

**Evaluación de cuatro cepas de *Trichoderma*
sp. y sus combinaciones para el control de
Fusarium sp. en sandía (*Citrullus lanatus*)**

Gabriel Alejandro Rosero Asqui

**Zamorano, Honduras
Diciembre, 2008**

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

Evaluación de cuatro cepas de *Trichoderma* sp. y sus combinaciones para el control de *Fusarium* sp. en sandía (*Citrullus lanatus*)

Proyecto especial presentada como requisito parcial para optar al título de
Ingeniero Agrónomo en el grado académico de Licenciatura

Presentado por:

Gabriel Alejandro Rosero Asqui

**Zamorano, Honduras
Diciembre, 2008**

Evaluación de cuatro cepas de *Trichoderma* sp. y sus combinaciones para el control de *Fusarium* sp. en sandía (*Citrullus lanatus*)

Presentado por:

Gabriel Alejandro Rosero Asqui

Aprobado:

Rogelio Trabanino, M.Sc.
Asesor principal

Miguel Vélez, Ph.D.
Director de la Carrera
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

Leonela Ramos, Ing. Agr.
Asesora

Abelino Pitty, Ph.D.
Coordinador de Fitotecnia

RESUMEN

Rosero, Gabriel Alejandro. 2008. Evaluación de cuatro cepas de *Trichoderma* sp. para el control de *Fusarium* sp. en sandía (*Citrullus lanatus*). Proyecto especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 19p.

La marchitez vascular es común en sandía y es causada por hongos patógenos como *Fusarium*. Actualmente se utiliza Trichozam[®] (Fungicida biológico a base de *Trichoderma* sp.) en una amplia variedad de cultivos hortícolas. Éste ayuda a reducir el uso de agroquímicos y los costos de producción, y a incrementar los rendimientos por área. El objetivo del estudio fue evaluar seis combinaciones de cuatro cepas de *Trichoderma* sp. (Cepa comercial de Zamorano EAP, aislamientos obtenidos de Choluteca y en Costa Rica, y *Trichoderma koningii*) en laboratorio y dos combinaciones en plántulas e invernadero para el control de *Fusarium* sp. en plantas de sandía. En laboratorio se evaluó: crecimiento, producción y viabilidad de conidias, antagonismo entre las cepas de *Trichoderma* sp. y el control de *Fusarium* sp. Se escogieron las dos mejores combinaciones de *Trichoderma* sp. de los resultados en laboratorio y éstas se compararon con Trichozam[®], un testigo químico y un testigo absoluto. En plántulas se evaluó longitud, superficie, diámetro y volumen de raíces, y producción de materia fresca y seca de raíces y de follaje. En invernadero se evaluó incidencia y mortalidad por *Fusarium* sp., altura de planta, cantidad de materia fresca y seca de follaje, longitud, superficie, diámetro y volumen de raíces. Se realizaron aislamientos de las raíces y de suelo para determinar la presencia y el comportamiento de cada combinación. La combinación con mayor capacidad antagonista fue de las cepas Zamorano + Choluteca. Las combinaciones que no mostraron un antagonismo *in vitro* fueron Zamorano + Choluteca y Zamorano + *T. koningii*. En plántulas se determinó que las combinaciones fueron mejores que los demás tratamientos en todas las variables medidas, pero entre las combinaciones no se encontraron diferencias. En invernadero las combinaciones presentaron menor incidencia y mortalidad por *Fusarium* sp. y mayor altura de plantas. En peso fresco foliar se comportaron igual que Trichozam[®], pero superiores al testigo químico y el control. En aislamientos de suelo y raíces se encontró presencia de cada una de las cepas que forman las combinaciones analizadas en invernadero.

Palabras clave: Antagonismo, control biológico, manejo integrado de plagas.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de cuadros y figuras.....	v
INTRODUCCIÓN.....	1
MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
CONCLUSIONES.....	17
RECOMENDACIONES.....	17
BIBLIOGRAFÍA.....	18

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1 Descripción del material biológico utilizado durante el ensayo, el mismo que proviene del Laboratorio de Control Biológico de Zamorano, Honduras.....	3
2 Combinaciones de <i>Trichoderma</i> sp. usadas en la prueba de antagonismo.....	5
3 Descripción de los tratamientos utilizados en plántulas e invernaderos durante el estudio. Invernaderos del Laboratorio de Control Biológico de Zamorano, Honduras.	6
4 Producción y viabilidad de cuatro cepas de <i>Trichoderma</i> sp. en condiciones de laboratorio. Zamorano, Honduras.....	8
5 Porcentaje de área ocupada por cada cepa de <i>Trichoderma</i> sp. en cada combinación. En platos petri de 90 mm bajo condiciones de laboratorio. Zamorano, Honduras.	9
6 Longitud de crecimiento de <i>Fusarium</i> sp. (mm) con respecto a una de las cepas <i>Trichoderma</i> sp. y su combinación, en condiciones de laboratorio. Zamorano, Honduras.	10
7 Resultados obtenidos en los ensayo de las cuatro Cepas <i>Trichoderma</i> sp. en condiciones de laboratorio. Zamorano, Honduras.	10
8 Efecto de combinaciones de <i>Trichoderma</i> sp. sobre raíces de plántulas de sandía en invernadero. Zamorano, Honduras.	11
9 Efecto de combinaciones de <i>Trichoderma</i> sp. sobre peso fresco (Pf) y peso seco (Ps) del área foliar y raíces de plántulas sandía a los 18 días después de la siembra. Zamorano, Honduras.	12
10 Efecto de combinaciones de <i>Trichoderma</i> sp. sobre el desarrollo de raíces de sandía en invernadero. Zamorano, Honduras.	15
11 Efecto de combinaciones de <i>Trichoderma</i> sp. sobre el peso fresco (Pf) y el peso seco (Ps) de área foliar de plántas de 20 y 30 días después del trasplante. Zamorano, Honduras.....	15

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Velocidad de crecimiento de cuatro cepas de <i>Trichoderma</i> sp., bajo condiciones de laboratorio. Zamorano, Honduras. Valores con letras iguales no difieren significativamente según la separación de medias de la prueba Duncan ($P \leq 0.05$).	9
2	Porcentaje de incidencia y mortalidad de plántulas de sandía a causa del mal del talluelo. Zamorano, Honduras.	12
3	Plantas de sandía infectadas por <i>Fusarium</i> sp. a los 10, 20 y 30 días después del trasplante. Medias acompañados de diferentes letras difieren significativamente ($P \leq 0.05$) a los 30 días. Zamorano, Honduras.....	13
4	Mortalidad de plantas de sandía a causa de la marchitez vascular causada por <i>Fusarium</i> sp. Medias acompañados de diferentes letras difieren significativamente ($P \leq 0.05$) a los 30 días. Zamorano, Honduras.....	13
5	Efecto de las combinaciones de <i>Trichoderma</i> sp. sobre la altura de plantas de sandía a los 10, 20 y 30 días después del trasplante. Medias acompañados de letras diferentes difieren significativamente a los 30 días según prueba de separación de medias Duncan ($P \leq 0.05$). Zamorano, Honduras.....	14
6	Aislamientos de suelo (soluciones madre) de los cinco tratamientos analizados en invernaderos en medio de cultivo Base agar rosa de Bengala, después de siete días de la siembra.....	16
7	Aislamientos de tallo y raíces del control, en medio de cultivo PDA, de siete días después de la siembra.....	16
8	Reactivación de las cepas de <i>Trichoderma</i> sp. utilizadas durante la prueba en invernaderos en medio de cultivo PDA, siete días después de la siembra.....	16

INTRODUCCIÓN

La sandía (*Citrullus lanatus*) es uno de los principales cultivos de la familia botánica Cucurbitácea (Rivera 1999). La producción mundial de sandía para el año 2003, según la FAO (La Organización Mundial de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) fue de 91,8 millones de toneladas métricas. El cultivo de sandía en Honduras es de gran importancia dentro de la economía agrícola ya que representa un rubro importante para la exportación (Rivera 1999). Honduras representa el 4% de la exportación total en Centroamérica (Porras 2004).

La marchitez vascular o mal del talluelo es muy común en sandía y es causada por varios hongos patógenos como *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Thielaviopsis basicola*, *Acremonium* sp., *Fusarium* sp., y otros hongos (MAG, 2008). Las plantas pueden ser atacadas a cualquier edad. Las jóvenes pueden morir en corto tiempo y en las adultas se aprecia un marchitamiento en la parte terminal, el cual avanza hasta manifestarse en toda la planta (Rivera 1999).

Fusarium oxysporum es un hongo específico para cada variedad de planta y es capaz de sobrevivir en los rastros de cultivos anteriores y permanecer en el suelo hasta por 20 años sin que se haya sembrado un cultivo o especies susceptibles a éste (Arguello *et al.* 2007). *Fusarium* crece casi en cualquier grado de humedad del suelo, pero las condiciones muy húmedas reducen su infección (Ocaña 2008). Es sensible a la temperatura: su rango de crecimiento varía de 5 a 37 °C y el óptimo es de 24 a 32 °C; el rango óptimo de infección es 24 a 28 °C.

Trichoderma es un hongo que se encuentra frecuentemente sobre tejidos vegetales en descomposición. Es un organismo dominante en los suelos, debido a su naturaleza agresiva y su capacidad metabólica para competir con otros organismos patógenos (Biocontroladores 2004). *Trichoderma* tiene la capacidad de parasitar a otros hongos lo que se conoce como hiperparasitismo o micoparasitismo de diferentes patógenos de plantas. El modo de acción de *Trichoderma* es complejo e incluye el quimiotaxis, la antibiosis y el parasitismo (Elósegui 2006).

En la actualidad, se utiliza Trichozam[®] (Producto de control biológico que tiene como ingrediente activo *Trichoderma harzianum*) en una amplia variedad de cultivos hortícolas, en los cuales ha ayudado a reducir el uso de productos químicos sintéticos, los costos de producción y a incrementar de los rendimientos por área (Fintrac CAD, 2003). Para aumentar las cualidades antes descritas de Trichozam[®] es necesario buscar alternativas. Una de ellas es la elaboración de un producto que este compuesto por dos o más cepas *Trichoderma* sp.

El objetivo de este estudio fue evaluar seis combinaciones de cuatro cepas de *Trichoderma* sp. para el control de *Fusarium* sp. en sandía, en laboratorio se evaluó producción y viabilidad de conidias, crecimiento, antagonismo ente las cepas de *Trichoderma* sp., el control de *Fusarium* sp. de las cuatro cepas de *Trichoderma* sp. y sus combinaciones, y en el invernadero la incidencia y la mortalidad por *Fusarium* sp., altura de planta, cantidad de materia fresca y seca foliar, longitud, superficie, diámetro y volumen de raíces.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó entre julio y octubre de 2008, en el Laboratorio de Control Biológico de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano, a 30 km de Tegucigalpa, Departamento de Francisco Morazán, Honduras. El lugar está a 800 msnm, con una temperatura promedio anual de 24°C y una precipitación anual de 1,100 mm.

El ensayo tuvo dos fases, una de laboratorio donde se evaluó la producción y viabilidad de las conidias, velocidad de crecimiento, sinergismo de cuatro cepas de *Trichoderma* sp. y el antagonismo de seis combinaciones de *Trichoderma* sp. en el control de *Fusarium* sp. Con los resultados obtenidos en el laboratorio se seleccionaron dos combinaciones para evaluarlas en plantas de sandía en invernadero.

Metodología de Fase de Laboratorio.

La reproducción del material biológico (Cuadro 1), se llevó a cabo en platos petri de 90 × 15 mm, usando Papa Dextrosa Agar (PDA) como medio de cultivo.

Cuadro 1. Descripción del material biológico utilizado durante el ensayo, el mismo que proviene del Laboratorio de Control Biológico de Zamorano, Honduras.

Código	Descripción	Ingrediente activo	Procedencia
Cz	Cepa Zamorano	<i>Trichoderma harzianum</i>	Laboratorio de Control Biológico de Zamorano
Cch	Cepa Choluteca	<i>Trichoderma harzianum</i>	Choluteca- Honduras
Ccr	Cepa de Costa Rica	<i>Trichoderma harzianum</i>	Costa Rica
Ck	Cepa koningii	<i>Trichoderma koningii</i>	§
F	Fusarium de sandía	<i>Fusarium</i> sp.	Parcelas de producción de zona 1. Zamorano

§No tiene procedencia definida.

La producción de conidias de las cuatro cepas de *Trichoderma* sp. se evaluó en tubos de ensayo de 100 × 15 mm con PDA esterilizados, en los cuales se inoculó 0.2 ml de una suspensión de conidias con una concentración de 3×10^4 UFC/ml. Los tubos se incubaron por siete días a 28°C ±1. Después de la incubación se adicionaron 5 ml de agua destilada a cada tubo y se agitó por 30 segundos. Luego se agregó 5 ml de agua y se agitó por 30 segundos más. Esta suspensión se diluyó tres veces en una relación de 9:1 (1 ml de suspensión más 9 ml de agua), en contenedores de cristal de 20 ml de capacidad. Se

realizó un conteo de conidias en la Cámara de Neubauer. La concentración de cada tubo se obtuvo usando la ecuación:

$$\text{Conidias/ml} = N (1 \times 10^4) (1 \times 10^n) \quad [1]$$

Donde:

N = promedio del conteo de conidias.

1×10^4 = factor de corrección de la cámara.

n = número de diluciones de cada tubo.

Para medir la viabilidad se utilizaron platos petri de 90×15 mm con 20 ml de PDA, los cuales fueron inoculados con tres gotas de la suspensión obtenida en el ensayo de producción de conidias. Se incubó durante 16 horas a $28^\circ\text{C} \pm 1$. Después se contaron 100 conidias de cada gota bajo un microscopio óptico (40X) para obtener el porcentaje de viabilidad.

Para medir la velocidad de crecimiento se realizó un corte circular con una pipeta Pasteur de 6 mm de diámetro impregnado con micelio de *Trichoderma* sp. y se colocó un corte de cada cepa en el centro de un plato petri de 90×15 mm con 20 ml de PDA. Se selló con película de parafina (Parafilm M) y se incubó a $28^\circ\text{C} \pm 1$; diariamente se midió el diámetro de la colonia con una regla milimetrada hasta alcanzar 90 mm de diámetro. Para determinar la cepa con mayor velocidad de crecimiento se calculó el área bajo la curva de crecimiento de cada cepa usando la ecuación:

$$\int_a^b k dx \quad [2]$$

Donde:

a, b = Intervalo en el eje y

k = 1 día

dx = derivada del eje x

Se determinó el antagonismo entre las cuatro cepas de *Trichoderma* sp. realizando un corte circular con una pipeta Pasteur de 6 mm de diámetro impregnado con micelio *Trichoderma* sp. y se colocó un corte de cada cepa en el centro de una placa de 90×15 mm con 20 ml de PDA formando las combinaciones establecidas (Cuadro 2). Se selló con película de parafina (Parafilm M) y se incubó a $28^\circ\text{C} \pm 1$; se midió el área colonizada por cada cepa a los siete días con el programa Adobe® Acrobat® 8.0 Professional con la función Measuring, Area Tool.

Cuadro 2. Combinaciones de *Trichoderma* spp. usadas en la prueba de antagonismo de cepas.

Trt	Descripción
C1	<i>Trichoderma harzianum</i> cepa Zamorano + <i>Trichoderma koningii</i>
C2	<i>Trichoderma harzianum</i> cepa Zamorano + <i>Trichoderma harzianum</i> cepa Choluteca
C3	<i>Trichoderma harzianum</i> cepa Zamorano + <i>Trichoderma harzianum</i> cepa Costa Rica
C4	<i>Trichoderma harzianum</i> cepa Choluteca + <i>Trichoderma koningii</i>
C5	<i>Trichoderma harzianum</i> cepa Choluteca + <i>Trichoderma harzianum</i> cepa Costa Rica
C6	<i>Trichoderma harzianum</i> cepa Costa Rica + <i>Trichoderma koningii</i>

Para la evaluación del antagonismo de las cuatro cepas de *Trichoderma* sp. y sus combinaciones, se realizaron tres cortes circulares equidistantes del centro de un plato petri con 20 ml de PDA con una pipeta Pasteur de 6 mm de diámetro. En los dos primeros agujeros se colocaron 0.15 ml de una suspensión de conidias con una concentración de 5×10^3 UFC/ml de dos cepas de *Trichoderma* sp. y en el tercer agujero se colocó 0.15 ml de una suspensión de conidias con una concentración de 5×10^3 UFC/ml de la combinación de las dos cepas anteriores. En el centro de la placa Petri se colocó un disco de PDA con un diámetro de 6 mm impregnado con micelio de *Fusarium* sp. se selló la placa con papel parafina y se incubó a $28^\circ\text{C} \pm 1$, bajo condiciones de luz natural. Se evaluó el crecimiento de la colonia de *Fusarium* sp. en la dirección de cada cepa con una regla milimetrada a los 14 días para determinar la combinación que detiene el crecimiento de la colonia de *Fusarium* sp. y si las combinaciones se comportan diferente que las cepas individuales.

Metodología en invernadero

Para las pruebas en invernadero se seleccionaron las dos combinaciones que presentaron los mejores resultados en las pruebas de laboratorio. La dosis utilizada para las combinaciones en el ensayo fue la dosis comercial recomendada por el laboratorio de Control Biológico (1.25×10^9 UFC/g comercial). Se evaluaron dos partes, una en plántulas y otra en invernadero.

En plántulas se sembraron cinco bandejas con una capacidad de 128 plántulas con semillas de sandía de la variedad sangría en un medio PRO-MIX[®]. Se realizó una aplicación de los tratamientos (Cuadro 3) los 10 días después de la siembra. Al trasplante se evaluó la incidencia (plantas que presentaron síntomas de *Fusarium* sp. del total de plantas) y mortalidad (plantas muertas por *Fusarium* sp. del total de plantas) en cada tratamiento.; longitud, superficie y volumen radical de las plántulas con el programa WinRhizo[®]; y la producción de materia fresca y seca foliar y de raíces.

Cuadro 3. Descripción de los tratamientos utilizados en plántulas e invernaderos durante el estudio en los invernaderos del Laboratorio de Control Biológico de Zamorano, Honduras.

Trt	Descripción	Ingrediente activo	Dosis
C1	Cepa Zamorano + Cepa Choluteca	<i>Trichoderma harzianum</i>	3×10^{11} UFC/ha
C2	Cepa <i>koningii</i> + Cepa Zamorano	<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>Trichoderma koningii</i>	3×10^{11} UFC/ha
Tz	TRICHOZAM [®]	<i>Trichoderma harzianum</i>	3×10^{11} UFC/ha
TQ	Derosal 500 SC	Carbendazim	200 ppm
TA	Control	§	§

§ Sin aplicación de *Trichoderma* sp. o producto químico.

En la prueba invernadero se utilizó suelo proveniente de las parcelas de producción de zona 1, Zamorano, Honduras debido a los antecedentes de una alta población de *Fusarium* sp. El suelo fue tamizado y colocado en bolsas de plástico de 30 × 22 cm. Dentro de los invernaderos se mantuvo una temperatura de $26^{\circ}\text{C} \pm 2$ con flujo luminoso de 700 lm.

Para asegurarse la presencia del patógeno en la planta se inoculó el suelo con *Fusarium* sp. para lo cual se lavaron 30 placas que contenían el patógeno en 8 000 ml de agua para formar una solución madre y se inocularon 40 ml de esta solución en cada bolsa cinco días antes del trasplante.

En invernadero se evaluó: altura de planta (desde el suelo hasta la yema terminal) utilizando un flexómetro, incidencia y mortalidad por *Fusarium* sp. a los 10, 20 y 30 días. A los 20 y 30 días se midió la cantidad de materia fresca y seca foliar tomando tres plantas al azar por tratamiento. A los 20 días después del trasplante se tomaron tres plantas al azar por cada tratamiento, en las cuales se determinó longitud, superficie, diámetro y volumen de raíz. Se determinó la incidencia (plantas que presentaron síntomas de *Fusarium* sp. del total de plantas) y mortalidad (plantas muertas por *Fusarium* sp. del total de plantas) en cada tratamiento.

Al final del ensayo se realizaron aislamientos de suelo y raíces por cada tratamiento en platos petri de 90 × 15 mm, utilizando como medio de cultivo Base agar rosa de Bengala para suelo y PDA para raíces. Se confirmó la presencia de *Trichoderma* sp. y *Fusarium* sp. en el suelo y plantas. También se comprobaron los postulados de Koch.

Diseño Experimental

Para la parte de laboratorio se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con diez repeticiones por cada tratamiento y para la parte de invernadero se utilizó un Bloque Completo al Azar (BCA), el bloque estaba compuesto por cinco tratamientos y cuatro

repeticiones con diez unidades experimentales en cada tratamiento. Se realizó un Análisis de Varianza (ANDEVA), separación de medias utilizando la prueba del rango múltiple de Duncan, con un modelo lineal general (GLM), a un nivel de significancia de $P \leq 0.05$, con el programa “Sistema de Análisis Estadístico versión 9.1 (SAS[®])”. Los datos obtenidos en porcentaje fueron normalizados con la función arcsen.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase de Laboratorio

La cepa Zamorano y *T. koningii* no fueron diferentes entre sí ($P \geq 0.05$) en la producción de conidias. Produjeron 70% más conidias que la cepa de Costa Rica la cual tuvo un comportamiento similar ($P \geq 0.05$) a la cepa de Choluteca. Todas las cepas tuvieron una viabilidad mayor al 90% (Cuadro 4).

Cuadro 4. Producción y viabilidad de cuatro cepas de *Trichoderma* sp. en condiciones de laboratorio. Zamorano, Honduras.

<i>Trichoderma</i> sp.	Producción de conidias (UFC/ml)	Viabilidad (%)
Cepa Zamorano	6.13×10^8 ^a	96 ^a
Cepa Choluteca	3.92×10^8 ^b	94 ^a
Cepa Costa Rica	3.56×10^8 ^b	91 ^b
<i>Trichoderma koningii</i>	6.04×10^8 ^a	93 ^{ab}

Medias con letras comunes en la misma columna no difieren significativamente según la separación de medias de la prueba Duncan ($P \leq 0.05$).

Trichoderma koningii tuvo una mayor velocidad de crecimiento que el resto de los tratamientos ($P \leq 0.05$), seguida de la cepa de Choluteca. No se encontró diferencia significativa ($P \geq 0.05$) en la velocidad de crecimiento entre las cepas de Zamorano y Costa Rica (Figura 1).

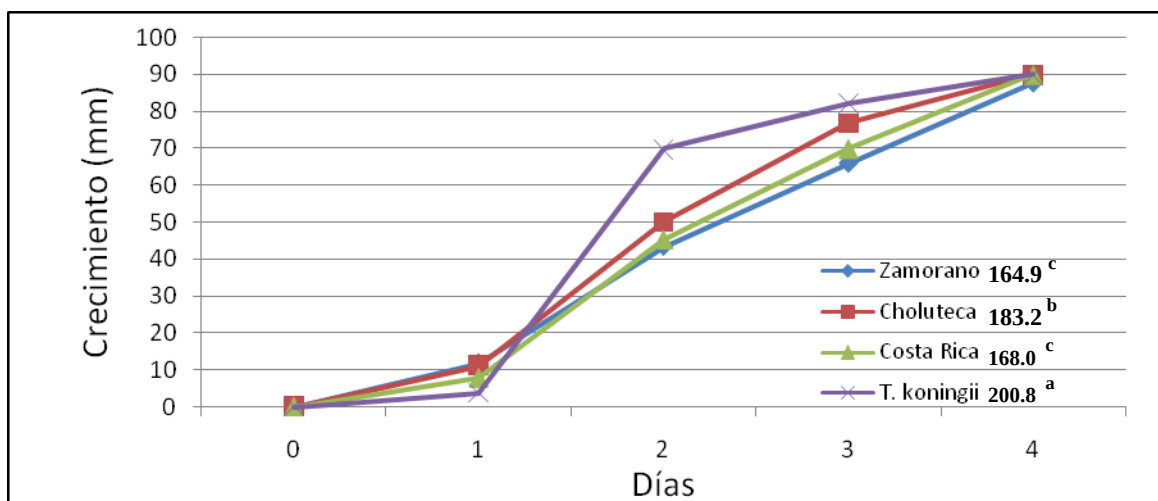


Figura 1. Velocidad de crecimiento de cuatro cepas de *Trichoderma* sp., bajo condiciones de laboratorio. Zamorano, Honduras. Valores con letras iguales no difieren significativamente según la separación de medias de la prueba Duncan ($P \leq 0.05$).

Al poner a crecer las combinaciones de *Trichoderma* sp. en PDA se observó que la combinación de Zamorano + *T. koningii* y la cepa de Costa Rica + *T. koningii*, tuvieron menor antagonismo entre ellas ($P \leq 0.05$) ya que ocuparon áreas similares en platos petri. En las otras combinaciones una cepa fue más agresiva ocupando mayor área. (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de área ocupada por cada cepa de *Trichoderma* sp. en cada combinación, sembradas en platos petri de 90 mm bajo condiciones de laboratorio. Zamorano, Honduras.

Cepas	Área (%)	Cepa	Área (%)
Zamorano	43.5 ^Ω	<i>Trichoderma koningii</i>	56.5 ^Ω
Zamorano	39.4	Choluteca	60.6
Zamorano	41.4	Costa Rica	58.6
<i>Trichoderma koningii</i>	26.4	Choluteca	73.6
<i>Trichoderma koningii</i>	49.3 ^Ω	Costa Rica	50.7 ^Ω
Choluteca	64.3	Costa Rica	35.7

^Ω Medias en la misma fila son significativamente iguales por la separación de medias de la prueba Duncan ($P < 0.05$)

Al colocar *Fusarium* sp., dos cepas de *Trichoderma* sp. y la combinación de éstas se observó que las combinaciones tienden a reducir más el diámetro de crecimiento de la colonia de *Fusarium* sp. que las cepas individualmente. La combinación de la cepa de Zamorano + la cepa de Choluteca detuvo el crecimiento de la colonia de *Fusarium* un 30% más que cada cepa individual. Las demás combinaciones se comportaron igual ($P \geq 0.05$) que las cepas individuales (Cuadro 6).

Cuadro 6. Longitud de crecimiento de *Fusarium* sp. (mm) con respecto a una de las cepas *Trichoderma* sp. y su combinación, en condiciones de laboratorio. Zamorano, Honduras.

Prueba	Cepas				
	Zamorano	<i>Trichoderma koningii</i>	Choluteca	Costa Rica	Combinación
1	6.2 ^a	6.7 ^a			6.0 ^a
2	7.6 ^a		7.0 ^a		5.0 ^b
3	8.1 ^a			6.1 ^b	4.8 ^b
4		8.5 ^a	6.0 ^b		5.2 ^b
5		11.3 ^a		6.3 ^b	4.5 ^b
6			5.8 ^a	6.2 ^a	5.7 ^a

Promedios con letras comunes en la misma fila no difieren significativamente según la separación de medias de la prueba Duncan ($P < 0.05$)

Resumiendo los ensayos iniciales se encontró que las cepas de *Trichoderma* sp. que presentaron mayor producción y viabilidad de conidias fueron la cepa de Zamorano y *T. koningii* y que las cepas con mayor velocidad de crecimiento fueron la cepa de Choluteca y *T. koningii* (Cuadro 7). Las combinaciones que presentaron un menor antagonismo entre ellas fueron la cepas de Zamorano + *T. koningii* y la cepa de Costa Rica + *T. koningii* (Cuadro 5); la combinación que presentó un alto control de *Fusarium* sp. fue la cepa de Zamorano + la cepa de Choluteca (Cuadro 6).

Cuadro 7. Resultados obtenidos en los ensayo de las cuatro Cepas *Trichoderma* sp. en condiciones de laboratorio. Zamorano, Honduras.

Cepas	Pruebas de Laboratorio		
	Producción de conidias	Viabilidad	Velocidad de crecimiento
Zamorano	+	+	
<i>Trichoderma koningii</i>	+	+	+
Choluteca		+	+
Costa Rica			

⁺ Mejor resultado obtenido en las pruebas de laboratorio.

Las combinaciones de las cepas de Zamorano y *T. koningii* y la cepa de Zamorano + la cepa de Choluteca fueron evaluadas en campo ya que las cepas individualmente y en combinaciones presentaron los mejores resultados en las pruebas de laboratorio.

Fase de invernadero

Estudio en Plántulas

Al evaluar las plántulas de sandía los 18 días después de la siembra se observó una clara tendencia que las plántulas tratadas con las combinaciones de *Trichoderma* sp., obtuvieron mejores resultados ($P < 0.05$) en las variables analizadas que las plántulas tratadas con la cepa de Zamorano, el testigo químico y el control. Con la cepa de Zamorano la longitud y área de raíz de las plántulas fue igual ($P < 0.05$) al testigo químico, pero mejor que el control (Cuadro 8). Los datos concuerdan con los de Morán Ruiz (2007), quien encontró diferencias significativas en longitud de raíz entre el control y la cepa de Zamorano en plántulas de pepino. *Trichoderma* sp. actúa como bioestimulante del crecimiento radicular, pues promueve el desarrollo de raíces debido a la secreción de fitohormonas, lo que permite el incremento de masa radicular, una mejor asimilación de nutrientes y de humedad, aumentando la resistencia frente a situaciones de estrés biótico (Norte 2006).

Cuadro 8. Efecto de combinaciones de *Trichoderma* sp. sobre el desarrollo de raíces de plántulas de sandía bajo invernadero. Zamorano, Honduras.

Tratamiento	Longitud (cm)	Área (cm ²)	Diámetro (mm)	Volumen (cm ³)
Zamorano + <i>Trichoderma koningii</i>	401.3 ^a	103.5 ^a	0.82 ^a	2.14 ^a
Zamorano + Choluteca	393.9 ^a	89.4 ^a	0.72 ^b	1.62 ^b
Zamorano	292.0 ^b	59.3 ^b	0.65 ^c	1.0 ^c
Testigo Químico	270.8 ^{bc}	55.4 ^{bc}	0.65 ^c	0.9 ^c
Control	219.9 ^c	43.5 ^c	0.63 ^c	0.7 ^c

Promedios acompañados de letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas según prueba de separación de medias de la prueba Duncan ($P \leq 0.05$)

Las plántulas tratadas con combinaciones de *Trichoderma* sp. presentaron mayor peso fresco en la parte foliar y radical que los demás tratamientos ($P \leq 0.05$) y las combinaciones superaron al control en más del 30% en peso fresco y 50% en peso seco. Entre la cepa de Zamorano, el testigo químico y el control no se encontró diferencia significativa (Cuadro 9). Los datos concuerdan con los de Morán Ruiz (2007) que no encontró diferencias ($P \geq 0.05$) entre la cepa de Zamorano y el control en plantas de pepino.

Cuadro 9. Efecto de combinaciones de *Trichoderma sp.* sobre el peso fresco (Pf) y el peso seco (Ps) del área foliar y de las raíces de plántulas de sandía a los 18 días después de la siembra. Zamorano, Honduras.

Tratamiento	Pf foliar (g)	Pf raíces (g)	Ps foliar (g)	Ps raíces (g)
Zamorano + <i>Trichoderma koningii</i>	1.48 ^a	0.42 ^a	0.143 ^a	0.032 ^a
Zamorano + Choluteca	1.38 ^a	0.28 ^a	0.134 ^a	0.027 ^a
Zamorano	1.30 ^b	0.21 ^b	0.126 ^b	0.020 ^b
Testigo Químico	1.11 ^b	0.18 ^b	0.105 ^b	0.018 ^b
Control	1.08 ^b	0.17 ^b	0.103 ^b	0.018 ^b

Promedios acompañados de letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas según prueba de separación de medias de la prueba Duncan ($P \leq 0.05$)

A los 18 días en las bandejas de plántulas se encontró que el control presentó mayor porcentaje de plantas con incidencia y mortalidad por mal del talluelo que de los demás tratamientos (Figura 2). Es importante recalcar que los tratamientos no fueron inoculados con *Fusarium sp.* Esto nos demuestra que plantas inoculadas con *Trichoderma sp.* reciben una protección temprana haciéndolas más resistentes a ataques de patógenos en comparación con las plantas no tratadas.

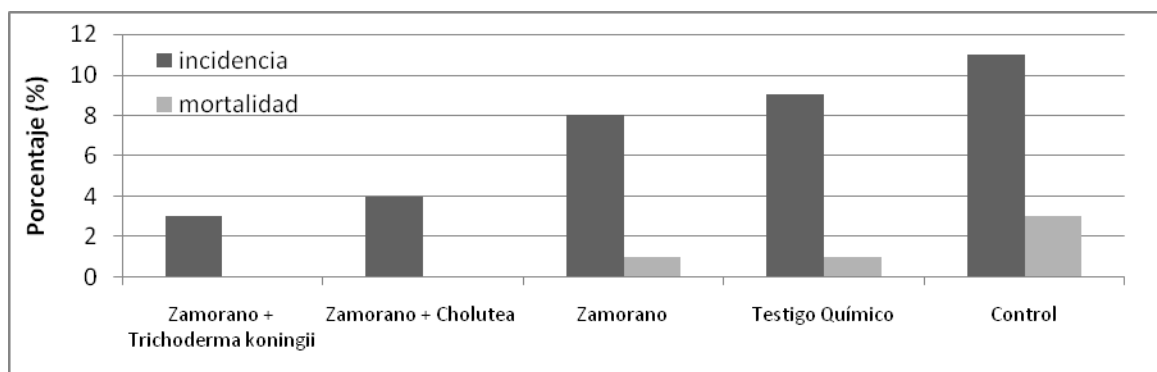


Figura 2. Porcentaje de incidencia y mortalidad de plántulas de sandía a causa del mal del talluelo. Zamorano, Honduras.

Estudio en Invernadero

Al finalizar el estudio se calculó la incidencia por *Fusarium sp.* y se observó una clara tendencia en la disminución de la misma con las combinaciones ($P \leq 0.5$) a comparación de los demás tratamientos (Figura 3). Las cepas de *Trichoderma* son capaces de colonizar el suelo, la superficie de la raíz y entrar en contacto con la planta activando su sistema de defensa, fundamentalmente por inducción de su sistema enzimático, lo que le permite proteger la planta a posibles ataques de patógenos del suelo (Carballo y Guaharay 2004).

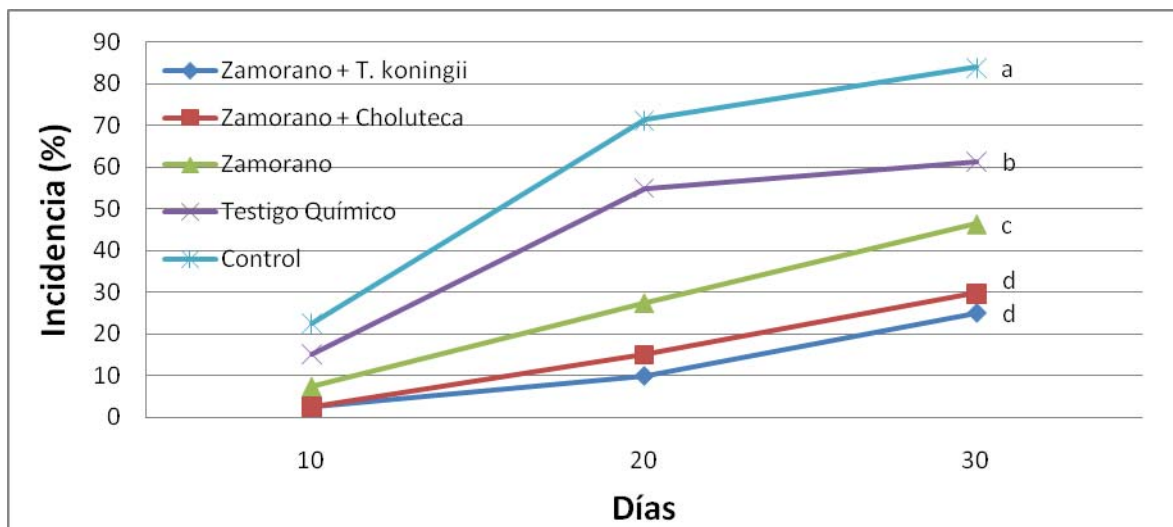


Figura 3. Plantas de sandía infectadas por *Fusarium* sp. a los 10, 20 y 30 días después del trasplante. Medias acompañados de diferentes letras difieren significativamente ($P \leq 0.05$) a los 30 días. Zamorano, Honduras.

A los 30 días la mortalidad fue menor en los tratamientos con las combinaciones en comparación con los demás tratamientos ($P \leq 0.05$). La combinación de la cepa de Zamorano + *T. koningii* presentó 0% de mortalidad. El testigo químico y la cepa de Zamorano no presentaron diferencias y el control tuvo la mayor mortalidad (Figura 4).

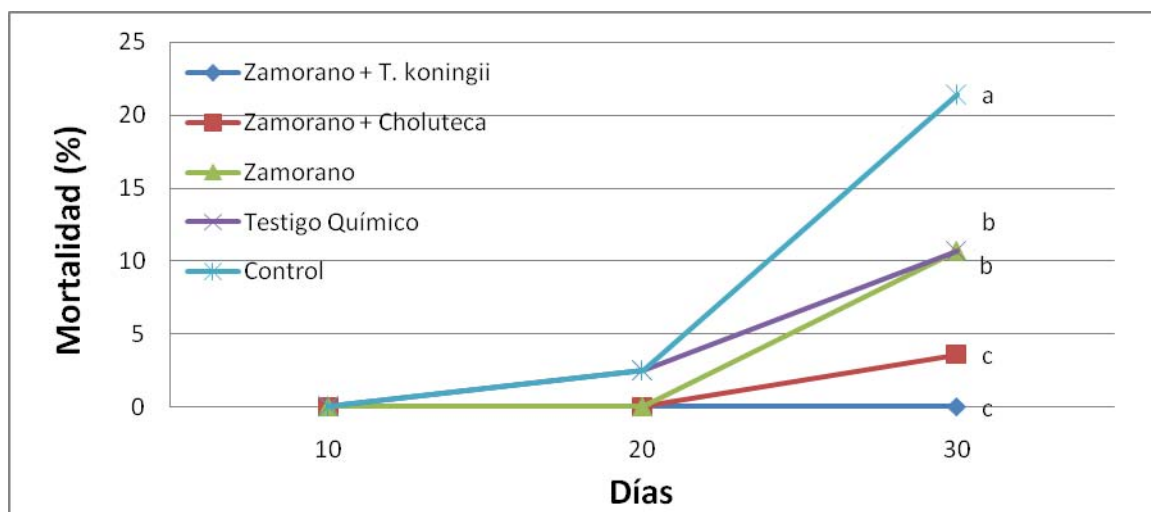


Figura 4. Mortalidad de plantas de sandía a causa de la marchitez vascular causada por *Fusarium* sp. Medias acompañados de diferentes letras difieren significativamente ($P \leq 0.05$) a los 30 días. Zamorano, Honduras.

A los 30 días del trasplante las combinaciones de *Trichoderma* sp. obtuvieron plantas más altas ($P \leq 0.05$). Las combinaciones de *Trichoderma* sp. superaron al testigo en más del 36% y en más del 32% al tratamiento de la cepa de Zamorano y el testigo químico (Figura 5). Según García *et al.* (2004) plantas de sandía infectadas por *Fusarium* sp. (marchitez vascular) reducen su crecimiento a comparación de plantas sanas.

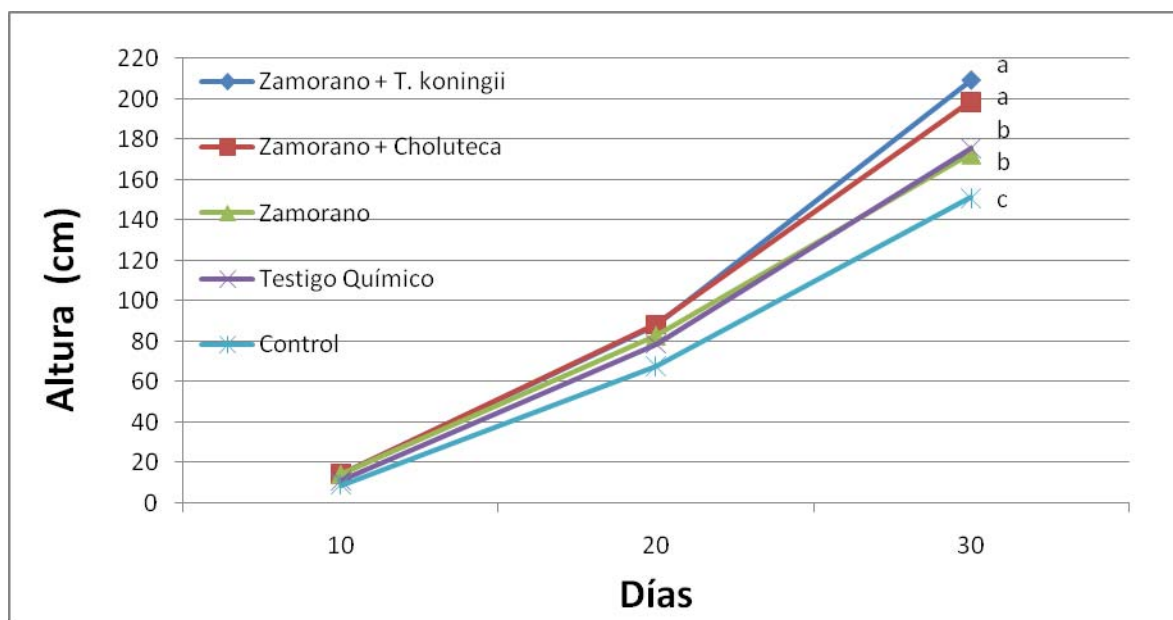


Figura 5. Efecto de las combinaciones de *Trichoderma* sp. sobre la altura de plantas de sandía a los 10, 20 y 30 días después del trasplante. Medias acompañados de letras diferentes difieren significativamente a los 30 días según prueba de separación de medias Duncan ($P \leq 0.05$). Zamorano, Honduras.

A los 20 días del trasplante las raíces de las plantas de sandía aplicadas con las combinaciones obtuvieron mayor diámetro y volumen que el resto de los tratamientos ($P \leq 0.05$); superando al testigo en más del 200%. La combinación de la cepa de Zamorano + *T. koningii* obtuvo la mayor longitud y área sobrepasando en 93 y 160% respectivamente a comparación de Zamorano, el testigo químico y el control (Cuadro 10). Estos datos concuerdan con Castillo Samudio (2006) quien no encontró diferencias ($P \geq 0.05$) en longitud de raíz, aplicando la cepa de Zamorano en plantas de sorgo en Zamorano, Honduras. Según Norte (2006) esta diferencia se debe a que algunas cepas de *Trichoderma* sp. incrementan la absorción de nutrientes a través del mejoramiento del desarrollo radicular o promoviendo la disponibilidad de los nutrientes necesarios.

Cuadro 10. Efecto de combinaciones de *Trichoderma* sp. a los 20 días sobre las raíces de sandía bajo invernadero. Zamorano, Honduras.

Tratamiento	Longitud (cm)	Área (cm ²)	Diámetro (mm)	Volumen (cm ³)
Zamorano + <i>Trichoderma koningii</i>	10530 ^a	3352 ^a	5.5 ^a	99 ^a
Zamorano + Choluteca	8079 ^b	2512 ^b	4.7 ^a	80 ^a
Zamorano	5435 ^c	1262 ^c	2.2 ^b	26 ^b
Testigo Químico	5404 ^c	1207 ^c	1.9 ^b	24 ^b
Control	4215 ^c	1150 ^c	1.9 ^b	22 ^b

Promedios acompañados de letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas según prueba de separación de medias de la prueba Duncan ($P \leq 0.05$)

La combinación de la cepa de Zamorano + *T. koningii* presentó mayor peso fresco en la parte foliar a los 30 días del trasplante que los demás tratamientos ($P \leq 0.05$). La combinación de la cepa de Zamorano + *T. koningii* superó al testigo en más del 100% en peso fresco y peso seco. La cepa de Zamorano y la combinación de la cepa de Zamorano + Choluteca produjo los mismos pesos fresco y seco ($P \leq 0.05$) (Cuadro 11).

Cuadro 11. Efecto de combinaciones de *Trichoderma* sp. sobre el peso fresco (Pf) y el peso seco (Ps) de área foliar de plantas de 20 y 30 días después del trasplante. Zamorano, Honduras.

Tratamiento	20 días		30 días	
	Pf foliar (g)	Ps seco (g)	Pf foliar (g)	Ps foliar (g)
Zamorano + <i>Trichoderma koningii</i>	71.0 ^{ab}	8.6 ^a	591.3 ^a	53.6 ^a
Zamorano + Choluteca	74.8 ^a	8.4 ^a	426.9 ^b	47.6 ^{ab}
Zamorano	73.3 ^a	8.3 ^a	462.8 ^b	43.6 ^b
Testigo Químico	56.1 ^{bc}	6.2 ^b	361.5 ^c	31.7 ^c
Control	45.9 ^c	4.7 ^b	257.9 ^c	26.1 ^c

Promedios acompañados de letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas según prueba de separación de medias de la prueba Duncan ($P \leq 0.05$)

A los 30 días en las muestras de suelo de cada tratamiento se observó que en el aislamiento de suelo para el tratamiento Zamorano + *T. koningii* hubo el crecimiento de las cepas de *T. harzianum* (Zamorano), *T. koningii* y *Fusarium* sp.; en el tratamiento Zamorano + Choluteca se observaron las cepas de *T. harzianum* (Zamorano) y *T. harzianum* (Choluteca) y *Fusarium* sp.; en el tratamiento con Trichozam® se encontró *T.*

harzianum (Zamorano). En el testigo químico y control se encontró *Fusarium* sp. (Figura 6). En los aislamientos de raíces y tallos se observó *Fusarium* sp en el testigo químico y en el control (Figura 7). Se comprobaron los postulados de Koch al encontrar *Fusarium* sp. en el control. Con los aislamientos de suelo de las combinaciones se reactivaron las cepas de *T. harzianum* (Zamorano), *T. harzianum* (Choloteca) y *T. koningii* (Figura 8).

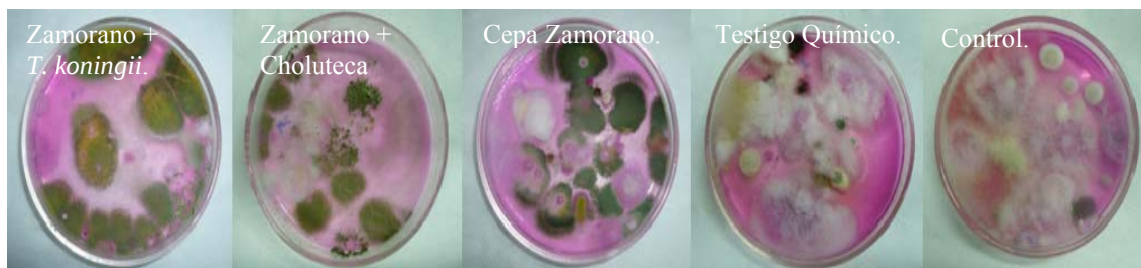


Figura 6. Aislamientos de suelo (soluciones madre) de los cinco tratamientos analizados en invernaderos en medio de cultivo Base agar rosa de Bengala, después de siete días de la siembra.



Figura 7. Aislamientos de tallo y raíces del control, sin aplicaciones de *Trichoderma* sp., en medio de cultivo PDA, de siete días después de la siembra.



Figura 8. Reactivación de las cepas de *Trichoderma* sp. utilizadas durante la prueba en invernaderos en medio de cultivo PDA, siete días después de la siembra.

CONCLUSIONES

- Las combinaciones que presentaron las mejores características en producción y viabilidad de conidias, menor antagonismo entre ellas y un alto control de *Fusarium* sp. en laboratorio son las cepas de *T. harzianum* (Zamorano) + *T. koningii* y *T. harzianum* (Zamorano) + *T. harzianum* (Cholulteca).
- Plántulas tratadas con combinaciones de cepas de *Trichoderma*, obtienen mayor peso radical y foliar y menor incidencia de mal del talluelo. Además muestran un mejor desarrollo radical expresado en longitud, área superficial, diámetro y volumen de raíz.
- Plantas tratadas con combinaciones de cepas de *Trichoderma* son menos susceptibles a *Fusarium* sp. presentando menor incidencia y mortalidad que las plantas tratadas con la cepa de Zamorano, el control químico y el control.
- Las aplicaciones de combinaciones de *Trichoderma* también tuvieron un efecto como promotores de crecimiento, superando al testigo más del 30 % en altura de planta, mayor longitud y área superficial de raíces, así como mayor peso fresco y seco de raíces.
- Cepa de Zamorano + *T. koningii* superó más del 100% al testigo en longitud, área superficial, diámetro y volumen de raíz al momento del trasplante y 20 días después del trasplante.
- Las combinaciones de *Trichoderma* sp. mostraron un comportamiento similar en el laboratorio como en el campo.

RECOMENDACIONES

- Evaluar las cepas de *T. Cholulteca* y *T. koningii* en producción comercial para determinar cual cepa cumple con los requisitos para producción masiva.
- Evaluar en campo abierto y durante en todo el ciclo del cultivo las combinaciones seleccionadas en laboratorio y evaluadas en condiciones de invernadero hasta los 30 días.
- Utilizar las cepas cuya capacidad antagónica fue reactivada antes de llevar el ensayo a campo abierto.

BIBLIOGRAFÍA

Argüello, H., Lastres, L., Rueda, A. 2007. (Ed). Manual MIP en cucúrbitas. Programa de Manejo Integrado de Plagas en América Central (PROMIPAC-ZAMORANO-COSUDE). Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. Pág. 244.

Biocontroladores Aplicados, 2004. *Trichoderma* (en línea). Santiago-Chile. Consultado el 3 de julio del 2008. Disponible en: <http://www.biocontroladores.cl/Prod/Trichoderma.htm>

Carballo, M., Guaharay, F. 2004. (Ed).Control Biológico de plagas agrícolas. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanzas (CATIE). Managua, Nicaragua. Pág. 224.

Castillo Samudio, RR. 2007. Efecto de la aplicación de (*Trichoderma harzianum*) en la producción de maíz dulce (*Zea mays*) variedad Golden Baby. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 8p.

Elósegui, O. 2006. Métodos Artesanales de Producción de Bioplaguicidas a partir de hongos Entomopatógenos y Antagonistas. (en línea). Ciudad de la Habana, Cuba. Consultado el 8 de junio de 2008. Disponible en: <http://www.inisav.cu/OtrasPub/METODOS%20ARTESANALES%20DE%20PRODUCCION%20DE%20BIOPLAGUICIDAS.pdf>

FINTRAC. 2003. Publicación sobre *Trichoderma harzianum*. (en línea). Consultado el 29 de junio de 2008. Disponible en: http://www.fintrac.com/docs/honduras/cda_ss_biologicals_10_03_esp.pdf

García P, Maroto J. V., Gómez A. M., Pomares F. 2004. Cultivo de la sandía. (en línea). Valencia, España. Consultado el 1 de octubre de 2008. Disponible en: http://books.google.hn/books?id=3dfmqbzr600C&printsec=frontcover&source=gbs_summary_r&cad=0#PPA83,M1

MAG, 2008. Guía técnica para el cultivo de la “sandía”. (en línea). Ministerio de Agricultura y Ganadería del Salvador. Consultado el 10 de septiembre del 2008. Disponible en www.mag.gob.sv/administrador/archivos/1/file_1156.pdf

Morán Quintero, NR. 2007. Evaluación de cuatro cepas de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani* en plántulas de pepino (*Cucumis sativa*). Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 12p.

Moran Ruiz, FS. 2007. Efectividad del fraccionamiento de la dosis comercial 3×10^{11} UFC/ha de Trichozam[®] (*Trichoderma harzianum*) en el crecimiento de las plántulas de siete cultivos hortícolas. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 9p.

Norte, A. 2006. “*Trichoderma*”. (en línea). Spainbonsai. Consultado el 4 de octubre de 2008. Disponible en: http://www.spainbonsai.com/tricho_es.html

Ocaña, A. 2008. Alerta Bananera, el Fusarium raza 4 amenaza los cultivos. (en línea). Consultado el 11 de julio de 2008. Disponible en: http://www.freshplaza.es/news_detail.asp?id=8711

Porras, A. 2004. Análisis del mercado de sandía. Boletín de sandía 1. (en línea). Consultado el 16 de julio de 2008. Disponible en: http://www.mercanet.cnp.go.cr/SIM/Frutas_y_Vegetales/Historicos/Sandía/sandía_Octubre_2004.pdf

Rivera, MC. 1999. Manual sobre el Mejoramiento de Técnicas en el cultivo de Sandía bajo riego. Comayagua, Honduras. Proyecto de Desarrollo de Tecnología de Riego y Drenaje (PDTRD). p. 1, 6-7. (Serie No. MA1999PDTRD).