



I
D
I
A
F



INSTITUTO DOMINICANO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y FORESTALES

Sociedad Dominicana de Investigadores Agropecuarios y
Forestales (SODIAF)

Sexto Congreso de la SODIAF

"Efectividad *in vitro* de cepas de *Trichoderma* spp. en la
supresión del crecimiento micelial de hongos fitopatógenos de
suelos"

Socorro García, Pedro Núñez, Juan de Dios Moya,
Elpidio Avilés, Feliciano Andújar

sgarcia@idiaf.gov.do



PROYECTO
CONIAF-IDIAF/
23-08/RN

Juan Dolio, San Pedro de Macorís,
República Dominicana

24 de octubre de 2013

CONTENIDO

-  Introducción
-  Objetivo
-  Materiales y Métodos
-  Resultados
-  Conclusiones
-  Recomendaciones
-  Agradecimientos
-  Referencias

INTRODUCCIÓN

- En República Dominicana existen en la actualidad aproximadamente 600 hectáreas dedicadas a la producción de vegetales en invernadero.
- Según reporte de PROMEFRIN en el año 2011 la producción de vegetales fue de 40,590 toneladas métricas.
- La exportación de los vegetales fue de 29,181 t y generaron US\$58.5 millones; y el resto se comercializó internamente y generó RD\$549.0 millones (PROMEFRIN, 2012).



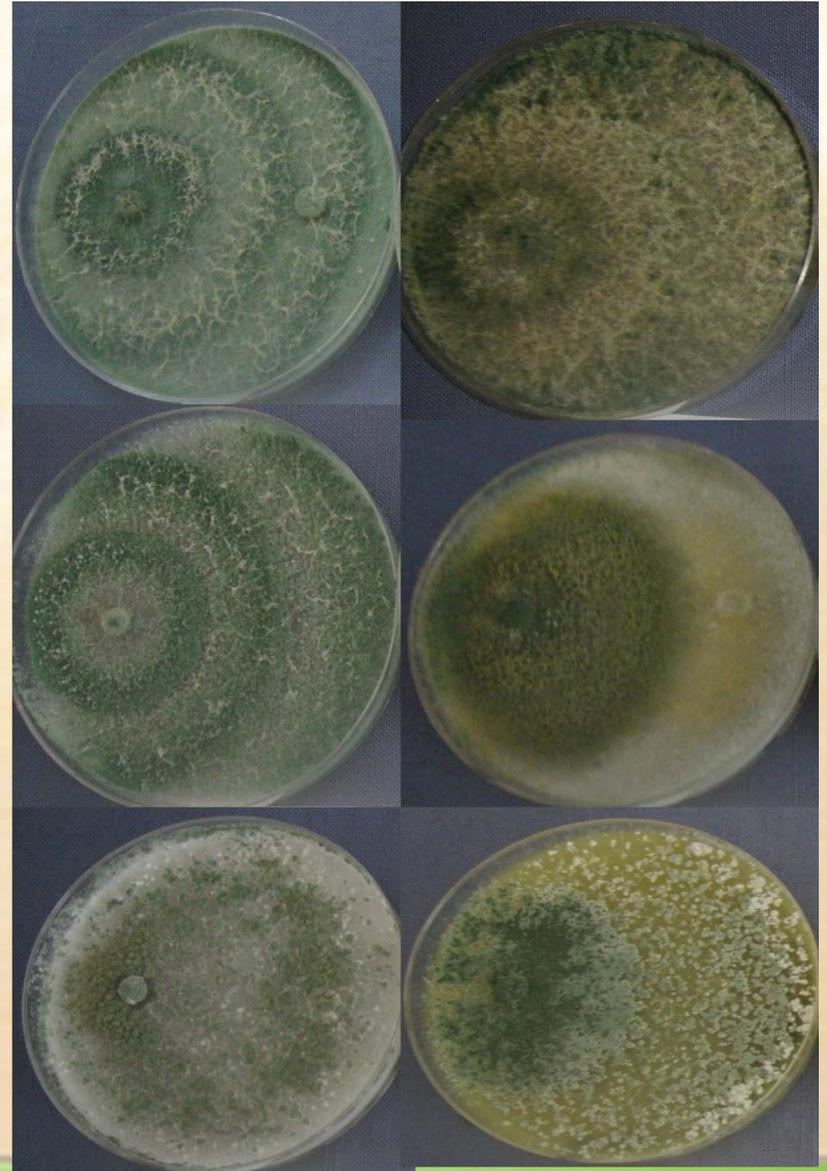
INTRODUCCIÓN

- La mayoría de los cultivos hortícolas a nivel de invernadero presentan problemas de enfermedades radicular en la Rep. Dom. causadas por los principales fitopatógenos de suelos como son:
 - *Fusarium solani*
 - *Rhizoctonia solani*
 - *Phytophthora capsici*
 - *Sclerotium rolfsii*
- En invernaderos de San José de Ocoa se reportó incidencia de *Fusarium* (100%), *Phytophthora* (50%) y *Rhizoctonia* (41.5%) en el agua de riego y sustrato (Hubert, 2008)



INTRODUCCIÓN

- Existen varios métodos de control para los hongos fitopatógenos entre los que se encuentra el control biológico.
- El uso de hongos antagonistas *Trichoderma* spp. es una de las estrategias más promovidas para el control biológico de los microorganismo fitopatógenos de suelo.



INTRODUCCIÓN

- Estudios realizados comprueban la efectividad de *Trichoderma* spp. en el control de hongos fitopatógenos en laboratorio e invernadero ((Moya *et al.*, 2004; Moya y Andújar, 2004; Cholango, 2009).
- Con la utilización de este método podemos obtener alimentos inocuos, lo cual nos evita el rechazo de los mercados internacionales por residuos de plaguicidas.
- Además evita la contaminación ambiental, el aumento en la aparición de resistencia, riesgo para la salud de las personas dentro de los invernaderos y el alto costo de producción.

INTRODUCCIÓN

- El éxito del control biológico depende principalmente de la utilización de microorganismos aislados en lugares nativos donde se presente la enfermedad. (Harman, 2006).
- La utilización de cepas nativas de *Trichoderma* spp. es ventajoso, ya que están adaptadas a las condiciones ecológicas de nuestros suelos y no corren el riesgo de no adaptarse como podría suceder con las importadas.
- Además tiene la ventaja de dar origen a la creación de microempresas nacionales para la producción artesanal de las mismas. De esta manera se ahorrarían divisas por la no importación de productos formulados de estos hongos importados.

OBJETIVO

Evaluar la efectividad *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. como antagonistas de *Fusarium solani*, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*, fitopatógenos de suelo causantes de enfermedades radiculares de cultivos en invernaderos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Experimental

Hongo

Procedencia

Trichoderma spp. (85 aislados)

La Vega, San Jose de Ocoa y
Espaillat

Fitopatogenos:

Fusarium solani
Phytophthora capsici
Rhizoctonia solani
Sclerotium rolfsii

La Vega, Hermanas Mirabal y
Espaillat

MATERIALES Y MÉTODOS

Medio de cultivo:

Papa Dextrosa Agar (PDA)

- Papa 200 g
- Dextrosa 20 g
- Agar 20 g
- Agua destilada 1000 ml

Plato Petri: 86 mm de diámetro con 10 ml de PDA

Cultivo: Discos de micelios de 5 mm de diámetro

Incubación: 25-30°C. en la oscuridad

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño Experimental:

Completamente al azar, 429 tratamientos y 3 repeticiones.

Tratamiento	Cantidad
Testigos relativos de <i>Trichoderma</i>	85
Testigos relativos de patógenos	4
<i>Trichoderma</i> vs. patógenos	340
Total	429

Se establecieron 8 experimentos con 10 cepas y uno con 5 cepas de *Trichoderma*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Variable evaluada:

Crecimiento micelial radial en mm.

Frecuencia de evaluación:

Cada 24 horas

Análisis de datos:

Análisis de varianza no paramétrica:

Kruskal-Wallis, p. 5 %

MATERIALES Y MÉTODOS

Escala cualitativa para determinar la efectividad antagonista (antagonismo) de *Trichoderma* sobre los hongos fitopatógenos de suelo.

Grado	Antagonismo	Crecimiento micelial sobre los fitopatógenos (mm)
0	Nulo	< 0
1	Muy bajo	0-10
2	Bajo	11 _ 15
3	Moderado	16-40
4	Alto	41-55
5	Muy alto	≥ 56

RESULTADOS

Análisis de varianza. Prueba Kruskal Wallis: $H 984.72$ $p < 0.0001$

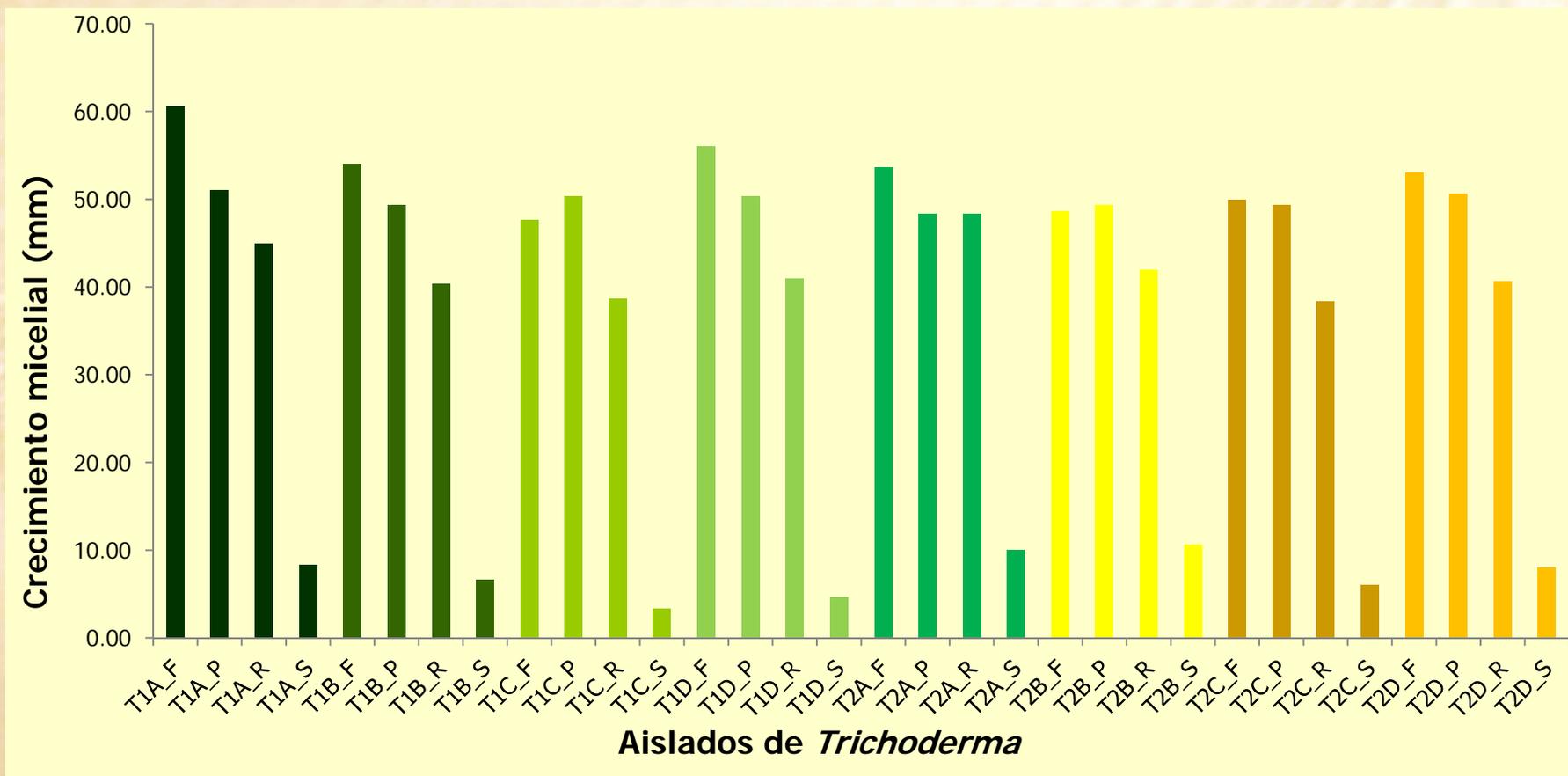


Fig. 1. Crecimiento micelial de cepas de *Trichoderma* (T1A-T2D) en presencia de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Phytophthora*.

RESULTADOS



T1A

T1A vs *Fs*

Fusarium (Fs)



T1A

T1A vs *Rh*

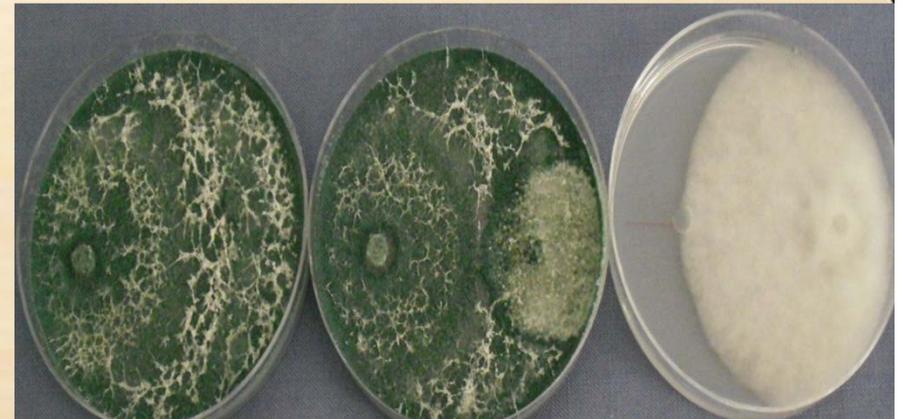
Rhizoctonia (Rh)



T1A

T1A vs *Sc*

Sclerotium (Sc)



T1A

T1A vs *Ph*

Phytophthora (Ph)

RESULTADOS

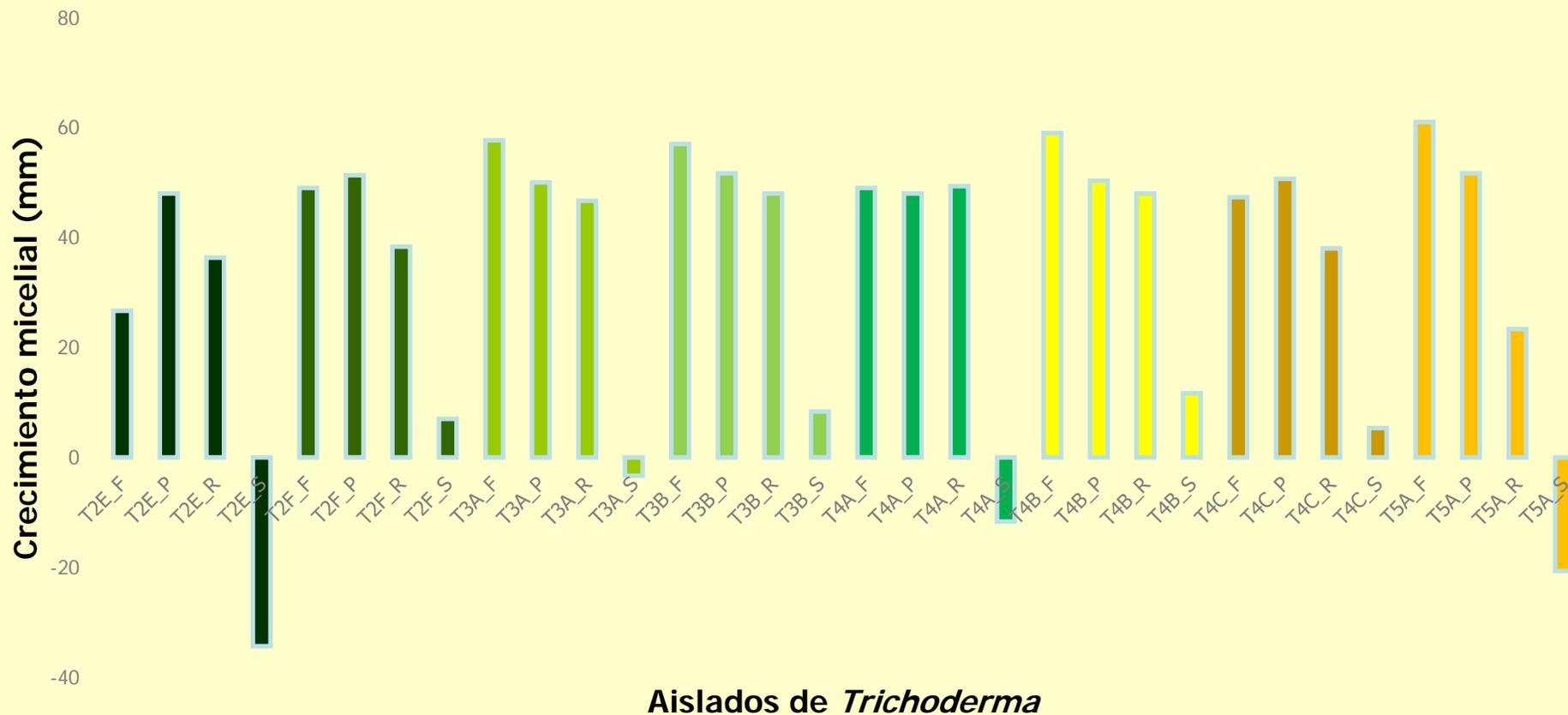


Fig. 2. Crecimiento micelial de cepas de *Trichoderma* (T2E-T5A) en presencia de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Phytophthora*.

RESULTADOS



T2F

T2F vs *Fs*

Fusarium (Fs)



T2F

T2F vs *Rh*

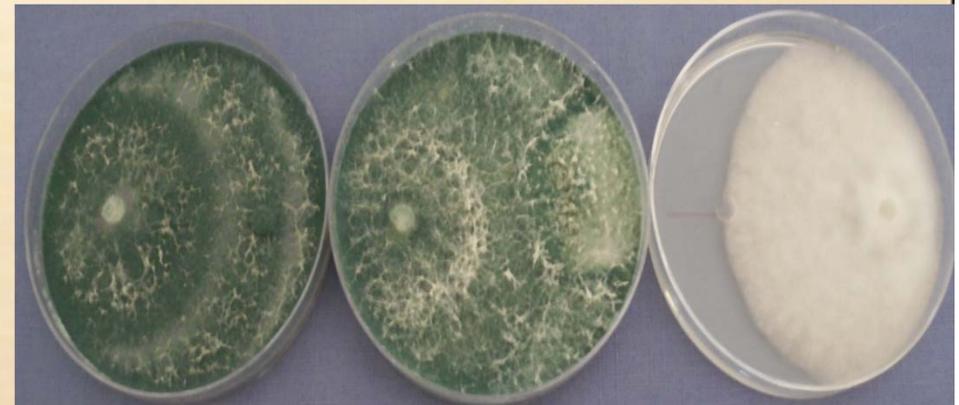
Rhizoctonia (Rh)



T2F

T2F vs *Sc*

Sclerotium (Sc)



T2F

T2F vs *Ph*

Phytophthora (Ph)

RESULTADOS



T2E

T2E vs *Sc*

Sclerotium (Sc)

RESULTADOS

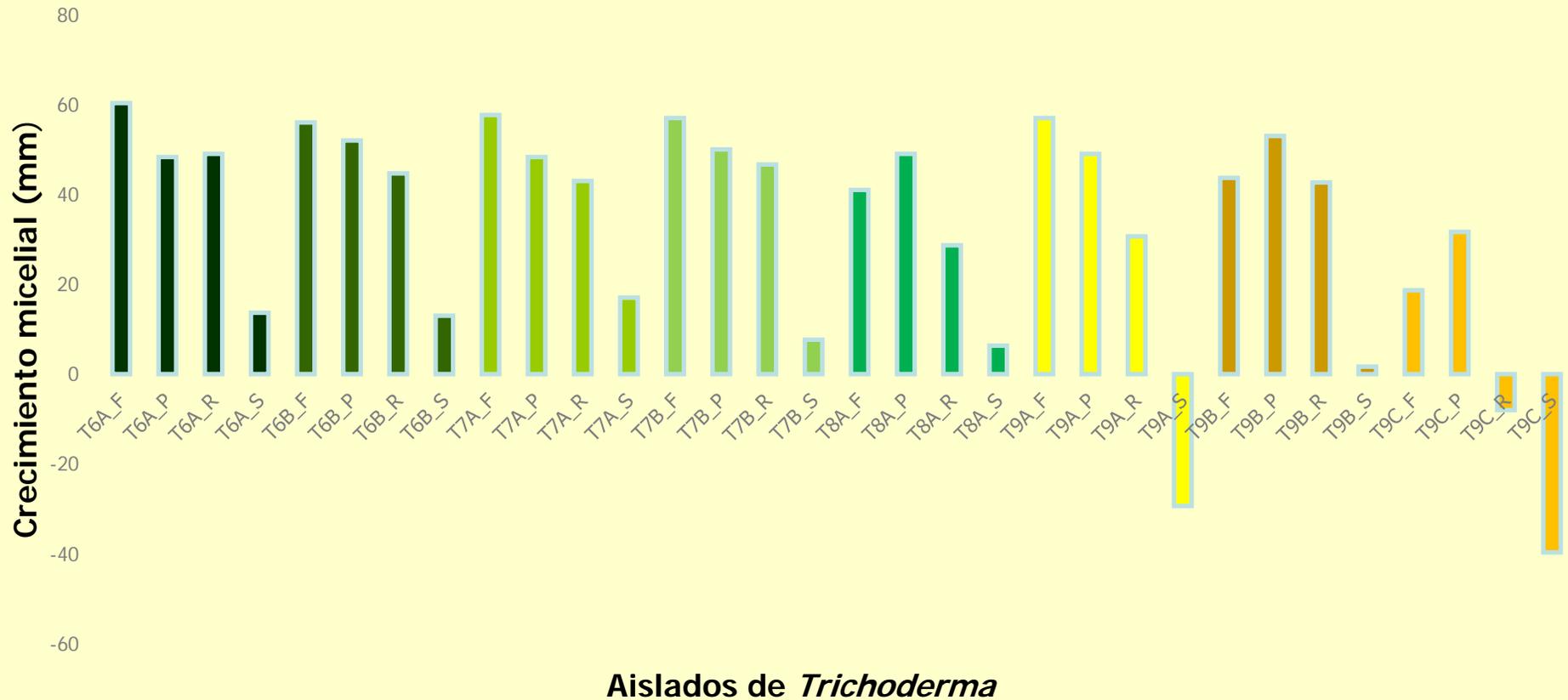
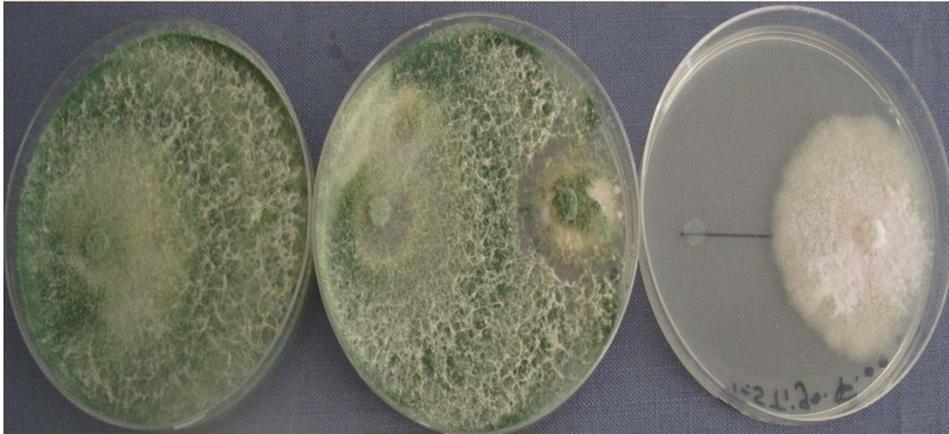


Fig. 3. Crecimiento micelial de cepas de *Trichoderma* (T6A-T9C) en presencia de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Phytophthora*.

RESULTADOS



T7A

T7Avs Fs

Fusarium (Fs)



T7A

T7A vs Rh

Rhizoctonia (Rh)



T7A

T7A vs Sc

Sclerotium (Sc)



T7A

T7A vs Ph

Phytophthora (Ph)

RESULTADOS

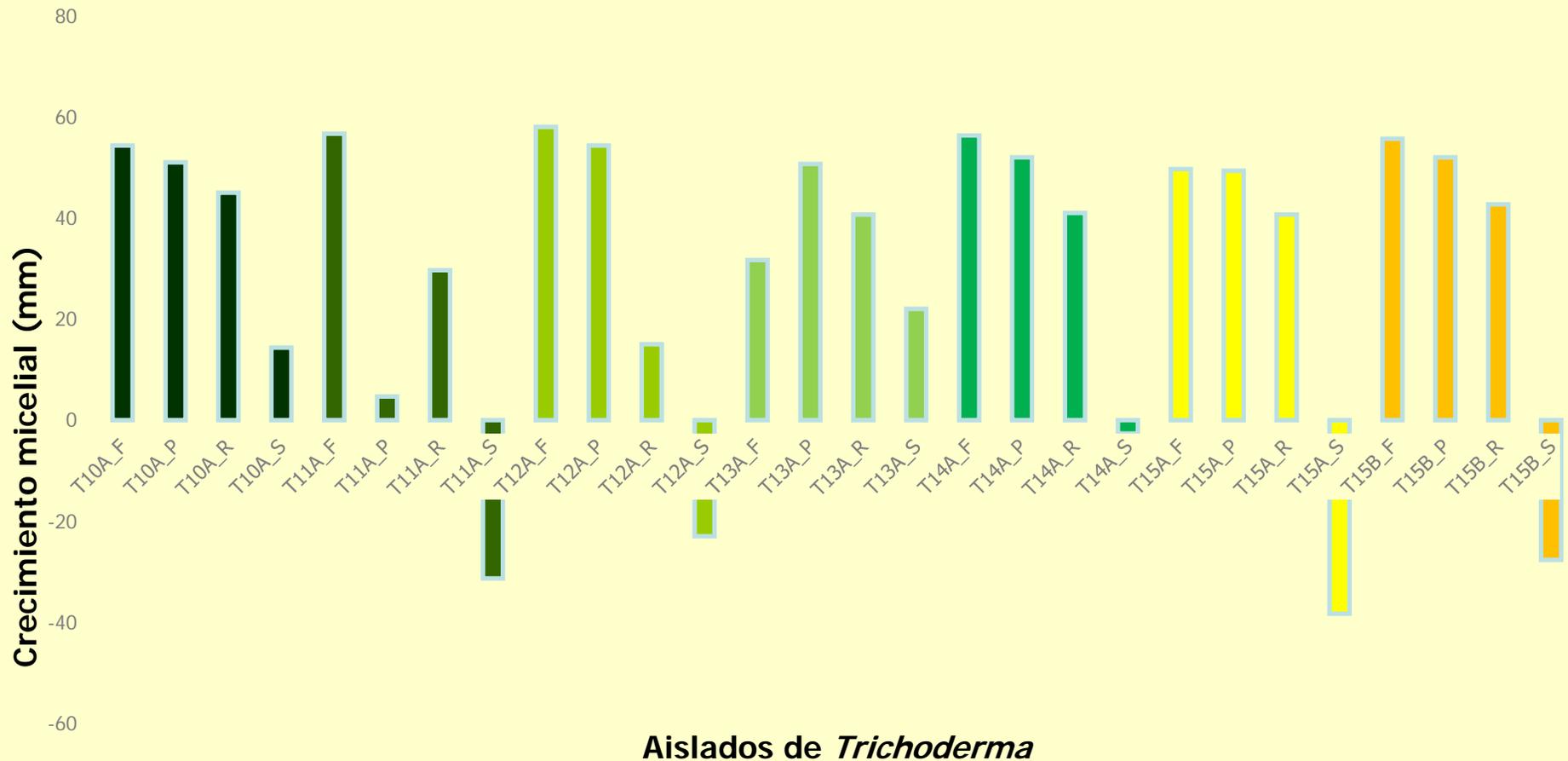


Fig. 4. Crecimiento micelial de cepas de *Trichoderma* (T10A-T15B) en presencia de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Phytophthora*.

RESULTADOS



T13A

T13A vs *Fs*

Fusarium (Fs)



T13A

T13A vs *Rh* *Rhizoctonia* (Rh)



T 13A

T13A vs *Sc*

Sclerotium (Sc)



T13A

T13A vs *Ph* *Phytophthora*(Ph)

RESULTADOS



T15A

T15A vs *Sc*

Sclerotium (Sc)

RESULTADOS

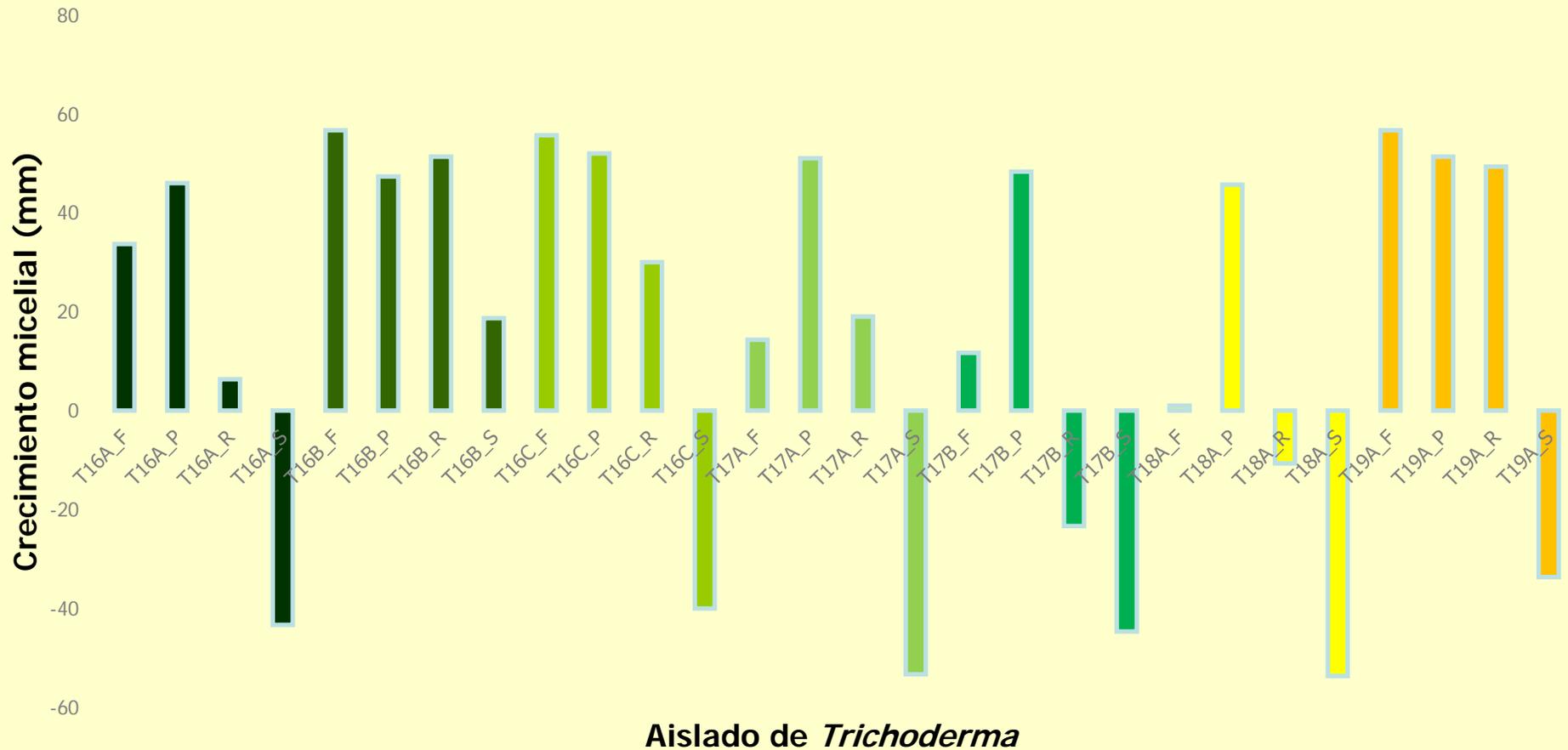


Fig. 5. Crecimiento micelial de cepas de *Trichoderma* (T16A-T19A) en presencia de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Phytophthora*.

RESULTADOS



T16B

T16B vs *Fs*

Fusarium (*Fs*)



T16B

T16B vs *Rh*

Rhizoctonia (*Rh*)



T16B

T16B vs *Sc*

Sclerotium (*Sc*)



T16B

T16B vs *Ph*

Phytophthora (*Ph*)

RESULTADOS



T18A

T18A vs *Sc*

Sclerotium (Sc)

RESULTADOS

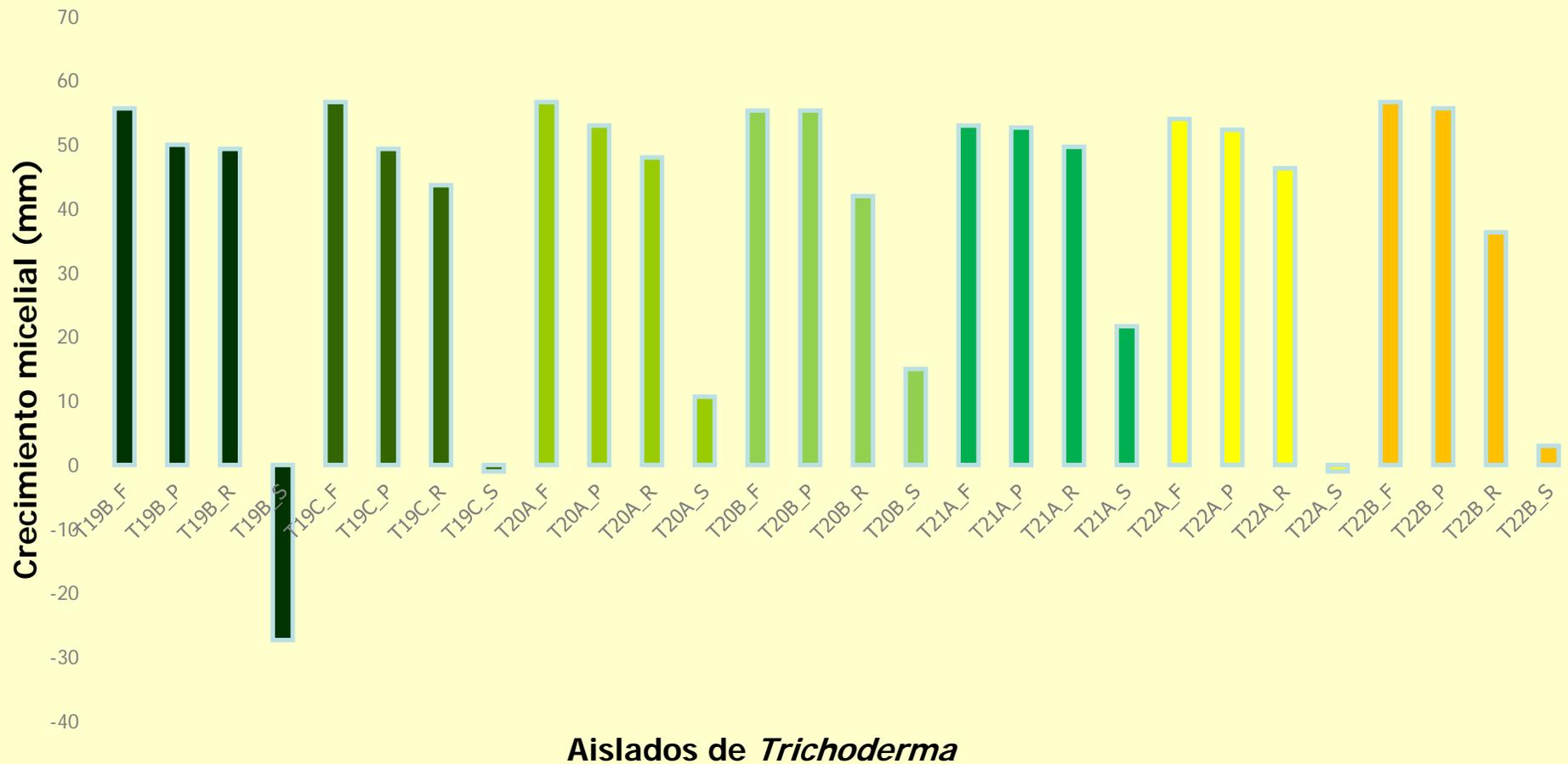


Fig. 6. Crecimiento micelial de cepas de *Trichoderma* (T19B-T22B) en presencia de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Phytophthora*.

RESULTADOS



T21A

T21A vs *Fs*

Fusarium (*Fs*)



T21A

T21A vs *Rh*

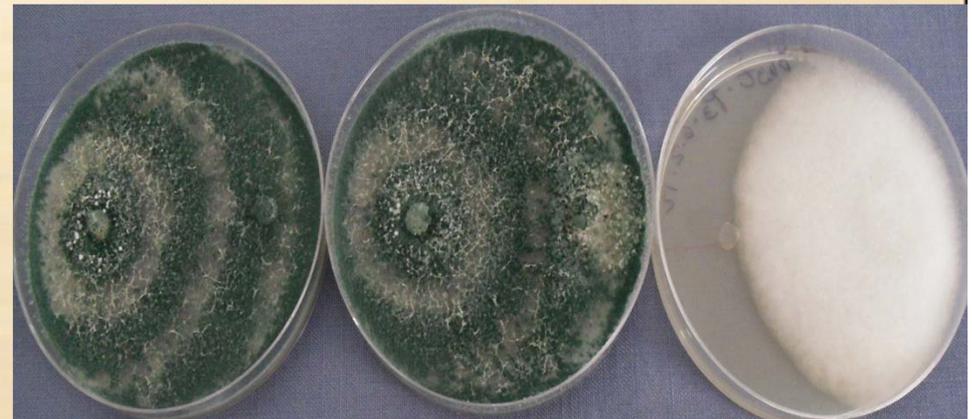
Rhizoctonia (*Rh*)



T21A

T21A vs *Sc*

Sclerotium (*Sc*)



T21A

T21A vs *Ph*

Phytophthora (*Ph*)

RESULTADOS



T19B

T19B vs *Sc*

Sclerotium (Sc)

RESULTADOS

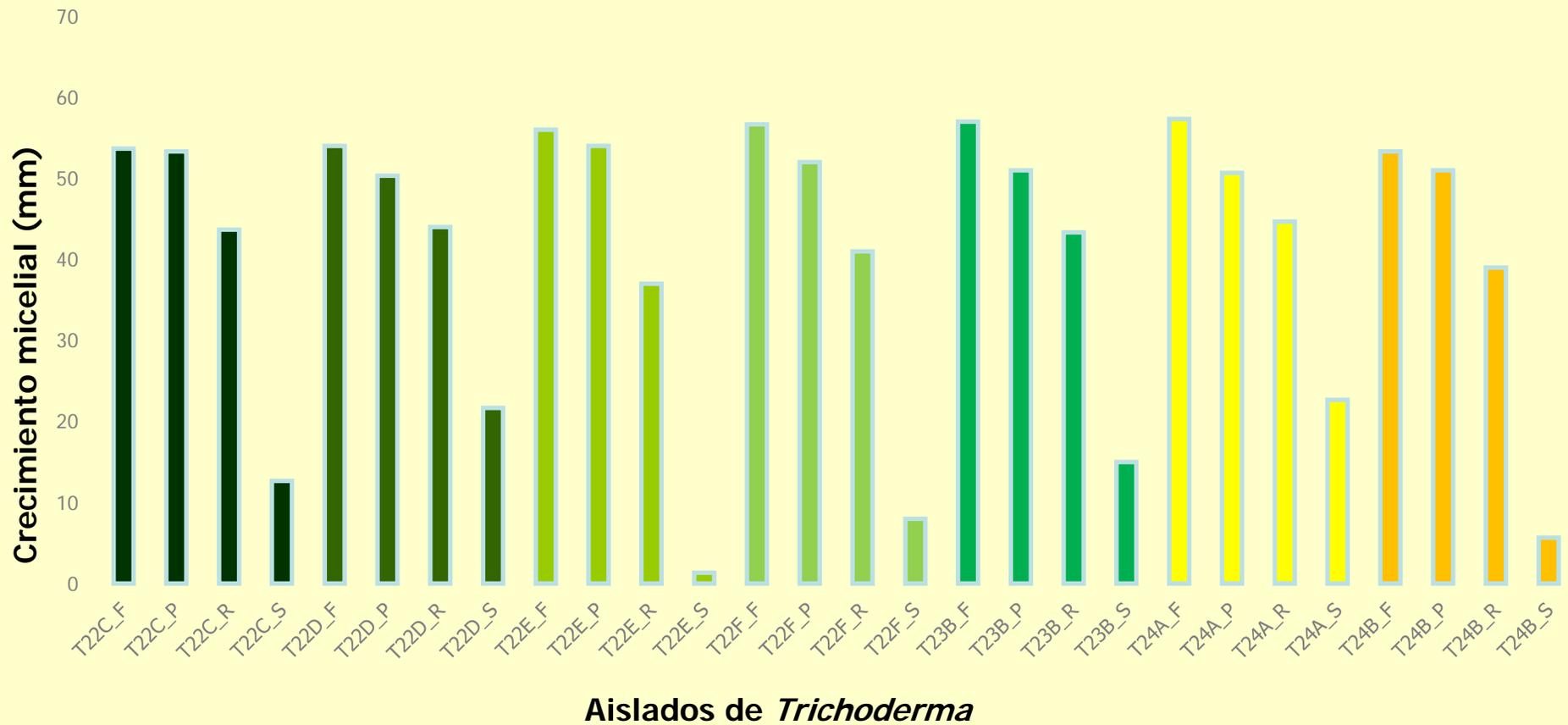


Fig. 7. Crecimiento micelial de cepas de *Trichoderma* (T22C-T24B) en presencia de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Phytophthora*.

RESULTADOS



T22C

T22C vs *Fs*

Fusarium (*Fs*)



T22C

T22C vs *Rh*

Rhizoctonia (*Rh*)



T22C

T22C vs *Sc*

Sclerotium (*Sc*)



T22C

T22C vs *Ph*

Phytophthora (*Ph*)

RESULTADOS

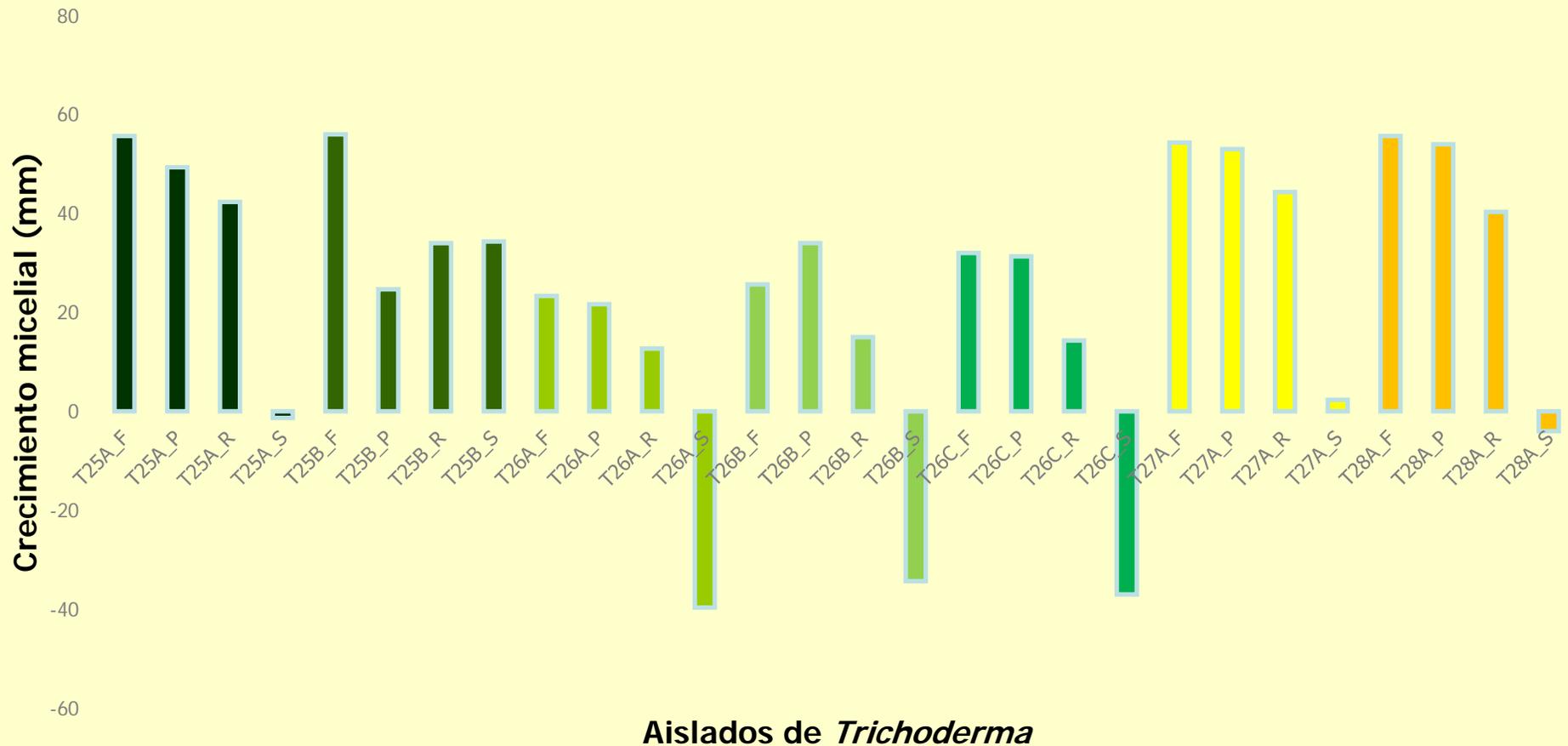


Fig. 8. Crecimiento micelial de cepas de *Trichoderma* (T25A-T28A) en presencia de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Phytophthora*.

RESULTADOS



T27A

T27A vs *Fs*

Fusarium (*Fs*)



T27A

T27A vs *Rh*

Rhizoctonia (*Rh*)



T27A

T27A vs *Sc*

Sclerotium (*Sc*)



T27A

T27A vs *Ph*

Phytophthora (*Ph*)

RESULTADOS



T26A

T26A vs *Sc*

Sclerotium (Sc)

RESULTADOS

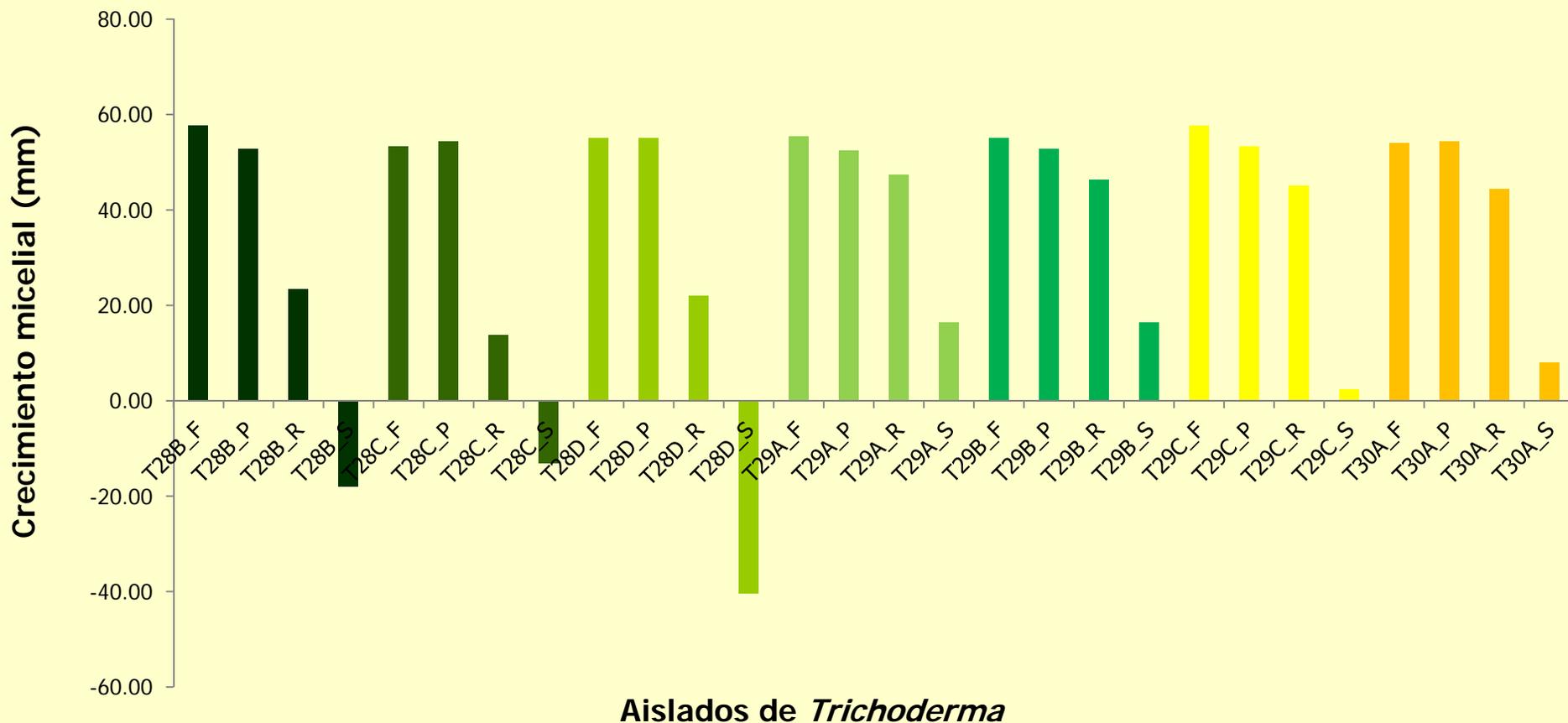
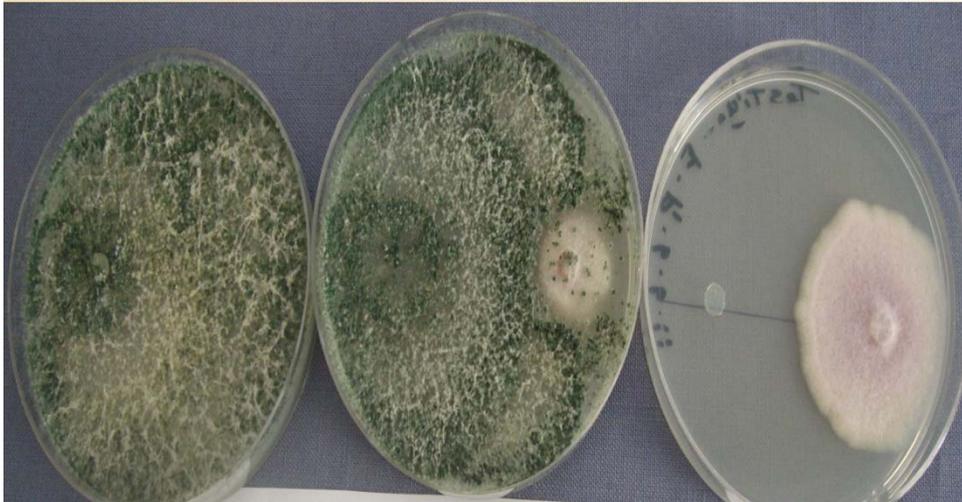


Fig. 9. Crecimiento micelial de cepas de *Trichoderma* (T28B-T30A) en presencia de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Phytophthora*.

RESULTADOS



T29A

T29A vs *Fs*

Fusarium (*Fs*)



T29A

T29A vs *Rh*

Rhizoctonia (*Rh*)



T29A

T29A vs *Sc*

Sclerotium (*Sc*)

RESULTADOS



T28D

T28D vs *Sc*

Sclerotium (Sc)

RESULTADOS

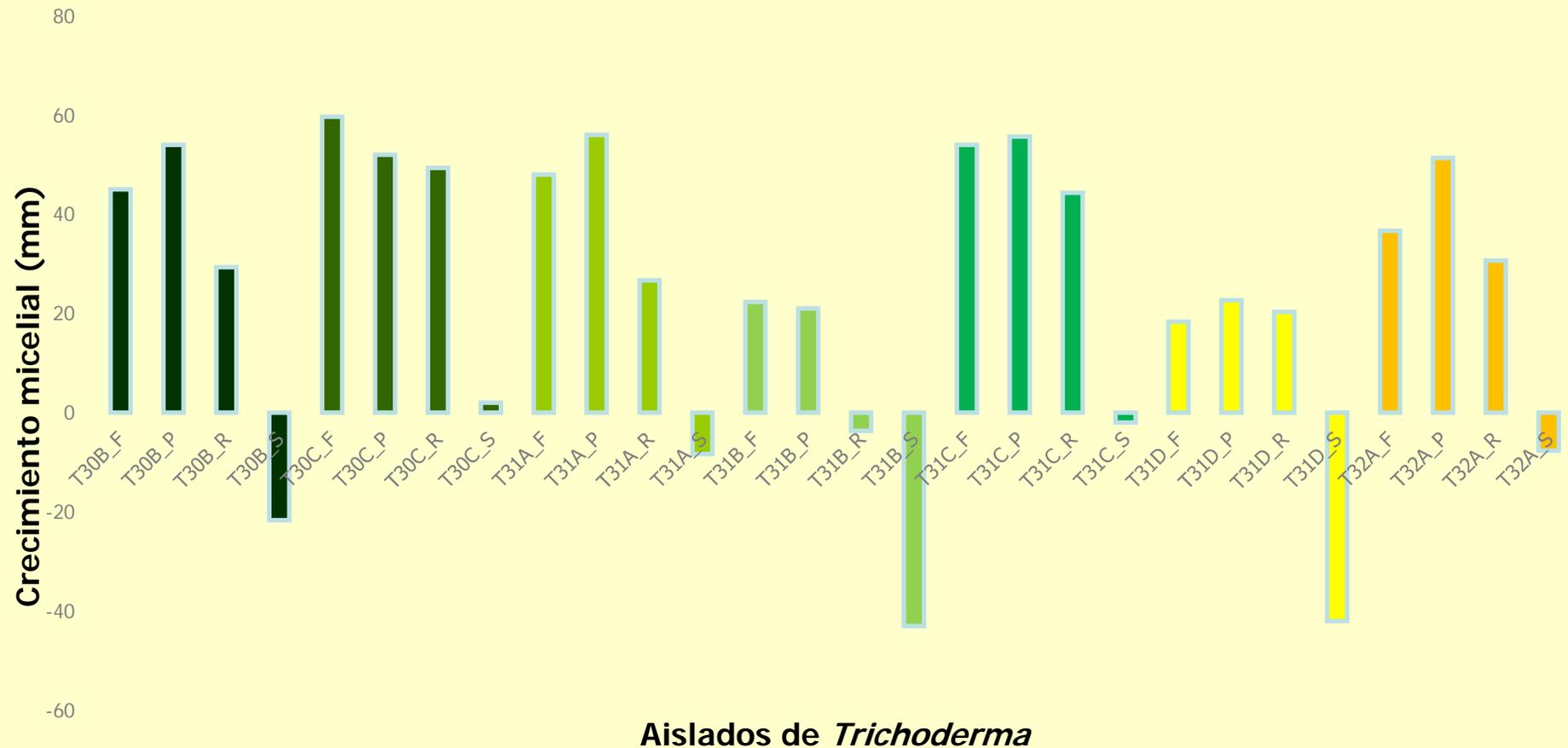


Fig. 10. Crecimiento micelial de cepas de *Trichoderma* (T30B-T32A) en presencia de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Phytophthora*.

RESULTADOS



T31C vs *Fs*

Fusarium (Fs)



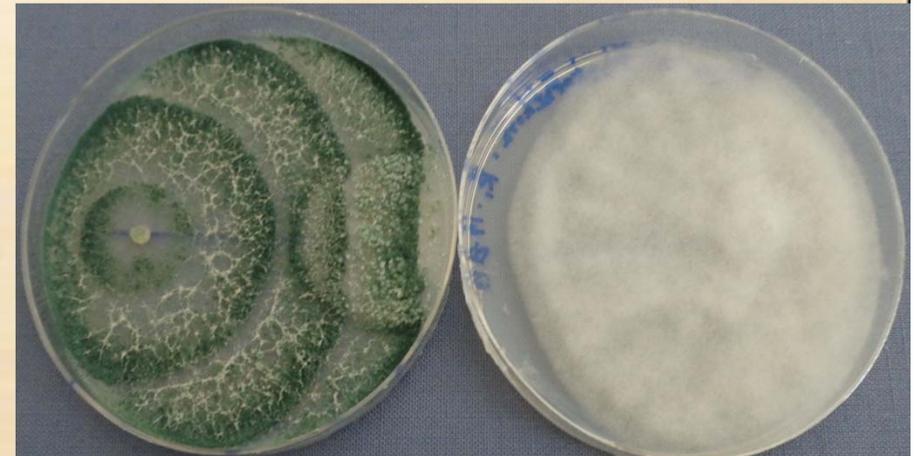
T31C vs *Rh*

Rhizoctonia (Rh)



T31C vs *Sc*

Sclerotium (Sc)



T27A vs *Ph*

Phytophthora (Ph)

RESULTADOS



T31D

T31D vs *Sc*

Sclerotium (Sc)

RESULTADOS

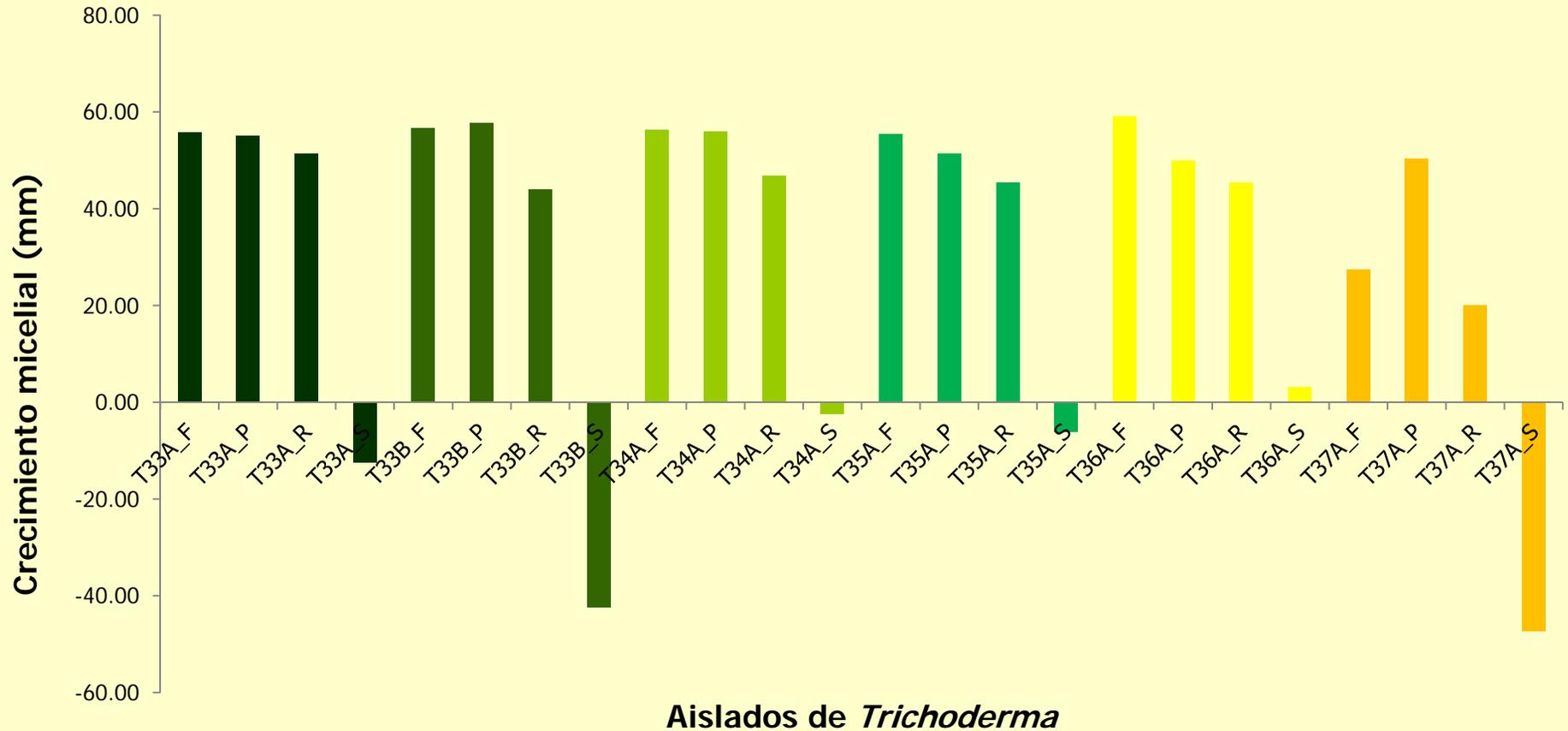
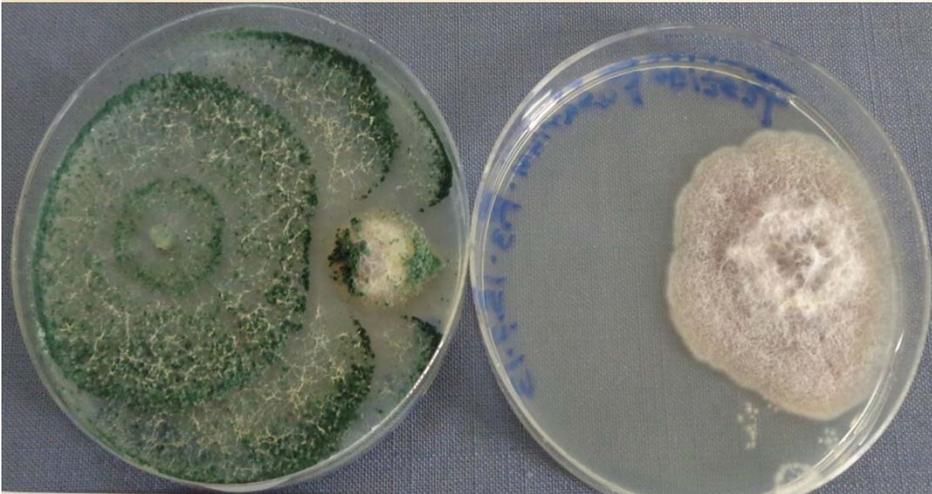


Fig. 11. Crecimiento micelial de cepas de *Trichoderma* (T33A-T37A) en presencia de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Phytophthora*.

RESULTADOS



T36A Fs

Fusarium (Fs)



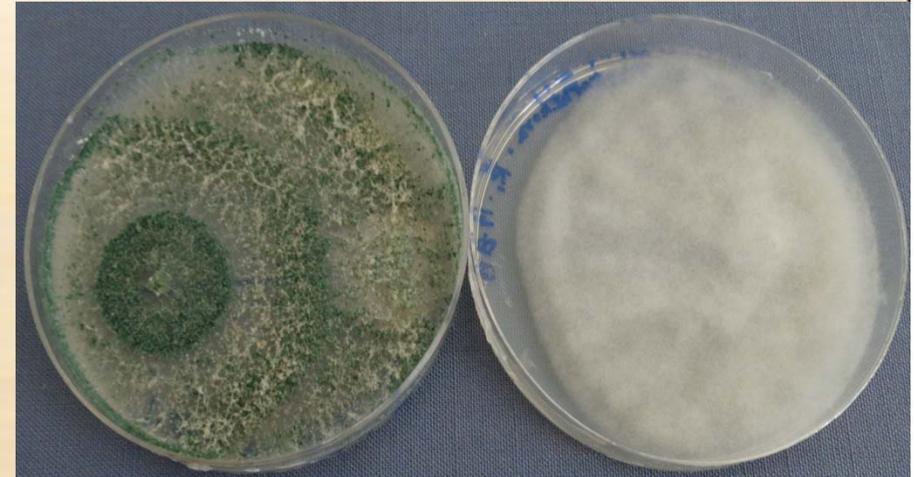
T36A vs Rh

Rhizoctonia (Rh)



T36A vs Sc

Sclerotium (Sc)



T36A vs Ph

Phytophthora(Ph)

RESULTADOS



T33B

T33B vs *Sc*

Sclerotium (Sc)

RESULTADOS

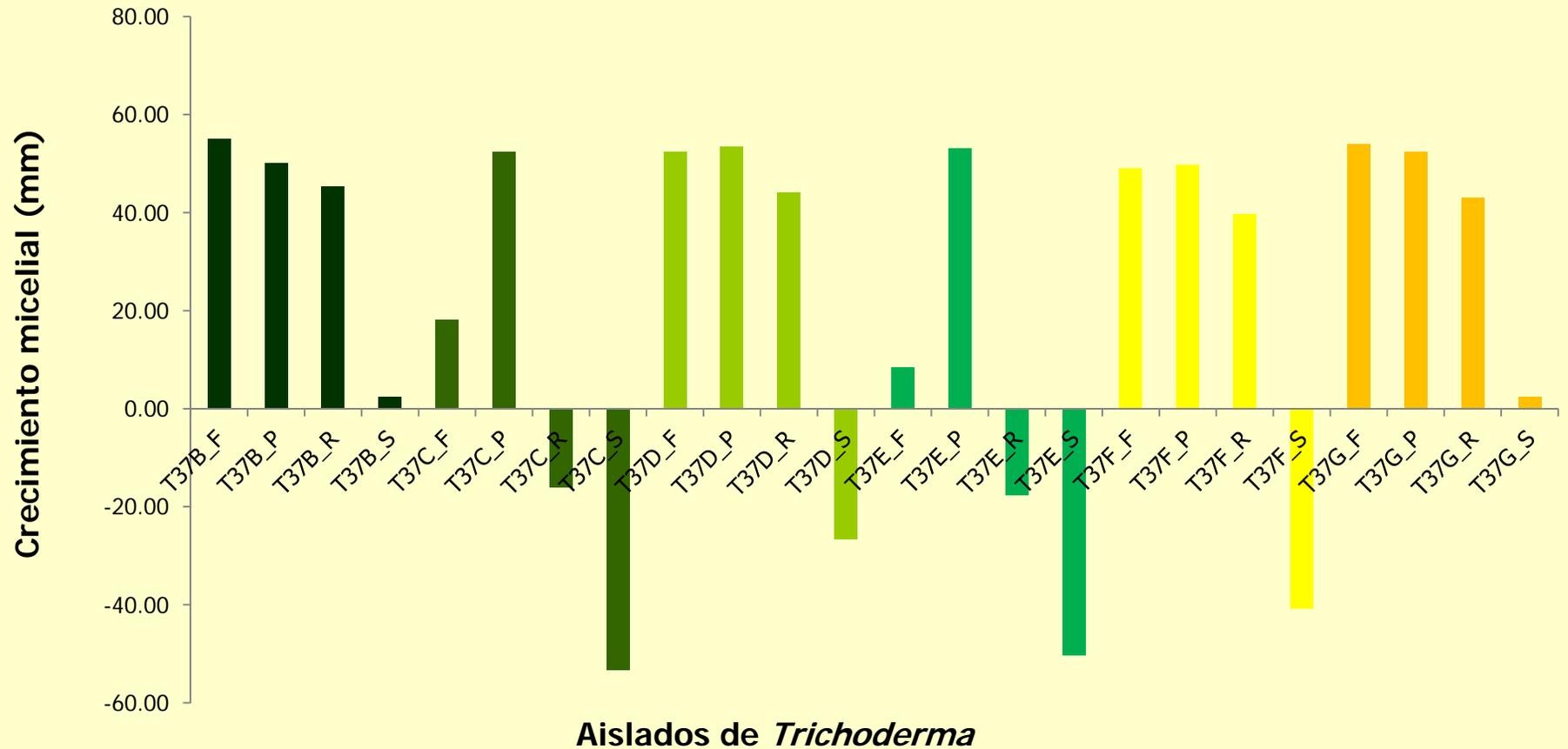
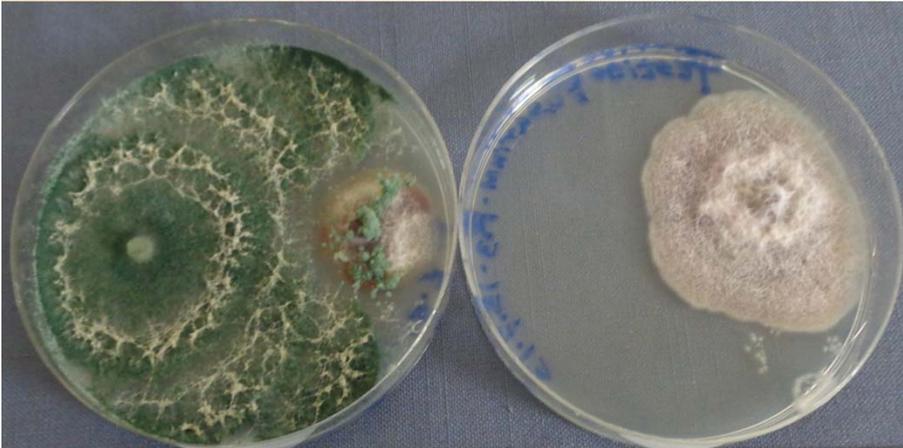


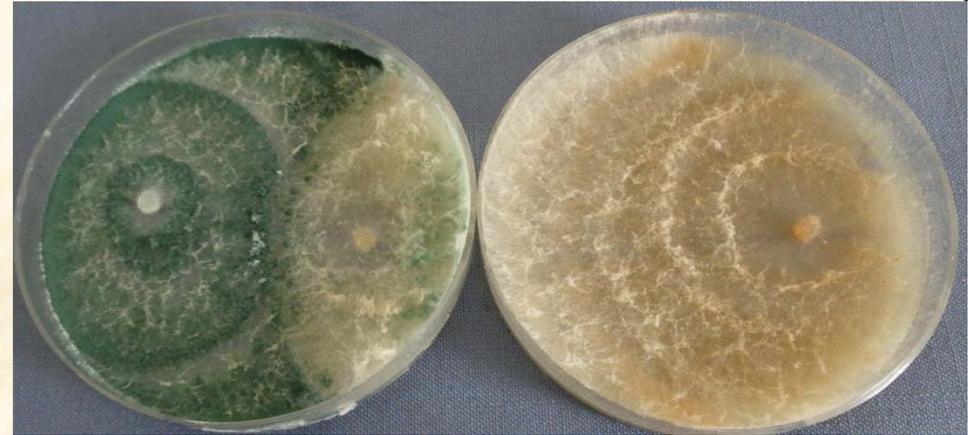
Fig. 12. Crecimiento micelial de cepas de *Trichoderma* (T37B-T37G) en presencia de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Phytophthora*.

RESULTADOS



T37B vs *Fs*

Fusarium (Fs)



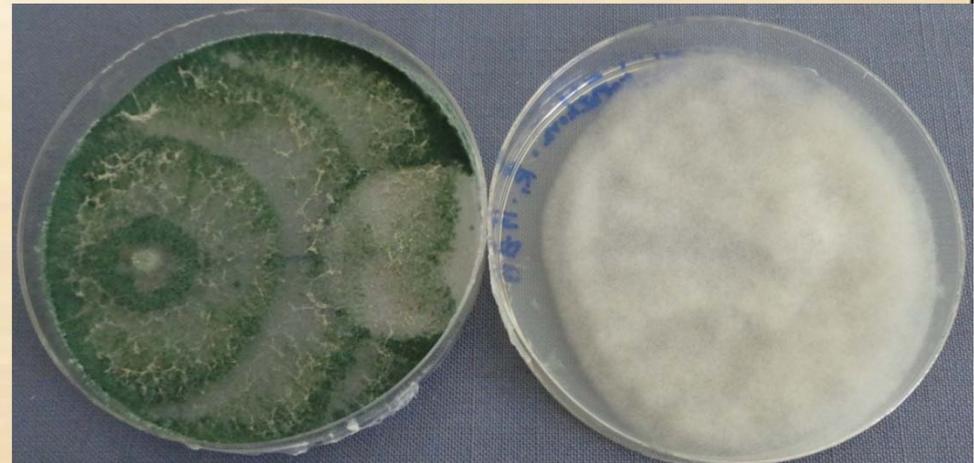
T37B vs *Rh*

Rhizoctonia (Rh)



T37B vs *Sc*

Sclerotium (Sc)



T37B vs *Ph*

Phytophthora(Ph)

RESULTADOS



T37F

T37F vs *Sc*

Sclerotium (*Sc*)

RESULTADOS

Número de aislados de *Trichoderma* según antagonismo contra los fitopatógenos

Antagonismo	Hongo Fitopatógeno			
	<i>Fusarium</i>	<i>Phytophthora</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Sclerotium</i>
Nulo	0	0	6	44
Muy bajo-bajo	5	3	6	34
Moderado-Muy alto	80	82	73	7
Total	85	85	85	85

CONCLUSIÓN

- Se encontraron 39 aislados nativos de *Trichoderma* con buena efectividad antagonista contra el crecimiento micelial de los fitopatógenos.
- Se seleccionaron en una primera etapa 18 aislados nativos de *Trichoderma* spp. efectivos en plato de Petri contra *Fusarium solani*, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*, y *Sclerotium rolfsii*.
- Los aislados seleccionados se identificaron morfológica, fisiológica y molecularmente, y corresponden a 18 cepas de *Trichoderma*.

RECOMENDACIÓN

Probar en invernadero la efectividad antagonista de las cepas de *Trichoderma* spp. que presentaron efectividad *in vitro* contra los hongos fitopatógenos de suelos.

AGRADECIMIENTOS

Al CONIAF por financiar la investigación, a través del proyecto “Determinación de Alternativas Biológicas para el Control de Patógenos de Suelo en la Producción de Vegetales en Invernadero.”

A la Ing. Marisol Morel Reyes, Ing. Marianela Conce y Luis Antonio Cabrera (Técnicos de laboratorio), por su gran colaboración y apoyo recibido durante el transcurso de la investigación.

A los Doctores Graciela Godoy y Luis Matos por su colaboración prestada en la identificación molecular de cada una de las cepas de *Trichoderma* seleccionada.

REFERENCIAS

- Cholango, L.P. 2009. Selección de cepas de *Trichoderma* spp. In vitro para el control de problemas radiculares en flores en verano. Tesis de grado de Ingeniero Agropecuario. Escuela Politécnica del Ejército. Departamento de la Ciencias de la Vida Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias. IASA I. Checa, Ecuador. P 1.
- García, R. Riera, R., Zambrano, C. y Gutiérrez, L. 2006. Desarrollo de un fungicida biológico a base de una cepa de *Trichoderma harzianum* proveniente de la Región Andina Venezolana. Fitosanidad Vol. 10. No. 2. Habana, Cuba. P 115. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=209116102005>.
- Harman, G. E. 2006. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. Symposium The Nature and Application of Biocontrol Microbes II: *Trichoderma* spp. Vol. 96, No. 2, The American Phytopathological Society. Cornell University, Geneva, NY.
- _____. 2000. Myths and Dogmas of Biocontrol. Changes in Perception derived from Research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease. Vol., 84, n° 4, p. 377-393.
- _____. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology. Vol. 96. No. 2. Geneva, N.Y.
- _____. s.f. *Trichoderma* spp., including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* and other spp. Deuteromycetes, Moniliales (asexual classification system). Cornell University, Geneva, NY. (en línea). Consultado 08 oct. 2012. Disponible en: <http://www.biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.html>
- Hubert, R. 2008. Diagnóstico de manejo e identificación de microorganismos patógenos presentes en el cultivo de ají (*Capsicum annum* L.) bajo invernadero en San José de Ocoa, República Dominicana. Tesis para optar por el título de Master en Ciencias Manejo Integrado de Plagas. Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD). P. 46.
- Moya, J.D. y Andújar Amarante, F.A. 2004. Efecto de *Trichoderma* sp. en el control de *Phytophthora capsici* Leonian, en plántulas de pimienta (*Piper nigrum* L.) en invernadero. Tesis de grado de Ingeniero Agrónomo. ISA (Instituto Superior de Agricultura). 2004. p. 39.
- Programa de Mercadeo de Frigoríficos e Invernaderos (PROMEFRIN). 2012. Estadísticas. En línea, consultado 21/07/2012. <http://promefrin.org/estadisticas/promefrin.pdf>.



MUCHAS GRACIAS