

**Evaluación de cuatro cepas de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani* en plántulas de pepino (*Cucumis sativa*)**

**Presentado por:**

Nicasio Rodrigo Morán Quintero

**Zamorano, Honduras  
Diciembre, 2007**

**Zamorano**  
**Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria**

**Evaluación de cuatro cepas de *Trichoderma harzianum*  
para el control de *Rhizoctonia solani* en plántulas de  
pepino (*Cucumis sativa*)**

Proyecto especial presentado como requisito parcial  
para optar al título de Ingeniero Agrónomo  
en el grado de Licenciatura Académica.

**Presentado por:**

Nicasio Rodrigo Morán Quintero

**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 o jurídicas se reservan los derechos de autor.

---

Nicasio Morán Quintero

**Zamorano, Honduras.  
Diciembre, 2007.**

**Evaluación de cuatro cepas de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani* en plántulas de pepino (*Cucumis sativa*)**

**Presentado por:**

Nicasio Rodrigo Morán Quintero

**Aprobado:**

---

Rogelio Trabanino, M.Sc.  
Asesor principal

---

Miguel Vélez, Ph.D.  
Director de 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

---

Juan X. Elizalde, Ing. Agr.  
Asesor

---

Abelino Pitty, Ph.D.  
Coordinador de Fitotecnia

## **DEDICATORIA**

A mis padres Nicasio y Magdalena por el amor y el sacrificio que han realizado para que pueda ser una persona de bien, por ser mis modelos de personas y por enseñarme que la vida es una hermosa armonía que se refleja en el eco de la existencia.

A mis hermanos Roberto, Mary, Pamela y Graciela, quienes han sido mis compañeros de vida y por vencer tantos obstáculos para poder superarnos.

A Geovanna por estar conmigo a cada instante, por el amor y el apoyo que me brindaste.

A mis amigos de Zamorano que siempre estuvieron allí cuando los necesité y que me dieron aliento cuando sentía que mis fuerzas fallarían.

A todos ustedes... de corazón, les dedico este trabajo.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios y a mis padres por el maravilloso tesoro de la vida, ellos mis motivos para luchar y seguir adelante.

Al Ing. Julio Bohórquez quien ha sido más que un tutor, un padre, gracias por su confianza y por abrirme las puertas a un mundo lleno de posibilidades.

Al Ing. Aquiles Bohórquez por tomar el lugar de hermano mayor y aconsejarme, gracias por las palabras de aliento y por sus consejos.

A mi amigo Edgar y a Juan Francisco, por estar siempre allí, listos para no dejarme caer y apoyarme cuando lo necesitaba, gracias de corazón hermanos.

Al Dr. Alfredo Rueda, Dr. Phill Arneson, Dr. Abelino Pitty por brindarme la oportunidad de aprender y por creer en mí como persona, por sus consejos y las enseñanzas.

A los Ing. Rogelio Trabanino, Miguel Cocom, Damir Torrico y en especial a Leonella Ramos por brindarme su apoyo, experiencia y guía en este proceso de aprendizaje llamado tesis. A Olga, Rosa, Lilian y todo el personal de Control Biológico.

A Deborah Casco y Estela Aguilar por su ayuda y consejo, por sus instrucciones y por la amistad que siempre me brindaron.

Al Dr. Juan Carlos Rosas, Ing. Juan Xavier Elizalde, Luz Henríquez y Tomasa Colindres por su ayuda en equipos, consejos y por la amistad que me brindaron en este proyecto, siempre estaré agradecido con ustedes.

## **AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES**

Al Señor Juan José Vilaseca Soler, la Sra. Milly Oneto y todas las personas quienes forman la Fundación Gabriel Vilaseca Soler “GAVISOL” por el apoyo económico y moral que siempre me han brindado, gracias por permitirme esta oportunidad de vivir un proceso tan enriquecedor como es estudiar en Zamorano.

A los Proyectos PROMIPAC, IPM – CRSP por la asistencia técnica y financiera al presente trabajo de investigación.

A ustedes, mi eterna gratitud.

## RESUMEN

Morán, N. 2007. Evaluación de cuatro cepas de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani* en plántulas de pepino (*Cucumis sativa*). Tesis de proyecto especial de Ingeniero Agrónomo en Ciencia y Producción Agropecuaria. Zamorano, Honduras. 15p

En el 2005 se produjeron en Honduras 73,35 millones de toneladas de pepino (FAOSTAT 2005); *Rhizoctonia solani* es uno de sus principales problemas fitosanitarios ya que causa el Mal del Talluelo; se ha comprobado que *Trichoderma harzianum* ejerce un buen control de este patógeno. Se evaluó la producción de conidias de las cepas Costa Rica, Aislamiento 1, Aislamiento 2, Raíz de pepino y Cepa Zamorano de *T. harzianum* en tres tubos de ensayos por tratamiento, y el control de *R. solani* y la velocidad de crecimiento de las cepas de *T. harzianum* en cuatro platos Petri con PDA por cepa; viabilidad se midió en medio PDA con un portaobjeto por cepa de *T. harzianum*. La cepa Costa Rica fue inferior en producción de conidias, Aislamiento 1 lo fue en viabilidad, no hubo diferencias en antagonismo, y en crecimiento Costa Rica fue superior; se seleccionó para evaluar en bandejas de germinación las cepas Costa Rica y Aislamiento 2. Tres bandejas (128 celdas cada una) por cada tratamiento fueron llenadas con medio PROMIX<sup>®</sup> y sembradas con semilla de pepino POINSET 76<sup>®</sup> sumergidas durante cinco minutos en una suspensión de conidias a dosis comercial ( $3 \times 10^{11}$  UFC/ha) de cada tratamiento de *Trichoderma harzianum*, se inoculó *Rhizoctonia solani* (4 ml por celda). Al final del experimento no hubo diferencia entre las cepas de *T. harzianum* en emergencia a los cinco días, longitud de raíz ni diámetro promedio de raíz; el Aislamiento 2 fue superior a los demás en porcentaje de mortalidad, peso seco foliar a los diez días y volumen radicular lo que promovió el incremento en crecimiento.

**Palabras clave:** Incremento en crecimiento, longitud de raíz, peso foliar seco, escaneo de raíces.



**CONTENIDO**

Portadilla.....	i
Autoría.....	ii
Página de firmas.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimiento.....	v
Agradecimiento a patrocinadores.....	vi
Resumen.....	vii
Contenido.....	viii
Índice de cuadros.....	ix
Índice de figuras.....	x
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>2</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>7</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>13</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>14</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>15</b>

## ÍNDICE DE CUADRO

Cuadro	Página
1. Descripción del material biológico utilizado en el ensayo de evaluación de cuatro cepas de <i>Trichoderma harzianum</i> para el control de <i>Rhizoctonia solani</i> en el Zamorano, Honduras.....	2
2. Escala cualitativa para la evaluación del poder de inhibición de <i>Trichoderma harzianum</i> frente <i>Rhizoctonia solani</i> en condiciones de laboratorio.....	4
3. Descripción de tratamientos fase de campo.....	4
4. Velocidad de crecimiento, antagonismo frente a <i>Rhizoctonia solani</i> de cuatro cepas de <i>Trichoderma harzianum</i> en condiciones de laboratorio en Zamorano, Honduras.....	8
5. Porcentaje de emergencia a los cinco días de plántulas de pepino inoculadas con <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>Rhizoctonia solani</i> sembradas en bandejas de germinación.....	9
6. Peso seco foliar de plantas de pepino en bandejas de germinación a los diez días después de la siembra.....	10
7. Mortalidad de plántulas de pepino inoculadas con <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>Rhizoctonia solani</i> en bandejas de germinación.....	10
8. Longitud y diámetro promedio de raíces de plántulas de pepino en bandejas de germinación a los diez días después de siembra.....	11
9. Área de raíces de plántulas de pepino en bandejas de germinación a los diez días después de siembra.....	12
10. Volumen de raíz de pepino de plántulas en bandejas de germinación a los diez días después del transplante.....	12

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1.	Producción de conidias de cuatro cepas de <i>Trichoderma harzianum</i> .....	7
2.	Viabilidad de cuatro cepas de <i>Trichoderma harzianum</i> .....	8

## INTRODUCCIÓN

El cultivo de pepino (*Cucumis sativa*) es un rubro importante de producción en Honduras. En el 2005 se produjeron 73,35 millones de toneladas siendo superado solamente por México y Cuba con 475 y 325 millones de toneladas, respectivamente (FAOSTAT 2005). Dentro de los problemas que se encuentran en su producción están las enfermedades producidas por hongos como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp. y *Scleroctinia* sp. Una de las medidas que se puede emplear para su control es el uso de hongos micoparasíticos y antagonistas como *Trichoderma* sp.

El *Trichoderma* es un hongo anaeróbico facultativo que se encuentra en la mayoría de los suelos agrícolas. Hay alrededor de 30 especies que registran efectos positivos en la agricultura y otras ramas. Este hongo se encuentra especialmente en zonas que contienen materia orgánica atacada por hongos (Páez y Bernaza 2006). El *Trichoderma* toma nutrientes y materia orgánica de los hongos parasitados destruyendo las hifas de *Rhizoctonia solani*, también se ha demostrado que tiene la capacidad de colonizar la superficie de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* y esporular sobre la misma (Salvador 2004, Bernal *et al.* 1996).

*Trichoderma harzianum* promueve el crecimiento vegetativo de cultivos como: banano, piña, papa, tomate, crisantemo, frijol, fresa, flores, maíz, tabaco, frutales, cebolla, melón, ajonjolí, lechuga, col, café, pimientón, zanahoria, ajo, aguacate, manzano y pino (Coloma 2003, Ramos 2006, Páez y Bernaza 2006). Usando *T. harzianum* al momento de siembra y *Paecilomyces liliacinus* al trasplante se puede obtener una mayor producción en lechuga orgánica al disminuir las poblaciones de nematodos (Méndez 2003).

En Honduras, *T. harzianum* es usado en unas 300 ha de hortalizas en 14 departamentos logrando incrementos en rendimiento de 15 a 25% y ahorros de \$50 a \$150 por hectárea (FINTRAC 2003). Por lo anterior, es necesario buscar, coleccionar, aislar, identificar y seleccionar cepas que tengan potencial para la industrialización, una mejor producción de conidias y mejor velocidad de crecimiento, poder de antagonismo y parasitismo de otros hongos.

El objetivo del estudio fue evaluar cuatro cepas de *Trichoderma* sp. en el laboratorio a fin de determinar la cepa con mejores características para el control de *R. solani* en el cultivo de pepino, evaluando parámetros como: la producción de conidias y viabilidad de las cepas de *T. harzianum*, el crecimiento de *T. harzianum* y la interacción con *R. solani* sobre el desarrollo de plantas de pepino en bandejas de germinación y a los diez días después del trasplante.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó desde junio hasta octubre de 2007 en el Centro de Control Biológico y el Laboratorio del Programa de Investigaciones en Frijol de la Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras, a 30 km de Tegucigalpa, Departamento de Francisco Morazán, Honduras. La localidad está a 800 msnm, tiene una temperatura promedio anual de 25°C y una precipitación anual de 1,100 mm.

El ensayo consistió en dos fases, una de laboratorio donde se evaluó la concentración y viabilidad de las conidias, velocidad de crecimiento de cuatro cepas de *T. harzianum* y el poder antagonico de las mismas frente a *R. solani*. Con los resultados de laboratorio se seleccionaron las dos mejores cepas para realizar las evaluaciones en campo; en bandejas se evaluó el efecto de las cepas seleccionadas contra *R. solani* en plántulas de pepino en bandejas de germinación.

**Metodología de Fase de Laboratorio.** Para la reproducción del material biológico (Cuadro 1) se sembraron tres platos de Petri de 90 × 15 mm de diámetro y alto, respectivamente, usando medio PDA. La cepa de *R. solani* se obtuvo en el Programa de Investigaciones en Frijol (PIF) de Zamorano.

Cuadro 1. Descripción del material biológico utilizado en el ensayo de evaluación de cuatro cepas de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani* en el Zamorano, Honduras.

Código	Descripción	Ingrediente activo	Procedencia
T1	Aislamiento suelo 1	<i>Trichoderma harzianum</i>	Laboratorio de Control Biológico de Zamorano.
T2	Aislamiento suelo 2	<i>Trichoderma harzianum</i>	
CZ	Cepa Zamorano	<i>Trichoderma harzianum</i>	
C	Cepa de Costa Rica	<i>Trichoderma harzianum</i>	Costa Rica
R	Patógeno de suelo	<i>Rhizoctonia solana</i>	Zamorano, Programa de Investigaciones en Frijol (PIF).

La producción de conidias fue evaluado en tubos de ensayo esterilizados de 100 × 15 mm con PDA donde se sembró un corte circular de 6 mm de diámetro impregnado de conidias de cada tratamiento; el corte fue realizado con una Pipeta Pasteur sobre una placa Petri con colonias de cada tratamiento, los tubos fueron incubados durante siete días a

28°C ±1. Después de la incubación se agregaron 5 ml de agua a cada tubo y se agitó durante 25 segundos, luego se agregaron 5 ml más de agua; esta suspensión fue diluida tres veces en una relación de 10:1 (1 ml de suspensión más 9 ml de agua) en contenedores de cristal de 20 ml de capacidad; se realizó el conteo en Cámara de Neubauer, se estableció la concentración usando la fórmula:

$$\text{Conidias/ml} = N (1 \times 10^5) (1 \times 10^n)$$

Donde:

N= promedio del conteo de conidias.

$1 \times 10^4$ = factor de corrección de la cámara.

<sup>n</sup> = número de diluciones de cada tubo.

Para medir la viabilidad se obtuvieron tiras rectangulares de medio PDA de 1 × 6 mm colocada sobre un portaobjetos, cada tira fue inoculada con tres gotas de una suspensión de conidias y se incubó durante 16 horas a 28°C ±1. Después de ser incubada se colocó el portaobjeto en microscopio óptico (200X), se contaron 100 conidias de cada gota; se determinó el porcentaje de viabilidad usando la fórmula:

$$\text{Viabilidad} = (\text{Conidias germinadas} / \text{Total de conidias contadas}) \times 100$$

Se realizó el mismo procedimiento para cada tratamiento normalizando los datos mediante la función arco seno.

Para medir la velocidad de crecimiento se tomó un corte circular de 6 mm de diámetro impregnado con micelio de *T. harzianum* y se sembró en el centro de una placa de 90 × 20 mm con medio PDA, se selló con película de parafina (Parafilm M) y se incubó a 28°C ±1 durante 5 días; diariamente se midió el diámetro de la colonia alcanzado con una regla milimetrada. Para el análisis se tomó en cuenta el tiempo necesario para alcanzar 90 mm de diámetro.

El ensayo de poder antagónico de *T. harzianum* frente a *R. solani* consistió en tomar una placa de cada cepa de *T. harzianum* y de *R. solani* haciendo cortes en forma de discos con una pipeta Pasteur de 6 mm de diámetro. Un corte con *T. harzianum* fue colocado en el otro extremo de una placa Petri con 20 ml de PDA y en el otro extremo fue colocado un corte con *R. solani*, la placa fue sellada con papel parafina e incubada a 28°C ± 1. Se evaluó el grado de colonización del patógeno por cada tratamiento mediante escala empleada por Bernal (1996) (Cuadro 2) y los días necesarios para alcanzar grado cuatro en la escala.

Cuadro 2. Escala cualitativa para la evaluación del poder de inhibición de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia solani* en condiciones de laboratorio (Bernal 1996).

Grado	Capacidad Antagónica
0	Ninguna invasión de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
1	Invasión del 25% de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
2	Invasión de 50% de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
3	Invasión de 75% del total de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
4	Invasión del 100% de la superficie de la colonia del hongo patógeno y esporulación sobre ella.

Modificado por Morán (2007).

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con cuatro tratamientos, y cuatro repeticiones para las pruebas de velocidad de crecimiento, antagonismo y conidiación, y tres repeticiones para viabilidad. Se usó un Análisis de Varianza (ANDEVA) y el Modelo Lineal General (GLM) utilizando una separación de medias por el método de Tukey para una significancia de  $P \leq 0.05$  usando el Programa Estadístico Statistix 8<sup>®</sup>.

**Metodología bandejas de germinación.** Con los datos obtenidos se seleccionaron las dos cepas que presentaron las mejores características para su estudio en bandejas de germinación y bolsas de producción. Se usaron dos cepas de *T. harzianum* y una combinación de ambas de  $1 \times 10^7$  UFC/ml contra *Rhizoctonia solani*; se usó además un testigo absoluto (Cuadro 3).

Para reproducir las cepas se siguió la metodología de producción del laboratorio de Control Biológico de Zamorano. Para *T. harzianum* se elaboraron matrices en botellas rectangulares de cristal donde se colocaron 100 g de arroz y 30 ml de agua, las matrices fueron tapadas con algodón y esterilizadas en autoclave a 121°C durante 15 minutos; en una cámara de siembra se tomó una placa con colonias de cada tratamiento y con una espátula se colocó el contenido de la misma en un Erlenmeyer con 60 ml de agua esterilizada. Cada matriz fue inoculada con 30 ml de la suspensión preparada e incubada a 28°C +1 durante siete días. *T. harzianum* Costa Rica tuvo el mismo procedimiento, pero se utilizaron 50 ml de agua por matriz antes de esterilizarla y fue sometida a un periodo de 16 horas de oscuridad e incubada a 29°C ± 1. De las reproducciones individuales de las cepas de *T. harzianum* se preparará la cepa combinada.

Cuadro 3. Descripción de tratamientos en bandejas de germinación.

<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	Descripción
A2+C	Con	<i>Trichoderma harzianum</i> de Costa Rica (50%)+ Aislamiento 2 (50%) con <i>Rhizoctonia solani</i> .
A2+C	Sin	Cepa <i>Trichoderma harzianum</i> Aislamiento 2 sin <i>Rhizoctonia solani</i> .
C	Con	<i>Trichoderma harzianum</i> Costa Rica con <i>Rhizoctonia solani</i> .
C	Sin	<i>Trichoderma harzianum</i> Costa Rica sin <i>Rhizoctonia solani</i> .
T2	Con	<i>Trichoderma harzianum</i> Aislamiento 2 con <i>Rhizoctonia solani</i> .
T2	Sin	<i>Trichoderma harzianum</i> Aislamiento 2 sin <i>Rhizoctonia solani</i> .
T0	Con	Sin <i>Trichoderma harzianum</i> con <i>Rhizoctonia solani</i> .
T0	Sin	Sin <i>Trichoderma harzianum</i> sin <i>Rhizoctonia solani</i> .

*R. solani* fue colocada en placa de Petri con medio de cultivo agar-agua durante 48 horas. Pasado este tiempo se realizaron cortes circulares de 6 mm de diámetro que fueron colocados en placas Petri con PDA e incubadas por 48 horas; luego se cortó de la misma forma y tamaño que el anterior y se colocaron cinco discos por cada plato de Petri con medio V8 (agua destilada 800 ml, carbonato de calcio 3 g y jugo de vegetales V8 200 ml) donde fue incubada por 48 horas más a  $27^{\circ}\text{C} \pm 1$ .

Para preparar el inóculo de las cepas de *T. harzianum* se lavó las matrices de botellas de cristal inoculadas con las cepas de *T. harzianum* usando 200 ml de agua esterilizada para formar una suspensión. Se ajustó la concentración a la aplicada en el campo ( $3.0 \times 10^{11}$  conidias/ha) mediante la fórmula:

$$V_1 C_1 = V_2 C_2$$

Donde:

V1 = Volumen de la suspensión madre.

V2 = Volumen final (deseado) del inóculo.

C1 = Concentración de la suspensión madre.

C2 = Concentración ajustada (deseada).

Se humedeció el medio PROMIX<sup>®</sup> y fue colocado en bandejas. Se regó a presión con una manguera para eliminar posibles cámaras de aires y se colocaron en el invernadero del Centro de Control Biológico de Zamorano con temperatura de  $26^{\circ}\text{C} \pm 2$ .



Se pesaron 65 g de semillas de pepino (384 semillas por tratamiento) de la variedad POINSET 78<sup>®</sup> (SEMINIS<sup>®</sup>) y se dividieron en cuatro grupos colocándolas en papel toalla; luego fueron colocadas en una Placa de Petri. Se agregó una suspensión de conidias de *T. harzianum* ajustada a  $1 \times 10^7$  conidias por mililitro donde permanecieron por cinco minutos, colocando una semilla por celda.

*R. solani* fue inoculada con una pipeta Eppendorf a razón de 4 ml por celda el mismo día de la siembra en las bandejas; para esto se colectó el sobrenadante de 33 placas Petri con medio V8 descritas en la reproducción de cepa de *R. solani* y se licuó con 200 ml de agua destilada que fue diluido en 12 litros de agua para aplicar a las bandejas.

**Variables medidas.** Se midió el porcentaje de sobrevivencia a los 6 y 10 días post-siembra en bandejas de germinación. Se determinó contando el número de plantas muertas dividido para el total de plantas de la unidad experimental multiplicada por 100.

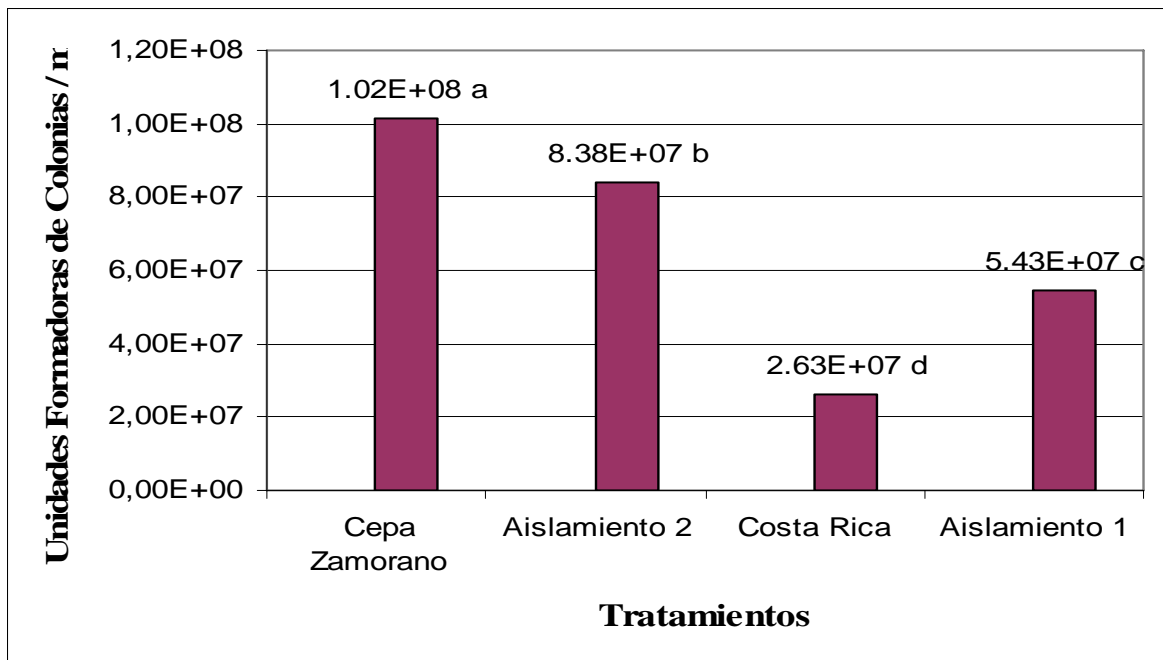
El peso foliar seco a los diez días después de la siembra en bandejas se determinó extrayendo la planta de la bandeja y separando el área foliar de la raíz con un bisturí; se colocó el área foliar en un horno a 70°C y se mantuvo allí durante 40 horas. El peso se determinó usando una balanza.

Longitud de raíces (cm), diámetro promedio (mm), área radicular promedio (cm<sup>2</sup>), volumen radicular promedio (cm<sup>3</sup>) se midieron escaneando las raíces en un Scanner Epson Perfection y analizándolas mediante el software WinRHIZO V2005c.

Se usó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial de  $4 \times 2$  con cuatro niveles de *T. harzianum* (Aislamiento 2, Costa Rica, Aislamiento 2 + Costa Rica, Testigo sin *T. harzianum*) y dos niveles de *R. solani* (con y sin *R. solani*). Se tuvieron tres repeticiones (cada repetición fue una bandeja de 128 celdas). Se realizó un Análisis de Varianza (ANDEVA) mediante un Modelo Lineal General (GLM) utilizando una separación de medias por el método de Tukey para una significancia de  $P \leq 0.05$  usando el Programa Statistix 8<sup>®</sup>.

## RESULTADOS DISCUSIÓN

La cepa Zamorano produjo  $1.02 \times 10^8$  UFC/ml, superior ( $P \leq 0.05$ ) a los demás tratamientos seguido por el Aislamiento 2 con  $8.37 \times 10^7$  UFC/ml, la cepa Costa Rica fue la que tuvo la menor producción con  $2.63 \times 10^7$  UFC/ml (Figura 1).



**Figura 1.** Producción de conidias de cuatro cepas de *Trichoderma harzianum*.

La velocidad de crecimiento de la cepa Costa Rica fue superior ( $P \leq 0.05$ ) a la de las demás, alcanzando un diámetro promedio de colonia al tercer día de 90.00 mm. Las demás cepas tuvieron un comportamiento similar ( $P \geq 0.05$ ) (Cuadro 4).

Al evaluar el poder de inhibición de *T. harzianum* frente a *R. solani* se encontró que no se encontraron diferencias ( $P \geq 0.05$ ) entre los tratamientos. El tratamiento Costa Rica alcanzó el grado cuatro (Cuadro 2) a los siete días en promedio, el Aislamiento 1 alcanzó el mismo grado al día nueve, la Cepa Zamorano y el Aislamiento 2 alcanzaron este grado a los diez días (Cuadro 4).

Cuadro 4. Velocidad de crecimiento, antagonismo frente a *Rhizoctonia solani* de cuatro cepas de *Trichoderma harzianum* en condiciones de laboratorio en Zamorano, Honduras.

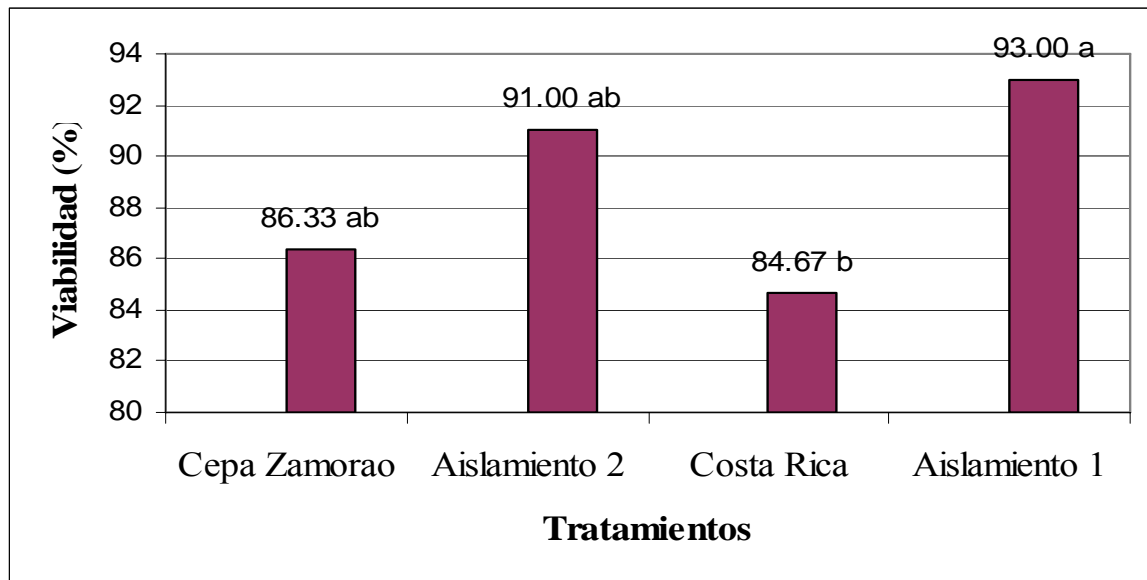
<i>Trichoderma harzianum</i>	Antagonismo (días a grado cuatro)	Velocidad de crecimiento (Diámetro colonia al día tres en mm)
Costa Rica	7 <sup>a</sup>	90.0 <sup>a</sup>
Cepa Zamorano	10 <sup>a</sup>	69.7 <sup>b</sup>
Aislamiento 1	9 <sup>a</sup>	66.7 <sup>b</sup>
Aislamiento 2	10 <sup>a</sup>	66.5 <sup>b</sup>
CV <sup>‡</sup>	26	2.8
GL <sup>‡</sup>	23	23.0

Medias con letras diferentes no son iguales para Tukey ( $P \leq 0.05$ )

<sup>‡</sup> Coeficiente de Variación

<sup>‡</sup> Grados de libertad

En la prueba de viabilidad el Aislamiento 1 alcanzó 93.0% de viabilidad siendo superior ( $P \leq 0.05$ ) a la cepa Costa Rica que tuvo el menor porcentaje de viabilidad (84.7%) (Figura 2).



**Figura 2.** Viabilidad de cuatro cepas de *Trichoderma harzianum* en porcentaje de germinación.

Las pruebas anteriores demostraron que la cepa Costa Rica presentó las mejores características de crecimiento y que la cepa Aislamiento 2 al no diferir de los demás tratamientos y antagonismo debe ser seleccionada por su producción comercial en Zamorano.

Al evaluar la emergencia de las plántulas de pepino se encontró menor porcentaje ( $P \leq 0.05$ ) de emergencia en los tratamientos inoculados con *R. solani*. Los datos no coinciden con los resultados reportados por Bernal (2006) quien encontró que semillas inoculadas con *Trichoderma harzianum* tienden a germinar y emerger más rápido. Comparando las plántulas que fueron tratadas con *Trichoderma harzianum* se encontró que no existen diferencias significativas en el porcentaje de germinación (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de emergencia a los cinco días de plántulas de pepino inoculadas con *Trichoderma harzianum* y *Rhizoctonia solani* sembradas en bandejas de germinación.

Tratamiento	<i>Rhizoctonia solani</i>	Emergencia (%)
Aislamiento 2	Sin	96.3 <sup>a</sup>
Costa Rica	Sin	96.6 <sup>a</sup>
Aislamiento 1 + Costa Rica	Sin	95.5 <sup>a</sup>
Testigo sin <i>Trichoderma</i> sp.	Sin	95.8 <sup>a</sup>
Aislamiento 2	Con	28.2 <sup>b</sup>
Costa Rica	Con	12.0 <sup>b</sup>
Aislamiento 2 + Costa Rica	Con	15.6 <sup>b</sup>
Testigo sin <i>Trichoderma</i> sp.	Con	12.0 <sup>b</sup>
CV <sup>‡</sup>		10.8
GL <sup>‡</sup>		23.0

Medias con letras diferentes no son iguales para Tukey ( $P \leq 0.05$ )

<sup>‡</sup> Coeficiente de Variación

<sup>‡</sup> Grados de libertad

Al evaluar el peso foliar seco de las plántulas en las bandejas de germinación se encontró que el Aislamiento 2 produjo el mayor peso seco ( $P \leq 0.05$ ). Los tratamientos Costa Rica sin *Rhizoctonia* sp y Aislamiento 2 con *Rhizoctonia* sp. son iguales ( $P \leq 0.05$ ) (Cuadro 6); los Testigo con/sin *T. harzianum* inoculados o no con *R. solani* mostraron los pesos menores debido a que no tienen un estimulante de crecimiento como *T. harzianum* y a la presión negativa que ejerce el patógeno sobre el crecimiento de las plántulas, sin embargo, son iguales a los tratamientos Aislamiento 2 + Costa Rica con y sin *R. solani*, y cepa Costa Rica inoculada con *R. solani*. Esto muestra que el *T. harzianum* promueve el crecimiento foliar aún a los diez días después de la siembra. Estos datos son similares a los reportados por Ramos (2006) quien encontró que había un incremento en el peso seco de plantas de banano variedad Gran Enano al ser inoculadas con *T. harzianum*.

Cuadro 6. Peso foliar seco de plantas de pepino en bandejas de germinación a los diez días después de la siembra.

Tratamiento	<i>Rhizoctonia solani</i>	Peso foliar seco (g)
Aislamiento 2	Sin	0.28 <sup>a</sup>
Costa Rica	Sin	0.15 <sup>b</sup>
Aislamiento 2 + Costa Rica	Sin	0.04 <sup>c</sup>
Testigo sin <i>Trichoderma</i> sp.	Sin	0.07 <sup>c</sup>
Aislamiento 2	Con	0.20 <sup>b</sup>
Costa Rica	Con	0.03 <sup>c</sup>
Aislamiento 2 + Costa Rica	Con	0.07 <sup>c</sup>
Testigo sin <i>Trichoderma</i> sp.	Con	0.06 <sup>c</sup>
CV <sup>‡</sup>		22.41
GL <sup>‡</sup>		23.00

Medias con letras diferentes no son iguales para Tukey ( $P \leq 0.05$ )

<sup>‡</sup> Coeficiente de Variación

<sup>‡</sup> Grados de libertad

Los tratamientos con menor mortalidad ( $P \leq 0.05$ ) fueron los no inoculados con *R. solani*. Excepto el Aislamiento 2 con *R. solani* que presentó la misma mortalidad que los no inoculados. *T. harzianum* Aislamiento 2 redujo significativamente ( $P \leq 0.05$ ) la mortalidad en plántulas de pepino en comparación con el testigo sin *T. harzianum* inoculado con *R. solani* (Cuadro 7).

Cuadro 7. Mortalidad de plántulas de pepino inoculadas con *Trichoderma harzianum* y *Rhizoctonia solani* en bandejas de germinación.

Tratamiento	<i>Rhizoctonia solani</i>	Mortalidad (%)
Testigo sin <i>Trichoderma</i> sp.	Con	59.6 <sup>a</sup>
Costa Rica	Con	38.2 <sup>ab</sup>
Aislamiento 2 + Costa Rica	Con	31.0 <sup>abc</sup>
Aislamiento 2	Con	13.5 <sup>bc</sup>
Testigo sin <i>Trichoderma</i> sp.	Sin	0.0 <sup>c</sup>
Costa Rica	Sin	0.0 <sup>c</sup>
Aislamiento 2 + Costa Rica	Sin	0.0 <sup>c</sup>
Aislamiento 2	Sin	0.0 <sup>c</sup>
CV <sup>‡</sup>		68.0
GL <sup>‡</sup>		23.0

Medias con letras diferentes no son iguales para Tukey ( $P \leq 0.05$ )

<sup>‡</sup> Coeficiente de Variación

<sup>‡</sup> Grados de libertad

La longitud y el diámetro promedio de las raíces fue similar ( $P \leq 0.05$ ) en todos los tratamientos. (Cuadro 8).

Cuadro 8. Longitud y diámetro promedio de raíces de plántulas de pepino en bandejas de germinación a los diez días después de siembra.

Tratamiento	<i>Rhizoctonia solani</i>	Longitud de raíz (cm)	Diámetro promedio de raíz (cm)
Aislamiento 2	Sin	209.1	0.32
Costa Rica	Sin	227.5	0.34
Aislamiento 2 + Costa Rica	Sin	172.6	0.35
Testigo sin <i>Trichoderma</i> sp.	Sin	134.4	0.32
Aislamiento 2	Con	263.3	0.33
Costa Rica	Con	205.8	0.34
Aislamiento 2 + Costa Rica	Con	213.5	0.35
Testigo sin <i>Trichoderma</i> sp.	Con	139.9	0.31
CV <sup>‡</sup>		23.6	7.26
GL <sup>‡</sup>		23	23

Medias con letras diferentes no son iguales para Tukey ( $P \leq 0.05$ )

<sup>‡</sup> Coeficiente de Variación

<sup>‡</sup> Grados de libertad

El área superficial de las raíces fue mayor ( $P \leq 0.05$ ) en los tratamientos inoculados con *T. harzianum* evidenciando la eficacia del hongo en promover el crecimiento radicular de las plántulas de pepino aún en presencia de *R. solani* (Cuadro 9). El Aislamiento 2 inoculado con *R. solani* fue el que presentó la mayor área superficial, posiblemente resultado de la respuesta de la planta por incrementar crecimiento para competir con el patógeno y el estímulo de *T. harzianum* que promueve el crecimiento. Las otras cepas de *T. harzianum* tuvieron un efecto similar.

Cuadro 9. Área de raíces de plántulas de pepino en bandejas de germinación a los diez días después de siembra.

Tratamiento	<i>Rhizoctonia solani</i>	Área de raíces (cm <sup>2</sup> )
Aislamiento 2	Sin	23.88 <sup>ab</sup>
Costa Rica	Sin	22.01 <sup>ab</sup>
Aislamiento 2 + Costa Rica	Sin	21.66 <sup>bc</sup>
Testigo sin <i>Trichoderma</i> sp.	Sin	14.65 <sup>c</sup>
Aislamiento 2	Con	27.85 <sup>a</sup>
Costa Rica	Con	17.55 <sup>ab</sup>
Aislamiento 2 + Costa Rica	Con	23.33 <sup>ab</sup>
Testigo sin <i>Trichoderma</i> sp.	Con	13.25 <sup>c</sup>
CV <sup>‡</sup>		21.36
GL <sup>‡</sup>		23

Medias con letras diferentes no son iguales para Tukey ( $P \leq 0.05$ )

<sup>‡</sup> Coeficiente de Variación

<sup>‡</sup> Grados de libertad

El volumen radicular del pepino con tratamiento *T. harzianum* Aislamiento 2 inoculado con *R. solani* fue diferente ( $P \leq 0.05$ ) a los tratamientos Testigo con y sin con *R. solani*, mostrando un efectivo incremento en crecimiento de plántulas de pepino aún bajo la presión del patógeno (Cuadro 10); los demás tratamientos son iguales al Testigo sin *T. harzianum* sin *R. solani* demostrando poco control del patógeno y poco incremento en el crecimiento de las plántulas de pepino.

Cuadro 10. Volumen de raíz de pepino de plántulas en bandejas de germinación a los diez días después del trasplante.

Tratamiento	<i>Rhizoctonia solani</i>	Volumen de raíz (cm <sup>3</sup> )
Aislamiento 2	Sin	0.17 <sup>abc</sup>
Costa Rica	Sin	0.20 <sup>ab</sup>
Aislamiento 2 + Costa Rica	Sin	0.15 <sup>abc</sup>
Testigo sin <i>Trichoderma</i> sp.	Sin	0.11 <sup>bc</sup>
Aislamiento 2	Con	0.22 <sup>a</sup>
Costa Rica	Con	0.19 <sup>abc</sup>
Aislamiento 2 + Costa Rica	Con	0.21 <sup>ab</sup>
Testigo sin <i>Trichoderma</i> sp.	Con	0.10 <sup>c</sup>
CV <sup>‡</sup>		19.29
GL <sup>‡</sup>		23

Medias con letras diferentes no son iguales para Tukey ( $P \leq 0.05$ )

<sup>‡</sup> Coeficiente de Variación

<sup>‡</sup> Grados de libertad

## CONCLUSIONES

- La cepa de *T. harzianum* Cepa Zamorano fue la que presentó el nivel de conidiación más alto. La mayor velocidad de crecimiento la alcanzó la cepa Costa Rica. El Aislamiento 1 alcanzó el porcentaje más alto de viabilidad.
- Los tratamientos inoculados con *R. solani* tuvieron bajos porcentajes de emergencia al día cinco, comparados con los que no lo fueron.
- El peso seco foliar incrementó con el Aislamiento 2 con o sin *R. solani* y con Costa Rica sin *R. solani*.
- La longitud y el diámetro promedio de raíces fue similar entre los tratamientos.
- El Área superficial de los tratamientos con *T. harzianum*, excepto Aislamiento 2 + Costa Rica sin *R. solani* fueron diferentes de los tratamientos que no tuvieron *T. harzianum*. El volumen radicular fue superior con *T. harzianum* Aislamiento 2 inoculado con *R. solani*.
- *T. harzianum* promueve el incremento en crecimiento de plántulas de pepino y ayuda en la protección de las mismas contra *R. solani* siendo el Aislamiento 2 el que presentó el mejor perfil de control contra *R. solani* y promoción de crecimiento.



## RECOMENDACIONES

- Evaluar el crecimiento de las plántulas de pepino durante un periodo mayor.
- Repetir este ensayo con otros cultivos de la región.
- Producir *T. harzianum* Aislamiento 2 ya que presenta el mejor perfil de control contra *R. solani* y de promoción de crecimiento.

## LITERATURA CITADA

- Bernal, A., Andreu, C., Moya, M., González, M. y Fernández, O. 1996. Utilización de *Trichoderma sp* como alternativa ecológica para el control de *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp *cubense* (e.f.smith) snyd. & hans. (En línea). Consultado el 03 de mayo de 2007. Disponible en: <http://www.virtualcentre.org/es/enl/BTJ%20Taller/bernalalexander.htm>
- Coloma Peralta, M. 2003. Evaluación técnica y económica de la inoculación de los cultivos de pepino, lechuga y tomate con *Trichoderma harzianum* en Zamorano. Tesis presentada en opción a la obtención del grado de Ing. Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. Tegucigalpa, Honduras. 19 p
- FAOSTAT, 2005. Organización de las Naciones Unidas. (en línea) Consultado el 22 de septiembre, disponible en: <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=340&lang=es>
- FINTRAC. 2003. Publicación sobre *Trichoderma harzianum*. (en línea) Consultado el 10 de mayo de 2007. disponible en: <http://www.zamorano.edu/zamonoticias/cyp/ccbc/natura.htm>
- Méndez Martínez, J. 2003. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* y *Paecilomyces liliacinus* en el rendimiento de lechuga en Zamorano. Tesis presentada en opción a la obtención del grado de Ing. Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. Tegucigalpa, Honduras. 16 p
- Páez, O. Bernaza, G. 2006. Uso agrícola del *Trichoderma*. (en línea) Consultado el 04 de mayo de 2007. Disponible en: <http://www.soil-fertility.com/trichoderma/espagnol/index.shtml>
- Ramos Martínez, L. 2006. Efecto de Hongos Endofíticos sobre Promoción de Crecimiento en Vitro plantas de Banano y Piña. Tesis presentada en opción a la obtención del grado de Ing. Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. Tegucigalpa, Honduras. 29 p
- Salvador Zunino, G. 2004. Evaluación de tres productos de control biológico comerciales a base de *Trichoderma sp.* y un aislamiento de *trichoderma sp. in vitro* con énfasis en pruebas de control de calidad. Tesis presentada en opción a la obtención del grado de Ing. Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. Tegucigalpa, Honduras. 18 p