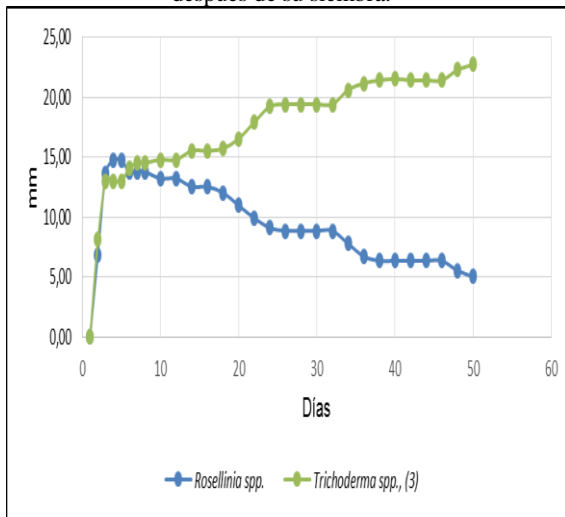
Fotografía 3: Tipo de antagonismo que presentó la Fuente 2 de *Trichoderma spp.*



Tomada por: Ger Tamar, 2014.

3.4.3. *Trichoderma spp.* , fuente 3

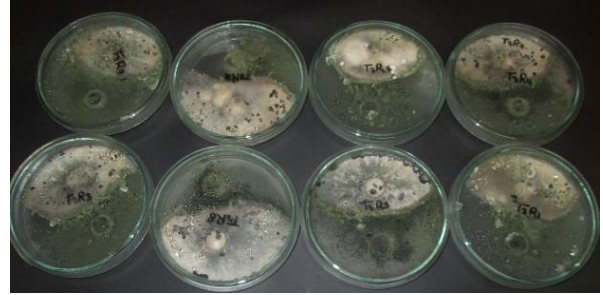
Gráfica 3: Resultados, del tipo de antagonismo de la distancia inferior de *Rosellinia spp.* , y distancia superior *Trichoderma spp.* , fuente (3) T3, a los 50 días después de su siembra.



Elaborado por: Ger Tamar, 2014.

Trichoderma spp. , fuente 3, el mecanismo de biocontrol que se presentó exclusivamente es la competencia de nutrientes y espacio durante los primeros 4 días después de la siembra hasta los 50 días.

Fotografía 19: T3 *Rosellinia spp.* , vs *Trichoderma spp.* , fuente 3 a los 50 días



Tomado por: Ger Tamar, 2013

Fotografía 4: Tipo de antagonismo que presentó la Fuente 3 de *Trichoderma spp.*



Tomada por: Ger Tamar, 2014

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

4.1. Conclusiones.

- 1) Con los postulados de Koch se comprobó que la pudrición blanca de los tubérculos analizados es causada por *Rosellinia spp.* , comprobando la patogenicidad del patógeno mediante los postulados de Koch en su hospedante papa (*Solanum Tuberosum L.*)
- 2) En los análisis de identificación efectuados tanto en los laboratorios de la UPEC y el INIAP se observó las estructuras y el comportamiento de *Rosellinia spp.*
- 3) La fuentes comerciales analizadas presentan esporas viables de *Trichoderma spp.*
- 4) El tratamiento 1, (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), controla Lanosa (*Rosellinia spp.*) ocupando el 100% de la unidad experimental a los 50

días después de su siembra, mediante micoparasitismo y competencia por espacio y nutrientes como mecanismo de biocontrol.

- 5) Bajo las condiciones de laboratorio se confirmó que el tratamiento T1 (*Rosellinia spp.*, vs *Trichoderma spp.*, fuente 1), fue la fuente comercial que presentó mejores tasas de crecimiento, tal y como quedó demostrado en el espacio ocupado con 1,99 mm / día, cubrimiento total de la unidad experimental.
- 6) Los tratamientos; *Trichoderma spp.*, fuente 2 (T2) y *Trichoderma spp.*, fuente 3 (T3), presentaron competencia por espacio y nutrientes como mecanismo de biocontrol deteniendo el crecimiento del patógeno.
- 7) Los testigos químicos T6 (Tiabendazol), T7 (Benomil) y T8 (Tiofanato de metilo) fueron de acción rápida pero sus moléculas se degradaron en menos tiempo por lo que su efecto solo duro unos días, al contrario de los antagonistas su mecanismo de biocontrol fue lento pero prevaleció su acción

4.2. Recomendaciones.

- 1) Evaluar en campo el comportamiento de los productos comerciales a base de *Trichoderma spp.*, con respecto al biocontrol de lanosa (*Rosellinia spp.*) para conocer las frecuencia y dosis de aplicación.
- 2) En los productos químicos aplicar las dosis siguiendo las instrucciones de los intervalos de aplicación recomendados por el fabricante.
- 3) Para futuras investigaciones utilizar un mayor número de cepas de *Trichoderma* reconociendo las especies, para conocer de mejor manera el comportamiento de este antagonista frente al patógeno *Rosellinia spp.*
- 4) Realizar otras investigaciones con respeto al hongo *Trichoderma* versus otros hongos patógenos de importancia en nuestro sector agrícola como: Lancha (*Phytophthora infestans*), Tizón Temprano (*Alternaria solani*), Roya (*Puccinia pittieriana*), Sarna negra (*Rhizoctonia solani*) para conocer las

interacciones antagonistas de estos hongos como biocontroladores

5. BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. (1995). *Fitopatología*. México: Segunda edición. Limusa.
- Agronomía, L. U. (Octubre de 2009). *Trichoderma en el Control Biológico de Enfermedades de Plantas Capacidad antagonista de Trichoderma*. Recuperado el 02 de Marzo de 2013, de Ecología en la Red: <http://www.oocities.org/ecologialuz/trichoderma6.htm>
- Ahmad, J., & Baker, R. (1987). Rhizosphere Competence of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathol.*
- Albert, L. (1998). *Los plaguicidas persistentes y sus efectos a largo plazo*. Mexico: II Simposio Internacional Sobre.
- Ayala, L. (1987). Resistencia varietal, rango de hospedante e identificación del agente causal de la Lanosa de la papa. En L. Ayala, *Resistencia varietal, rango de hospedante e identificación del agente causal de la Lanosa de la papa* (pág. 89). Quito: Tesis Ciencias Biologicas. Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- ALVAREZ, M. 1989. Resistencia a los fungicidas, fundamentos y aspectos prácticos. En: Latorre B. 1989. Fungicidas y nematicidas, avances y aplicabilidad. Facultad de Agronomía. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. pp 125 - 130.
- B.R., E. (2000). *LA PAPA Producción, Transformación y Comercialización*. Lima : PRISMA .
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. (2004). Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*.
- Besoain, X. (1989). Benzimidazoles. En X. Besoain, *Fungicidas y nematicidas, avances y aplicabilidad* (págs. 17-25).

- Santiago, Chile: Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Bolaños, A. (1998). *INTRODUCCIÓN A LA OLERICULTURA*. Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia San José, Costa Rica.
- Booth, C., & Holliday, P. (1972). *Rosellinia pepo*. En C. Booth, & P. Holliday, *Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria* (págs. N° 354, 2 p.). England: Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey.
- Camargo, H. (2005). *Evaluación en campo de la incidencia de Rhizoctonia solani en arroz (Oriza sativa), luego de la inoculación en semillas de un formulado comercial a base de antagonista Trichoderma harzianum*.
- Carrillo, R. (1992). Características de los principales grupos de fungicidas. En *Curso de uso manejo de plaguicidas* (págs. 122-163). Valdivia, Chile: Universidad Austral de Chile.
- CASTAÑO, J. C. (2008). *EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTAGONISTA "in vivo" DE AISLAMIENTO DE Trichoderma spp FRENTE AL HONGO FITOPATOGENO Rhizoctonia solani*. Bogota: PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA FACULTAD DE CIENCIAS.
- CENSA. (2009). *MECANISMOS DE ACCIÓN DE Trichoderma FRENTE A HONGOS*. La Habana: Rev. Protección Veg. Vol. 24 No.
- Chet, I. (1987). Trichoderma-application mode of action and potencial as biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. New York: En I. Chet, ed. *Inovative approaches to plant disease control*.
- Chet, I. I., & Hadar, I. (1997). 1997. En S. B. *Fungal antagonists and mycoparasites*. In: Wicklow DT. Springer-Verlag, Berlin: Environmental and microbial relationship.
- Chet, I., & R. B. (1981). En *Insolation and biocontrol potential of Trichoderma hamatum from soil naturally suppressive to Rhizoctonia solani: Phytopathology* (págs. 71:286-290).
- CIP. (1996). *Principales Enfermedades, Nematodos e Onsectos de la Papa*. Lima: CENTRO INTERNACIONAL DE LA PAPA (CIP).
- CIP. (1998). *Pudrición Negra por Rosellinia*. Perú: Universidad Nacional Hermilio.
- Cook, R. J., & Baker, R. (1983). *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. St. Paul, Minnesota: American Phytopathological Society.
- CORPOICA. (2000). *Semilla de papa de buena calidad*. Bogota: PRODUMEDIOS.
- CORPOICA. (2003). *Manual de Papa para Productores*. Colombia: La Bastilla Ltda.
- Danay Infante, B. M. (2009). *MECANISMOS DE ACCIÓN DE Trichoderma FRENTE A HONGOS*. Dpto. Fitopatología, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), 14.
- Dargan, Thind, & Rodriguez. (1979-1989). *The genus Rosellinia in the northwest Himalayas; Mycologia 71:1010-1923*. India: Xylariaceae of India VII.
- Duarte, & González. (2000). *APROXIMACIÓN A UN MANEJO INTEGRADO DE Rosellinia sp. EN PAPA (Solanum tuberosum L.)*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Elad, Y., & Chet, I. (1982). Degradation of plant pathogenic fungus by Trichoderma harzianum. En *Canadian Journal of microbiology* (págs. 28:719-725).
- Ellis, M. B., & Ellis, J. P. (1985). Microfungi on land plants. En M. B. Ellis, & J. P. Ellis, *Microfungi on land plants* (pág. 231 pp.). New York: Macmillan P.C.
- ESPAC. (2010). *Boletín Agropecuario Mensual*. Ecuador: Ecuador en Cifras, MAGAP.
- Espinosa, M. (2006). *SELECCIÓN PARTICIPATIVA DE CLONES PROMISORIOS DE PAPA (Solanum sp.) CON RESISTENCIA A TIZÓN TARDIO (Phytophthora infestans) PROVENIENTES DE VARIAS FUENTES DOS LOCALIDADES 2006*. Quito: INIAP Estacion Santa Catalina.
- FAO. (2006). *Tesoro enterrado: la papa*.

- FAO. (2007). *“Tesoro enterrado: La papa.”*. ecológica. Francia: Monográficos Ekonekazaritza.
- FAZ-UJED. (2003). *AGRICULTURA ORGÁNICA*. Mexico: Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, COCyTED.
- FIA. (2008). Biocontrol de enfermedades fungosas con Trichodermas. En F. p. Agraria. Chile: Ministerio de Agricultura. Obtenido de http://bibliotecadigital.innovacionagraria.cl/.../62_Libro_Trichoderma.pdf
- FITOPATOLOGIA 1 JAM. (24 de Marzo de 2012). HONGO ROSELLINIA. ESCUINTLA.
- FODA. (24 de 11 de 2013). *Producción de papas*. Obtenido de <http://jdsproducciondepapas.blogspot.com/>
- French, E. R., & Hobert, T. T. (1982). Métodos de investigación fitopatológica. En E. R. French, & T. T. Hobert, *Métodos de investigación fitopatológica*. (pág. 290). San José - Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).
- FUNDAGRO. (1991). *Aspectos Tecnológicos del Cultivo de Papa*. Quito- Ecuador: Fundación para el Desarrollo Agropecuario.
- González, i. (1989). *Introducción a la Fitopatología*. San José de Costa Rica: UCA.
- Guerrero, O. (1984). Enfermedades de la papa y su influencia en la producción de semilla. En curso de producción y almacenamiento de semilla de papa. En O. Guerrero, *Enfermedades de la papa y su influencia en la producción de semilla* (págs. 31-47). Ipiiales: ICA.
- GUZMÁN, R. C. (2010). *INTERACCIÓN DE CUATRO FOSFONATOS MÁS Trichoderma harzianum PARA EL CONTROL DE LANCHA DE PAPA (Phytophthora infestans), A NIVEL DE LABORATORIO*. RIOBAMBA-ECUADOR: ESCUELA POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.
- Halsouet, P., & Miñambres, M. (2005). *La Patata ; Manual para su cultivo en agricultura*
- Harman, G. E., Howell, C. R., & Vierbo, A. (2004). Trichoderma species opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews.
- Hawkes, J. (1990). The potato: Evolution, biodiversity and genetic resources. En J. Hawkes, *The potato: Evolution, biodiversity and genetic resources* (pág. 259). Londres: Belhaven Press.
- HERRERA, I. E. (2012). *HONGO ROSELLINIA*. UNIVERSIDAD RAFAEL LANDIVAR, SEDE ESCUINTLA.
- Horton, D. (1992). *La Papa Producción, Comercialización y Programas*. Montevideo : Centro Internacional de la Papa.
- Howell, C. (1998). The role of antibiosis in biocontrol In: Harman GE, Kubicek CP. Trichoderma y Gliocladium , vol 2 Taylor & Francis. Padstow.
- Howell, C. (2003). Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases: and evolution of current concepts. Plant Dis.
- Huertas, G. (1990). Sanidad Vegetal. En G. Huertas, *Sanidad Vegetal* (págs. 33-167). Bogota: Reimpresión; 1 ra Edición 1985.
- ICA. (2011). *Manejo fitosanitario de la papa*. Bogotá: <http://www.ica.gov.co/getattachment/b2645c33-d4b4-4d9d-84ac->
- ICA. (2011). *PROGRAMA COOPERATIVO DE INVESTIGACION AGRÍCOLA PARA LA SUBREGION ANDINA PROCIANDINO*. Pasto, Riobamaba: <http://books.google.com.ec/books?id=Wd4Q6HABeYsC&pg=>
- Infante, D., Martínez, B., Gonzáles, N., & Reyes, Y. (2009). *Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos*. Rev. Protección Veg. 24:14-21.
- INIAP. (1984). *MANUAL DEL CULTIVO DE PAPA*. Quito: INIAP.

- INIAP. (1998). *VARIETADES DE PAPA CULTIVADAS EN EL ECUADOR*. Quito: INIAP PNRT-FORTIPAPA.
- INIAP-CIP. (2002). *EL CULTIVO DE PAPA EN ECUADOR*. Quito.
- INIAP-CIP-BID, P. (1997). *Memorias del curso: "Manejo integrado de las principales plagas y enfermedades del cultivo de papa"*. Quito.
- Lauwerys, R. (1998). *Control Biológico*. Berlin.
- López, Á. J. (08 de Noviembre de 2013). *RODAS*. Obtenido de RODAS: <http://rodas.us.es/file/b1efec64-4f95-dd56-8ef4->
- López, Á. J. (23 de 04 de 2013). *RODAS*. Recuperado el 04 de 05 de 2013, de RODAS: [http://rodas.us.es/file/b1efec64-4f95-dd56-8ef4-6](http://rodas.us.es/file/b1efec64-4f95-dd56-8ef4-)
- Lopez, G., & Gonzales, P. A. (2004). *Selección de cepas nativas de Trichoderma spp., con actividad sobre Phytophthora capsici Leonian y promotoras de crecimiento en el cultivo de chile(Capsicum L.)*. Revista mexicana 22:117-124.
- Mollison, B. (1988). *Permaculture A Designer Manual*. Rincones del Atlántico.
- Moreira, L. (1994). *Impacto Negativos de los Agroquímicos y su efecto en la Sociedad*. Nueva Gerona: Universidad Jesús Montané Oropesa.
- Nicole, M., Ruel, K., & Ovellette, B. (1994). Fine Morphology of fungal structures involved in host wall alteration. USA: Host wall alteration by parasitic Fungy.
- Núñez, G., Nava , U., & Jiménez, F. (2003). *Agricultura Orgánica*. Mexico: FAZ-UJED.
- Ochoa, J. (1999). *"Las papas de Sudamérica Perú,"*. Lawrence: Centro Internacional de la Papa, .
- Orellana, H. (1978). En *Estudio de Lanosa de la papa en Ecuador* (págs. 13:61-66). Quito: Fitopatología.
- Orellana, H. (1987). *Microrbiología Vegetal*. Quito: Universidad Central del Ecuador. Poligrafiado p.p. 48-50.
- Ortega, E. (1998). *Sistemas Alimentarios de Raíces y Tuberculos* . Monangas : FONAIAP.
- Papavizas, G. C. (1984). Trichodermas and gliocladium: biology, ecology, and potential for biocontrol. En G. C. Papavizas, *Trichodermas and gliocladium: biology, ecology, and potential for biocontrol* (págs. 23-54). Annual review of phytopathology .
- Pérez"(UNAH)., F. R. (2009). MECANISMOS DE ACCIÓN DE Trichoderma FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS. *Revista de Protección Vegetal versión On-line ISSN 2224-4697*, 21 (<http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v24n1/rpv02109.pdf>).
- Pérez, J., & Soler, C. (2007). *Nutrición energética y salud* . España : Debolsillo .
- PROCIANDINO. (1988). *IV Seminario. Sistemas de Producción en Papa: Manejo de Plagas y Enfermedades*. Quito: B. Ramakrishna.
- PROCIANDINO. (1989). *II CURSO CORTO PRUEBAS EN FINCA*. Pasto, Riobamba: ICA-BID.
- Pumisacho, M., & Sherwood, S. (2002). *EL CULTIVO DE PAPA EN EL ECUADOR*. Quito: Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).
- Pumisacho, M., & Velásquez, J. (2009). *Manual del Cultivo de papa para pequeños productores*. Quito: INIAP-COSUDE.
- Rodriguez, R. A. (1958). *Torbo a tropical disease of potatoes*. Costa Rica: Plant Dis. Rep.42:972-980.
- Sifuentes, E., Cervantes, J., Apodaca, M., & Cortez, E. (2006). *Predicción de la fenología de la papa*. Sinaloa: FUNDACIÓN PRODUCE.Campo Experimental Valle del Fuerte.
- Sivanasen, A., & Holliday, P. (1972). Rosellinia bunodes. En A. Sivanasen, & P. Holliday, *Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria* (págs. N° 351,2 p.). England: Commoonwealth Mycological Instiute . Kew , Surry.
- Torres, M. (1998). *Prospección y etiología del sogoge en las zonas productoras de papa*

de la Provincia de Pachitea. Huánuco,
Perú: Tesis Ing. Agrónomo .Universidad
Nacional Hemilio Valdizán.

- Turkensteen, L. J., & Hooker, W. J. (1981).
Rosellinia Black Rot. En L. J.
Turkensteen, *Compendium of Potato
Diseases* (págs. N° 125p. 51-52).
American Phytopathological Society.
St.Paul. MN.
- Vargas, M. (1990). *La Rosellinia del cacao*.
Bogotá: BNC.
- Vivian Quiroz, R. F. (2008). Antagonismo in vitro
de cepas de Aspergillus y Trichoderma
hacia hongos filamentosos que afectan al
cultivo del ajo. *Área de Microbiología,
Colegio de Postgraduados Campus
Montecillo*, 5.
- Watanabe, T. (1937). Pictorial Atlas of soil and
Seed Fungi Morphologies of cultured
Fungi and Key to Species. Japon: Soft
Science Publications.
- Yepez, A. (1976). *Influencia del pH y la
humedad del suelo en el desarrollo de la
"lanosa" de la papa y su control químico
bajo condiciones de invernadero*. Quito:
Tesis.Ing. Agrónomo Universidad
Central del Ecuador.
- Yusimy Reyes, B. M. (2008). EVALUACIÓN DE
LA ACTIVIDAD ANTAGÓNICA DE
TRECE AISLAMIENTOS DE
Trichodermas spp. FRENTE Rhizoctonia
sp. *Rev. Protección Veg. Vol. 23
No.Dpto. Biología y Sanidad Vegetal,
Universidad Agraria de La Habana
(UNAH)*., 112.

