

**Movimiento de *Trichoderma harzianum* en un
suelo de textura media cultivado con pepino
(*Cucumis sativa*), suministrado a una y dos horas
en el sistema de riego por goteo en El Zamorano,
Honduras**

Javier Mantilla Compte

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2007

ZAMORANO

Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria

Movimiento de *Trichoderma harzianum* en un suelo de textura media cultivado con pepino (*Cucumis sativa*), suministrado a una y dos horas en el sistema de riego por goteo en El Zamorano, Honduras

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura

Javier Mantilla Compte

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2007.

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas y jurídicas se reservan los derechos de autor.

Javier Mantilla Compte

Zamorano
Diciembre, 2007

Movimiento de *Trichoderma harzianum* en un suelo de textura media cultivado con pepino (*Cucumis sativa*), suministrado a una y dos horas en el sistema de riego por goteo en El Zamorano, Honduras

Presentado por:

Javier Mantilla Compte

Aprobada:

Rogelio Trabanino, M.Sc.
Asesor Principal

Miguel Vélez, Ph.D.
Director de la Carrera
de Ciencia y Producción
Agropecuaria

Alfredo Rueda, Ph.D.
Asesor

Raúl Espinal, Ph.D.
Decano Académico

Phil Arneson, Ph.D.
Asesor

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

Abelino Pitty, Ph.D.
Coordinador Área Fitotecnia

DEDICATORIA

A Dios y a mi familia.

AGRADECIMIENTOS

A Dios.

A mi familia por brindarme la oportunidad.

Al Ing. Rogelio Trabanino por sus consejos y apoyo.

Al Dr. Alfredo Rueda por su tiempo y esfuerzo.

Al Dr. Phil Arneson por su aporte y colaboración.

Al Ing. Diego Cedeño por toda su ayuda y amistad.

Al personal del laboratorio y las personas que me apoyaron durante el estudio.

A mis amigos por estos cuatro años de amistad y experiencias.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

A mi familia.

A IPM-CRSP.

RESUMEN

Mantilla, Javier. Movimiento de *Trichoderma harzianum* en un suelo de textura media cultivado con pepino (*Cucumis sativa*), suministrado a una y dos horas en el sistema de riego por goteo en El Zamorano, Honduras. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. El Zamorano, Honduras, 8 p.

Para monitorear el movimiento de *Trichoderma harzianum* en un suelo franco arcillo arenoso con pepino (*Cucumis sativa*) se realizó un estudio factorial $2 \times 2 \times 2$ con parcelas divididas en el tiempo. Se evaluó *Trichoderma harzianum* con y sin adherente y un testigo sin *Trichoderma harzianum* bajo dos regimenes de riego por goteo (una y dos horas por aplicación) en El Zamorano, Honduras. Se tomaron muestras de suelo a 10, 20 y 30 cm de profundidad a los 5, 10, 15 y 20 días después de las aplicaciones. Se encontró presencia de *Trichoderma harzianum* en todas las profundidades muestreadas. No se encontró diferencia en las horas de riego ni el uso de adherente. Los testigos se mantuvieron sin presencia de *Trichoderma harzianum*.

Palabras clave: Adherente, franco arcillo arenoso y riego por goteo.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Autoría.....	ii
Página de firmas.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Agradecimiento a patrocinadores.....	vi
Resumen.....	vii
Contenido.....	viii
Índice de cuadros.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
MATERIALES Y MÉTODOS.....	2
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	4
CONCLUSIONES.....	6
RECOMENDACIONES.....	7
LITERATURA CITADA.....	8

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro

1	Condiciones climáticas durante el estudio en El Zamorano, Honduras, 2007.....	2
2	Análisis de suelo del lote 14 en la zona de producción hortícola en El Zamorano, Honduras, Mayo 2007.....	2
3	Presencia de <i>Trichoderma harzianum</i> en el suelo después de ser aplicado a una y dos horas de riego por goteo en el cultivo de pepino en El Zamorano, Honduras, Julio 2007.....	5
4	Presencia de <i>Trichoderma harzianum</i> en el suelo a diferentes días después de su aplicación por riego por goteo en el cultivo de pepino en El Zamorano. Honduras, Julio 2007.....	5

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los mercados exigen alimentos saludables mediante una producción ecológica. El uso de productos biológicos promueve la agricultura orgánica y la reducción del uso de pesticidas químicos que favorecen el desarrollo de resistencia de las plagas y enfermedades.

Trichoderma spp. es un hongo anaeróbico facultativo sin un estado sexual determinado del cual se propagaron varias especies, siendo la más común *Trichoderma harzianum*. Fue identificado en el año 1871 por Haz, fecha desde la cual ha sido estudiado. Es parte del grupo de los Hyphomicetes y miembro de la familia Moniliceae, de la que también forman parte *Fusarium* y *Monilina*. Este hongo presenta un micelio blanco, el que en pocos días toma color oscuro por la aparición de las estructuras reproductivas (conidias). Además, presenta una fase sexual poco común, en la que toma el nombre de *Hypocrea* (Cook y Baker 1989). Después de la Segunda Guerra Mundial comenzó a ser utilizado como degradador de celulosa y desde ese momento se ha utilizado en la industria química, textil, alimenticia y la del control biológico (Kubicek y Harman 1998).

Trichoderma es predominante en el suelo y microflora en diversos hábitats, debido a esto se le puede atribuir su capacidad metabólica y su agresividad de competencia con la naturaleza (Kubicek y Harman 1998). Posee desarrollo y crecimiento rápido, tolerancia a condiciones ambientales extremas y puede sobrevivir a concentraciones significativas de pesticidas; lo que facilita su producción para la agricultura. El efecto principal de este hongo es el de hiperparasitismo, que es la acción de un microorganismo que parasita a otro organismo de su misma naturaleza y puede ser definido como una simbiosis antagónica entre los organismos. El hongo coloniza las raíces formando una capa protectora y aumentando el área de absorción (Trabanino *et al.* 2002).

El uso de productos biológicos se ha convertido en una alternativa viable para los agricultores. Ellos necesitan de información e investigaciones para poder hacer un uso adecuado de estos productos. *Trichoderma harzianum* es un producto biológico muy utilizado en la actualidad. Es necesario saber cuánto viajan sus esporas en el suelo y si existe movimiento hacia diferentes profundidades en el suelo al incrementar o disminuir el régimen de riego.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo entre mayo y agosto de 2007 en la zona de producción hortícola (Zona 2) en el lote 14 de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP), ubicada a 800 msnm, con una precipitación anual de 1,100 mm y una temperatura media anual de 24°C (Cuadro 1) en el Valle del Yeguaré, Francisco Morazán, Honduras. El lote fue de 45 y 36 m. Un suelo franco arcillo arenoso con una profundidad efectiva de 35 cm adecuadamente provisto de nutrientes excepto nitrógeno (Cuadro 2).

Cuadro 1. Condiciones climáticas durante el estudio en El Zamorano, Honduras, 2007.

Mes	Precipitación (mm)	Riego (mm)	Temperatura ° C		
			Mínima	Máxima	Promedio
Mayo	62.6	30	18.5	32.9	25.3
Junio	105.8	40	19.4	30.9	23.9
Julio	80.6	60	18.1	30.4	23.0
Agosto	88.5	50	18.2	31.3	24.7

Cuadro 2. Análisis de suelo del lote 14 en la zona de producción hortícola en El Zamorano, Honduras, Mayo 2007.

pH	%		ppm (extractable)					mmhos/cm
	M.O. Bajo	N Total Bajo	P Alto	K Alto	Ca Medio	Mg Bajo	Na Normal	C.E. No Salino
6.65	1.92	0.1	162.46	476	2140	150	217.5	0.83

Materia Orgánica (M.O.) y Conductividad Eléctrica (C.E.).

Se realizó un muestreo del suelo con un barreno a 10, 20 y 30 cm de profundidad, para determinar la presencia de *T. harzianum* como consecuencia aplicaciones anteriores. Se tomaron 48 muestras al azar de 10 g de suelo y se llevaron al laboratorio de Control Biológico de El Zamorano. Las muestras se secaron a temperatura ambiente y luego se realizó una suspensión de 1 g de suelo seco en 9 mL de agua esterilizada en un erlenmeyer. A continuación, en placas petri con papa agar dextrosa (PDA), se sembraron tres gotas de la solución. Después de siete días visualmente y mediante un microscopio se determinó la presencia de *T. harzianum* en las muestras de suelo.

Se evaluaron cinco tratamientos con cuatro repeticiones para un total de 20 unidades experimentales. Cada unidad experimental consistió con una cama de 45 m × 0.80 m. Se sembraron 300 plántulas de pepino (*Cucumis sativa*) de la variedad Poinsett 76 en cada unidad experimental. Se instaló un sistema de riego por goteo con un caudal de 4 L por metro lineal por hora, con válvulas independientes para cada cama y una bomba de inyección para realizar las aplicaciones.

Diez días después de la siembra de pepino, se aplicó la dosis recomendada de 240 g/ha de *T. harzianum*. Diez días después, con el suelo saturado y con una distribución uniforme del hongo en el suelo, se aplicaron dos fungicidas, Carbendazim (Derosal) y Propamocarb (Previcur) de Bayer. Se preparó una solución a razón 2 mL de Carbendazim y 1 mL Propamocarb por litro de agua, esta solución se aplicó a razón de 1 L por cada 20 plantas. Las aplicaciones se hicieron por el riego por goteo utilizando la bomba de inyección. El objetivo de estas aplicaciones fue determinar la efectividad de los dos fungicidas para eliminar la presencia de *T. harzianum* en suelo y raíces.

Se tomaron 48 muestras de suelo al azar a 10, 20 y 30 cm de profundidad que ratificaron que el fungicida eliminó el hongo del suelo. También se tomaron muestras de raíces. Se lavaron con agua esterilizada, se cortaron a 3 cm de largo y se sembraron en las placas petri con PDA. Se colocó una raíz por placa y un total de 48 placas. Después de tres días se determinó la presencia o ausencia de *T. harzianum* en las placas.

Posteriormente, se aplicaron los cinco tratamientos establecidos: *T. harzianum* con y sin adherente¹ durante una y dos horas de riego por goteo y un testigo. Se aplicó la dosis recomendada de 240 g/ha de *T. harzianum* mediante la bomba de inyección. Se tomaron muestras de 10 g de suelo a 10, 20 y 30 cm con un barreno después de 5 y 10 días de realizada la primera aplicación, y 5 y 10 días de realizada la segunda aplicación. Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Control Biológico y se realizó el mismo procedimiento para determinar la presencia de *Trichoderma harzianum* en el suelo y raíces.

Se usó un factorial $2 \times 2 \times 2$ con parcelas divididas en el tiempo. Se hizo un análisis de varianza y separación de medias Tukey mediante el programa estadístico MINITAB con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

¹ Adherente 810 SL de Bayer CropScience.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los fungicidas Carbendazim y Propamocarb eliminaron *T. harzianum* presente en el suelo cuando fue aplicado por riego por goteo pero no eliminaron su presencia en las raíces. Silva *et al.* (1999) determinaron que *T. harzianum* es resistente a ciertos fungicidas específicamente a: Benomyl e Iprodion. Kubicek y Harman (1998) atribuyen este hecho a que las esporas de *T. harzianum* en el suelo se encuentran en un estado de dormancia y al colonizar las raíces aumentan su actividad y la producción de enzimas, antibióticos y metabolitos secundarios y han reconocido la resistencia de especies de *Trichoderma* spp. a ciertos fungicidas como formalina, bisulfato de carbono, allyl alcohol y bromuro de metilo.

Una vez realizadas las aplicaciones se encontró presencia de *T. harzianum* en 10, 20 y 30 cm en todos los tratamientos excepto el testigo. Estos resultados concuerdan con Sariah *et al.* (2005) quienes encontraron presencia de *T. harzianum* en profundidades de 0-30 cm y de 30-60 cm en suelos con palma africana y suelos sin cultivo.

No existió diferencia ($p > 0.05$) en la presencia de *T. harzianum* entre las aplicaciones con una y dos horas de riego, con y sin adherente y en los días después de la aplicación (Cuadro 3). *T. harzianum* se encontró desde el día cinco hasta el día 20 posterior a la aplicación (Cuadro 4). Estos datos concuerdan con las pruebas de ADN e inoculaciones de Queiroz *et al.* (2004) que determinaron que *Trichoderma harzianum* puede persistir en el suelo durante cuatro semanas.

Cuadro 3. Presencia de *Trichoderma harzianum* en el suelo después de ser aplicado a una y dos horas de riego por goteo en el cultivo de pepino en El Zamorano, Honduras, Julio 2007.

Tratamientos	Profundidad (cm)	Presencia %
<i>Trichoderma</i> con una hora de riego	10	81 ^{aΩ}
<i>Trichoderma</i> con dos horas de riego	10	87 ^a
<i>Trichoderma</i> +Adherente con una hora de riego	10	75a
<i>Trichoderma</i> +Adherente con dos horas de riego	10	75a
Testigo	10	0b
<i>Trichoderma</i> con una hora de riego	20	87a
<i>Trichoderma</i> con dos horas de riego	20	82a
<i>Trichoderma</i> +Adherente con una hora de riego	20	93a
<i>Trichoderma</i> +Adherente con dos horas de riego	20	93a
Testigo	20	0b
<i>Trichoderma</i> con una hora de riego	30	87a
<i>Trichoderma</i> con dos horas de riego	30	68a
<i>Trichoderma</i> +Adherente con una hora de riego	30	70a
<i>Trichoderma</i> +Adherente con dos horas de riego	30	87a
Testigo	30	0b

^ΩValores con igual letra no difieren significativamente ($P < 0.05$) según la prueba Tukey.

Cuadro 4. Presencia de *Trichoderma harzianum* en el suelo a diferentes días después de su aplicación por riego por goteo en el cultivo de pepino en El Zamorano. Honduras, Julio 2007.

Días después de aplicación	Presencia %
5	79
10	81
15	89
20	85

CONCLUSIONES

- Los fungicidas Carbendazim y Propamocarb eliminan la presencia de *T. harzianum* en el suelo, pero no en las raíces.
- No hay diferencia en el movimiento de *T. harzianum* del suelo al aumentar el riego por goteo de una hora a dos horas ni al agregar adherente.
- Hay presencia de *T. harzianum* en el suelo hasta 20 días después de ser aplicado por el sistema de riego por goteo.

RECOMENDACIONES

- Evaluar la resistencia de *T. harzianum* a diferentes fungicidas en el suelo y en las raíces.
- Evaluar la cantidad de materia orgánica y humedad que promuevan el desarrollo y movilidad del hongo dentro del suelo.
- Repetir estudios similares en suelos más profundos y de diferentes texturas.
- Repetir el mismo estudio en la época seca.

LITERATURA CITADA

- Cook, J.R. y Baker, K.F. 1989. The nature and practice of biological control of plant pathogens. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA. 539 p.
- Goettel, M.S. y Inglis, G.D. 1997. Fungi: Hyphomycetes. In: L. A. Lacey (ed), Manual of Techniques in Insect Pathology Academic Press, London, UK. 213-249 p.
- Kubicek, C.P. y Harman, G.E. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium*. Taylor and Francies Ltd. London, UK. 1:57-69 p.
- Queiroz, P.R., Valadares M.C. y Ward P. 2004. Survival in soil and detection of co-transformed *Trichoderma harzianum* by nested PCR. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. (en línea). Consultado el 3 de septiembre de 2007. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-204X2004000400015&script=sci_arttext
- Sariah, M., Choo C.W., Zakaria H. y Norihan M.S. 2005. Quantification and characterization of *Trichoderma* spp. from different ecosystems. Department of Plant Protection. Universiti Putra Malaysia. Springer, Selangor, Malasia. 159:113-117 p.
- Silva, A.C.F., Echeveste G.R. y Soares R.I. 1999. Sensibility of *Trichoderma* spp. isolates to benomyl and iprodione. Ciencia Rural, Santa Maria, Brasil. 29:395-399 p.
- Trabanino, R., Kuniyoshi C. y Rueda A. 2002. Beneficios y aplicaciones del *Trichoderma* spp. Escuela Agrícola Panamericana. El Zamorano. (en línea). Consultado el junio 5 de 2007. Disponible en: http://www.ashs.org/isth/internas/meetings_001.html