

Título del trabajo:

Efectividad de acción de fermentados líquidos de cepas nativas de *Trichoderma* contra *Fusarium* y *Rhizoctonia* en papa, caraota y maíz.

Resumen:

En la búsqueda de alternativas amigables con el ambiente para el manejo de enfermedades de plantas, se realizó el presente trabajo; el cual tuvo como objeto evaluar la efectividad de acción de cepas nativas del hongo benéfico antagonista *Trichoderma* spp provenientes de suelos andinos producidas por fermentación líquida estática, contra los hongos fitopatógenos *Fusarium* sp y *R. solani* en los cultivos papa, caraota y maíz; bajo condiciones controladas y validar la producción artesanal y uso del mismo en una comunidad. La Investigación fue realizada bajo condiciones controladas y de campo, la primera bajo un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones y la segunda en parcelas hortícolas bajo el enfoque de investigación participativa en la comunidad de Bodoque del Municipio Rivas Dávila del Estado Mérida. Se evaluaron cinco filtrados obtenidos por fermentación líquida estática de cepas nativas de la región andina sobre las dos enfermedades en los cultivos papa, maíz y caraota en semillero controlado y sobre lechuga y cebolla en campo. Se encontró un control variable de Rhizoctoniasis y Fusariosis, las cuales estuvieron entre 0 y 80%, dependiendo del cultivo; que a su vez estimulación el tamaño y peso de las raíces y en menor proporción de la altura de las plantas. Las de mejor comportamiento fue M-11, razón por la cual representa una alternativa para ser usada en programas de manejo sustentable de los cultivos.

Palabras clave: Biocontrol, Antagonista, Desarrollo de plantas.

Effectiveness of action of fermented liquids native *Trichoderma* strains against *Fusarium* and *Rhizoctonia* on potato, bean and corn.

abstract

In the search for environmentally friendly alternatives for managing plant diseases, we undertook the present work, the object of which was to evaluate the effectiveness of action of native strains of beneficial fungus *Trichoderma* spp antagonist from Andean soils produced by liquid fermentation static phytopathogenic fungi *Fusarium* sp and *R. solani* on potato crops , bean and corn under controlled conditions and validity handicraft production and use thereof in a community. Research was conducted under controlled and field conditions , the first under a completely randomized design with three replications and the second in garden plots under participatory research approach Bodoque community Rivas Dávila Municipality of Mérida . They evaluated five filtered liquid obtained by fermentation strains static native to the Andean region of the two diseases in potato crops ,

corn and bean seedlings in controlled and field lettuce and onion . Found Rhizoctoniasis variable control and Fusarium , which were between 0 and 100 %, depending on the crop, which in turn stimulating the size and weight of the roots and to a lesser extent than plant height . The best performance was M -11, which is why an alternative for use in programs of sustainable crops.

Keywords: Biocontrol, Antagonist Plant Development.

Introducción:

La agricultura Merideña, ha tenido como orientación fundamental de desarrollo, la incorporación de tecnologías de alto uso de insumos mediante la introducción de paquetes tecnológicos no adaptado a las condiciones agroecológicas y la cultura ancestral o tradicional de los productores del agro. Lo anterior ha provocado el uso excesivo de agro tóxicos, ha causado daños Irreversibles al ambiente, a la salud pública y ha provocado resistencia de las plagas incrementando otras nuevas más difícil de controlar, así como la muerte de organismos que naturalmente controlan las poblaciones de insectos y microorganismos en ambientes poco intervenidos, afectando por ende también la biodiversidad de estos agro ecosistemas.

Existen reportes de uso de hasta 36 aplicaciones de productos químicos para el control de enfermedades en cultivos como ajo, papa , tomate, maíz entre otros; en combinaciones de diferentes y semejantes ingredientes activos hasta cuádruples que han provocado el resurgimiento de plagas como el minador de hojas *Lyriomyza* spp por la desaparición de gran parte de sus enemigos naturales y el desarrollo de razas de *Phytophthora infestans* (causante de candelilla tardía de la papa), baja capacidad de control de *Rhizoctonia solani* (*Rhizocotoniasis*), *Sclerotinia sclerotiorum* (*Sclerotiniasis*) y *Fusarium* sp en *solanáceas*, *leguminosas* y *cereales*. Las tres últimas se han venido incrementando en la actualidad, provocando desmejora de la calidad comercial de los productos cosechados, infestación de suelos por la presencia de estructuras de resistencia denominados esclerocios, marchitamiento de plantas y disminución de los rendimientos. Hasta la fecha las pérdidas por estas enfermedades son variables pudiendo llegar a un 50% (García *et al*, 2005).

Enfermedades como la Rhizoctoniasis y Fusariosis en maíz y caraota y Rhizoctoniasis de la papa, se controlan con el uso de productos químicos altamente tóxicos como el Bromuro de metilo y el Pencycuron.

Con el objeto de contribuir a revertir la situación referida anteriormente, en Venezuela se viene investigando sobre la producción y uso de tecnologías alternativas como la liberación de enemigos naturales; entre los que se destaca el hongo benéfico *Trichoderma* por ser un antagonista altamente recolonizador de suelos con varios mecanismos de acción y capacidades tales como la de biocontrolar patógenos del suelo, inducir resistencia en plantas a patógenos, actúa como biofertilizantes, descomponer moléculas complejas, descomponer celulosa; entre otras. Sin embargo la adopción del hongo por parte de los campesinos ha resultado en menor grado ya que su efectividad es variable debido a que ello está en dependencia de la efectividad de la cepa y la calidad del producto.

Lo anterior indica que aún no se considera seguro la utilización de este microorganismo, para proteger los cultivos de feroces enfermedades que les causan pérdidas económicas; muy probablemente porque no se han concretado los estudios biológicos del hongo fundamentalmente en relación a la capacidad patogénica y virulenta del antagonista sobre los hongos fitopatógenos específicos de acuerdo a la respuesta de los cultivos hospederos afectados; aunado también a que se ha incentivado el uso del hongo bajo los mismos criterios de fungicidas químicos obviando que este es un biológico y que su principal efecto es de bioregulación.

En el presente trabajo, se realizó un estudio de cinco cepas nativas del antagonista *Trichoderma* de acuerdo a su capacidad de acción y potencialidad de uso; como una contribución a la selección de cepas para el incremento de la capacidad de acción del hongo ante diferentes enfermedades fungosas del suelo.

Se logró evaluar la capacidad de acción de las cinco cepas de *Trichoderma* de acuerdo al control de dos enfermedades fungosa: rhizoctoniasis o sancocho de papa, ocasionada por el hongo *Rhizoctonia solani*, y Fusariosis ocasionada por *Fusarium sp* en los cultivos: papa (*Solanum thuberosum*), caraota (*Phaseolus vulgaris*) y maíz (*Zea mays*)

bajo condiciones de un semillero controlado; y su potencialidad para estimular el crecimiento radicular de plántulas de papa, maíz y caraota, y el crecimiento de las plantas; demostrando la actuación de las cepas como posibles agentes biofertilizantes, que permite obtener una nueva alternativa biológica para la nutrición de plantas.

Se espera que los resultados presentados sean de utilidad para el manejo agrícola sustentable en la búsqueda de la soberanía y seguridad alimentaria tan anhelada en Venezuela y en pro de mejorar la calidad de vida de los campesinos y campesinas merideñas y del país en general.

2.- Justificación de la Investigación

La papa (Hortón, 1992; FAO, 1999 citado por Egúsquiza, 2000). Caraota *Phaseolus vulgaris* L (Montaldo y Montilla, 1989) y maíz (MPPAT, 2007; MAT, 2005), son los cultivos estratégicos de gran importancia en Venezuela y el mundo; debido a valor alimenticio y por su cultura de consumo, forman parte de la dieta diaria del venezolano.

Existen diversas limitantes técnicas en la producción de estos rubros, entre las que se destacan las plagas y enfermedades. La Rhizoctoniasis, enfermedad ocasionada por el hongo *Rhizoctonia solani* (teleomorfa: *Thanatephorus cucumeris*) es un patógeno de plantas, con un gran rango de huéspedes y de distribución mundial. Es una de las causas de la podredumbre damping off en semilleros, que mata a las plántulas en horticultura. (Wiese, 1987). Mientras que la Fusariosis, ocasionada por el hongo *Fusarium* spp, que se distribuido en el suelo y en asociación con plantas.

Para el control de estas enfermedades, se viene haciendo un excesivo uso de plaguicidas químicos como fungicidas y fumigantes, lo que ha venido provocando problemas de fungoresistencia, contaminación medioambiental, toxicidad y de salud pública que desmejora la calidad de vida de los campesinos y del pueblo consumidor de alimentos. Ello ha motivado la búsqueda de alternativa como otros medios efectivos y no perjudiciales para combatir los fitopatógenos.

Como respuesta alternativa menos contaminantes para el manejo de las enfermedades en plantas, se ha venido incentivando el uso del hongos antagonista *Trichoderma*, que es un

habitante natural del suelo o de materiales vegetales en estado de descomposición, y tiene la capacidad de adaptarse a varios ambientes, además de poseer otras bondades ya que estimula el desarrollo de raíces de plantas, es endofítico y protege la rizósfera, induce resistencia, es antioxidante, descompone moléculas complejas presentes en el suelo, es un recolonizante natural entre otros.

Se justifica evaluar la efectividad de aislados nativos provenientes del Estado Mérida, ya que ello permitirá la selección de aislados de *Trichoderma* que presenten mayor capacidad y eficacia de biocontrol de enfermedades. La selección de aislados nativos con capacidad antagonista así como estimulador es del crecimiento de raíces de plantas frente a diferentes fitopatógenos del suelo como *R. solani* y *Fusarium*, representa una contribución en la disminución del impacto ambiental en el marco del desarrollo de la agricultura sustentable.

De no adelantar en estos aspectos, se retardaría aún más el desarrollo del modelo agrícola sustentable, como vía de disminución del uso de fungicidas y fumigantes tóxicos para el control de enfermedades fúngicas del suelo para con ello mejorar la calidad de vida de los campesinos y campesinas, la obtención de alimentos más limpios y sanos para el sustento saludable de la población venezolana consumidora; en el cumplimiento de los mandatos de la Constitución de la República Bolivariana de Venezuela en la búsqueda de la soberanía y seguridad alimentaria en los artículos 305, 306 (Constitución de la RBV, 1999; Reforma 2009).

Las empresas socialistas públicas y privadas dedicadas a la producción de insumos biológicos para el control microbiano de enfermedades, contarán con nuevos elementos de selección de microorganismos como ingrediente activo de estos productos biológicos.

Objetivo de la Investigación

1.- Objetivo General

Evaluar la efectividad de acción de cepas nativas del hongo benéfico antagonista *Trichoderma* spp provenientes de suelos andinos producidas por fermentación líquida estática, contra los hongos fitopatógenos *Fusarium* sp y *R. solani* en los cultivos papa,

caraota y maíz; bajo condiciones controladas y escalar en la producción artesanal del mismo en una comunidad.

2.- Objetivos Específicos

Evaluar la efectividad de control de dos enfermedades fungosa: Rhizoctoniasis o sancocho de pata, ocasionada por el hongo *Rhizoctonia solani*, y Fusariosis ocasionada por *Fusarium* sp, en los cultivos: papa (*Solanum tuberosum* L.), caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y maíz (*Zea mays* L.) bajo condiciones de controladas.

Validar la producción por fermentación líquida artesanal de *Trichoderma* spp, bajo condiciones de campo en la comunidad de Bodoque, Municipio Rivas Dávila, estado Mérida y evaluarlo en pequeñas parcelas de la unidad de producción de cultivos hortícolas.

Antecedentes

Trichoderma, es un hongo que está presente en numerosos suelos de uso agrícola, y tiene la capacidad de adaptarse a varios ambientes. Se describió por primera vez en 1801 por Persoon ex Gray (Tomado de Harman, 2000). Taxonómicamente, pertenece al Phylum Ascomycota, Clase Euascomycetes, Orden Hypocreales, Familia Hypocreaceae. Es un hongo filamentoso cuyo estado teleomorfo corresponde al hongo *Hypocrea* spp. El género *Trichoderma* tiene cinco especies consideradas como antagonistas: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma viride*. Morfológicamente se compone de conidias y fialides (Larone, 1995; Sutton *et al.*, 1998).

Trichoderma, es un antagonista natural del suelo o de materiales en estado de descomposición, actúan como hiperparásito competitivo que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas. Los mecanismos por los que las cepas del género *Trichoderma* desplazan al fitopatógeno son fundamentalmente de tres tipos. Competición directa por el espacio o por los nutrientes (Ezziyyani *et al.* 2004), producción e metabolitos antibióticos, ya sean de naturaleza volátil o no volátil (Lorito *et al.* 1993), y parasitismo directo de determinadas especies de *Trichoderma* sobre los hongos fitopatógenos (Yedidia *et al.* 1999, Ezziyyani *et al.* 2003).

Además de los mecanismos de acción mencionados, *Trichoderma* tiene la capacidad de incrementar la tolerancia de plantas al estrés ya que promueve la proliferación de raíces, participa en la solubilización y asimilación de nutrientes inorgánicos, activa los mecanismos de resistencia de las plantas e inactiva las enzimas de los patógenos (Harman, 2000, Altomarre *et al.*, 1999).

García y colaboradores en el 2006; realizaron el primer reporte sobre el desarrollo de un fungicida biológico a base de una cepa del hongo *Trichoderma harzianum* proveniente de la región andina venezolana. Este trabajo representa una base fundamental para adelantar en el escalado de procesos hacia la producción semi-industrial del hongo en Venezuela (García *et al.*, 2006).

También, García y colaboradores en el 2006, reportan estudios en Venezuela sobre producción de biomasa por fermentación líquida a base de solución de melaza y levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisia*) ambos al 5%, revelan que todas las cepas utilizadas de *Trichoderma* lograron producir biomasa del hongo a partir de 2 días, completando la producción de conidios entre 8 a 14 días. Hubo alta producción de micelios y clamidosporas y además se encontró una alta concentración de conidios que varió desde $5,7 \times 10^7$ hasta $1,81 \times 10^9$ UFC.ml; obteniéndose diferencias significativas entre las cepas en cuanto a producción de micelio, conidios y clamidosporas de acuerdo a la prueba de medias de LDS al 5%, siendo la mejor T12, seguida del la comercial Inprodica, T8 y del IUTE. Así mismo se encontró diferencias significativas en el tiempo necesario para la obtención final de conidios, siendo las cepas que alcanzaron más rápido esta producción la cepa T12 y la del IUTE, quienes tardaron ocho días, seguidas de las cepas T8, T2 y T3 que lo lograron en 10 días; las demás necesitaron entre 12 a 14 días (García *et al.*, 2006).

Basado en estos trabajos se condujo la presente investigación.

Metodología:

Tipos de Investigación:

La investigación efectuada fue de científica experimental; ya que se realizó, ya que se desarrollaron ensayos bajo condiciones de semilleros controlados en el Laboratorio de

Agrotecnia, ubicado en la sede de la Universidad Politécnica del Estado Mérida Kleber Ramirez; Núcleo Bailadores ubicado en Bailadores Municipio Rivas Dávila del Estado Mérida a 2.200 msnm, bajo temperatura de 18 ± 3 °C. Los resultados, se validaron en la Comunidad de Mesa de Bodoque, Municipio Rivas Dávila del Estado Mérida.

Fases de la Investigación:

- 1.- Evaluación de la capacidad de biocontrol de cinco cepas de *Trichoderma* producidas por fermentación líquida frente a *Fusarium* sp y *Rhizoctonia solani* en tres especies de plantas.
- 2.- Validación del Uso de *Trichoderma* Producido por Fermentación Líquida en la Comunidad de Mesa de Bodoque, Municipio Rivas Dávila del Estado Mérida.

Material Experimental:

- En los ensayos de semillero controlado, se utilizaron tres especies vegetales: Maíz criollo amarillo (*Zea mays*), Caraota (*Phaseolus vulgaris* cv. *Tacarigua*) y Papa (*Solanum tuberosum* L. cv. *Andinita*).
- La validación de la efectividad del hongo en el campo, se hizo sobre plantas de Lechuga (*Lactuca sativa* L.) y Cebolla (*Allium cepa* L.).
- Las cepas de *Trichoderma* spp, evaluadas fueron donadas de una réplica de la colección de hongos benéficos del Laboratorio Referencial de Biocontrol de Plagas Agrícolas del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícola de Mérida (INIA-Mérida).

1.- Ensayo de Evaluación de Cepas de *Trichoderma* para el biocontrol y estimulación del desarrollo de de tres especies de plantas:

Activación de las Cepas de *Trichoderma*:

Las cinco cepas de *Trichoderma* spp, fueron activadas utilizando el medio de cultivo Agra-Papa-Dextrosa (PDA), que es un medio universal para el crecimiento de hongos.

Se tomaron conidios de cada uno de ellos a través de un anza de platino desde el tubo madre cultivado y, se sembraron sobre el centro de cada placa Petri de 90 mm de

diámetro contentivo del medio de cultivo PDA, se incubaron a temperatura de 27 ± 2 °C hasta que el micelio de los hongos cubrió completamente la superficie de la placa.

Con los cultivos obtenidos, se hicieron las confrontaciones *in vitro* sobre los hongos patogénicos *R. solani* y *F. oysporum*, utilizando el método de cultivos duales seguido por Larralde *et al.* (2008). Para ello, fueron confrontados los aislados del antagonista contra las cepas patogénicas por separado en placas Petri, que contenían el medio de cultivo PDA, donde se colocaron frente a frente discos de 8 mm de diámetro contentivos de micelio de cada uno de ellos separados a 6 cm aproximadamente, se incubaron a temperatura de 27 ± 2 °C. De los sitios de encuentro de ambos hongos, se tomaron porciones de micelio y se sembraron nuevamente en PDA, se hicieron observaciones sobre la pureza de cada una de las cepas de Trichoderma. Con estas, cepas puras, se hizo la fermentación artesanal.

Producción Líquido estático artesanal para las pruebas de semillero controlado:

Este método sirvió para escalar el mismo y evaluarlo en los ensayos por su capacidad de biocontrol y como estimuladores del crecimiento de las plantas. Fermentación se realizó siguiendo la metodología escrita por García *et al.*(2006), con modificaciones para cada cepa:

- Se hizo una dilución de melaza de caña fresca al 5%.
- Se vertió la solución en frascos de 500 cc de capacidad, utilizando 50 ml/frascos que actuaron como fermentadores.
- Se sometieron a esterilización en autoclave a 121 °C y 15 Libras de presión por 40 min.
- Se dejaron enfriar.
- Se sembraron con un disco de 8 mm de cultivo de cada antagonista por separado, se agitaron.
- Se sometieron a incubación a 25 °C durante ocho días.
- Se les cuantificó la cantidad de unidades formadoras de colonias/mL (UFC.mL⁻¹) inmediatamente en el establecimiento de ensayos.
- Se estandarizaron las concentraciones a 1×10^9 .mL⁻¹.

Producción de inóculo (esporas) de los patógenos:

Para poder hacer inoculaciones al sustrato donde fueron sembradas las semillas, se cultivaron los hongos patogénicos por separado.

- Se sembraron los hongos *Fusarium sp* y *Rhizoctonia sp* por separado en 10 placas de Petri que contenían el medio de cultivo PDA.
- Se sometieron a incubación a 25 °C durante ocho días.
- Se realizaron raspados por encima de las placas con un bisturí estéril y se ayudó con agua destilada.
- Se trasladaron las esporas hacia un vaso de precipitado con agua, para estandarizar la solución de esporas entre $1-2 \times 10^6$ UFC.
- Con estas soluciones fueron inoculado los suelos que se usaron en la investigación.

Sustrato utilizado:

Para la siembra de las semillas o plantas, se utilizó un sustrato a base de tierra negra abonada compuesta de cáscara de arroz, tierra y aserrín, más un suplemento de abono orgánico humificado para plantas marca tierra negra en proporción de 2:1.

Semilleros:

Se utilizó como área de semilleros, envases plásticos de 5 Kilos de capacidad, donde se vertieron 3 kilos del sustrato

Tratamientos evaluados en el ensayo:

Para Rhizoctoniasis en Caraota, maíz y/o papa:

T0: Testigo de sólo tierra más semilla o planta sin aplicación de *R.solani* ni antagonista.

T1: Semilla o planta + inóculo de *R.solani* + M-18

T2: Semilla o planta + inóculo de *R.solani* + M-23

T3: Semilla o planta + inóculo de *R.solani* + M-4

T4: Semilla o planta + inóculo de *R.solani* + M-11

T5: Semilla o planta + inóculo de *R.solani* + M-21

T6: Testigo sobre semilla con aplicación de inóculo de *R.solani* líquido.

Para Fusariosis en Caraota y Maíz

T0: Testigo de sólo tierra más semilla sin aplicación de inóculo del patógenos ni antagonista.

T1: Semilla + inóculo de *Fusarium sp.* + M-18

T2: Semilla + inóculo de *Fusarium sp* + M-23

T3: Semilla + inóculo de *Fusarium sp* + M-4

T4: Semilla + inóculo de *Fusarium sp* + M-11

T5: Semilla + inóculo de *Fusarium sp* + M-21

T6: Testigo sobre semilla con aplicación del inóculo de *Fusarium sp*

Establecimiento del Ensayo:

El ensayo fue establecido bajo un diseño completamente aleatorizado, con la siembra de 50 semillas 50 plantas para su validez experimental. Es decir que la unidad experimental fue de 50 semillas para caraota y maíz y de 50 plantas *in vitro* de papa. Se hicieron las inoculaciones de los patógenos *R.solani* y *Fusarium* por separado previo a la siembra. Para *R. solani* se usaron 500 esclerotes/envase y para *Fusarium* 10^6 UFC.mL⁻¹/envase. Se evaluaron 10 plantas/tratamiento.

La inoculación del antagonista fue realizada previa a la siembra, sumergiendo las semillas durante 30 min en las suspensiones de conidios antes explicadas. Se dejaron secar y las semillas así inoculadas se sembraron en los semilleros.

Los testigos fueron las plantas tratadas sólo con agua destilada estéril y, otros tratados con sólo los patógenos; ello permitió saber si había o no control de los hongos patógenos.

Técnicas para recoger datos y su procesamiento:

Los datos fueron recogidos en cuadros específicos. Luego se hicieron resúmenes y matrices para los análisis estadísticos computarizados utilizando el programa Excel 2007 y gráficos explicativos de los resultados para su mejor comprensión. También se hicieron memorias fotográficas.

Las evaluaciones fueron hechas a los ocho, 16 y 45 días después de haber sembrado el ensayo.

Se tomaron datos de: número de plantas enfermas, número de plantas sanas (con las cuales se calculó la incidencia de la enfermedad en porcentaje) y severidad de daño utilizando una escala arbitraria de cinco clases seguida por García *et al.*, 2006) aún no publicada. También se midió la altura de la planta, tamaño de las raíces y peso fresco de las raíces.

Variables Evaluadas:

Independientes: Cepas de *Trichoderma* spp

Dependientes: Incidencia de las Enfermedades, Severidad de daño, Altura de las plantas, Tamaño de las raíces y Peso fresco de las raíces.

Análisis Estadísticos:

Para el procesamiento estadístico se empleó el programa INFOSTAT Professional, versión 2.0. Cuando los datos cumplieron con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza se les aplicaron los análisis de varianza y las medias entre los tratamientos se compararon según la prueba de Tukey ($p < 0,05$). Los que no siguieron una distribución normal, se analizaron estadísticamente mediante la prueba para datos no paramétricos de *Kruskall Wallis*, a su vez sus medias se compararon mediante la prueba de *Mann Whitney* ($p < 0,05$).

2.- Validación del Uso de *Trichoderma* Producido por Fermentación Líquida en la Comunidad de Mesa de Bodoque, Municipio Rivas Dávila del Estado Mérida.

La Investigación, se realizó en la Comunidad de La Mesa, Aldea Bodoque del Municipio Rivas Dávila del Estado Mérida, bajo el enfoque de investigación participativa.

La cepa M-11 que fue seleccionada por su capacidad bicontroladora por estimular el desarrollo de raíces, producida por fermentación líquida estática especificado en el experimento anterior, fue incrementada para su aplicación, utilizando como sustrato humus líquido artesanal hecho en la misma unidad de producción de la finca bajo ensayo.

Se utilizó como inóculo un fermentado contentivo en botellas de vidrios de Trioderma en 20 L de humus y se tapo ligeramente, se dejó ocho días en incubación, bajo las condiciones de la misma finca. Se hicieron tres repeticiones. Se tomaron tres muestras/fermentado y se llevaron al laboratorio para cuantificar la concentración de esporas a través de la cámara de Neubauer.

Para evaluar su efecto sobre del hongo en campo, cada fermentado obtenido, se colocó en toneles de 200 L de agua, se aplicaron en pequeñas parcelas de lechuga y cebolla de 100 m². Se hicieron tres aplicaciones: en la semilla, en la emergencia y en el aporque. Se dejó una parcela de la misma superficie sin aplicación. Las evaluaciones se realizaron sobre tres plantas de cinco puntos por parcelas respectivas (cuatro esquinas y el central) a los 1,5 meses de su desarrollo.

Variables Evaluadas:

Independiente: Tratamiento o no de la Cepa de *Trichoderma* spp

Dependientes: Incidencia de Enfermedades, Altura de las plantas, Tamaño de las raíces.

Análisis de Resultados:

1.- Evaluación de la capacidad de biocontrol de cinco cepas de *Trichoderma* producidas por fermentación líquida frente a *Fusarium* sp y *Rhizoctonia solani* en tres especies de plantas.

En el cuadro 1, se presentan los resultados del crecimiento y esporulación de las cinco cepas de *Trichoderma* en los fermentadores estáticos, se puede observar que las

cepas tuvieron un comportamiento variable en cuanto a crecimiento y esporulación en el medio líquido. El mejor comportamiento lo tuvieron M-11 y M-23, que crecieron y esporularon en un 100%, bajo concentración de 2×10^9 . mL⁻¹; seguida de M-4 que creció y esporuló en un 95% bajo una concentración de 1×10^9 . mL⁻¹ por último M-18 y M-21, los cuales crecieron y esporularon en un 25% de la superficie con una concentración de 1×10^6 . mL⁻¹

Cuadro 1: Crecimiento y esporulación de cepas de Trichoderma por fermentación líquida y/o sólida.

Cepas	Crecimiento y esporulación por fermentación líquida en melaza al 5%	Concentración Promedio del fermentado de las cepas (UFC. mL ⁻¹)
M-18	Creció y esporuló en un 25% de la superficie	1×10^6 . mL ⁻¹
M-23	Creció y esporuló en un 100% de la superficie	2×10^9 . mL ⁻¹
M-4	Creció y esporuló en 95% de la superficie superior	1×10^9 . mL ⁻¹
M-11	Creció y esporuló en un 100% de la superficie superior	2×10^9 . mL ⁻¹
M-21	Se tornó amarillo y se evidenció que creció y esporuló en un 25% de la superficie muy poca esporulación	1×10^6 . mL ⁻¹

En el cuadro 2, se presentan los resultados obtenidos de la aplicación de cinco cepas de Trichoderma para el biocontrol de *R. solani* y la estimulación del desarrollo de la planta sobre los cultivos papa, maíz y caraota. Se puede ver que todas las cepas lograron reducir significativamente la incidencia de la Rhizoctoniasis en papa, cuyos valores estuvieron entre 0 a 17%, en relación a las plantas inoculadas sólo con *R. solani*, que alcanzó un 100%; así mismo lograron incrementar significativamente las variables de crecimiento en cuanto a

altura de las plantas, tamaño de raíces y peso; siendo superior el tratamiento T4, que alcanzo los más altos valores significativos en altura y tamaño de raíces con buenos valores en cuanto a pesos de las raíces.

En maíz, todas las cepas redujeron significativamente la incidencia de la Rhizoctoniasis, entre 0 a 11%, en referencia a T6, el cual llegó a 100%; en este caso los tratamientos T1 y T2 alcanzaron la más alta severidad de daño, a pesar que las incidencias de la Rhizoctoniasis fueron bajas 11 y 10% respectivamente. Los mejores tratamientos resultaron ser T3, T4 y T5; que alcanzaron 0% de incidencia y además los más altos valores en altura de la planta, tamaño y peso de las raíces.

Una mejor visualización de los resultados, se presenta en las figuras 1 y 2.

En el cuadro 2, se presentan los resultados obtenidos de la aplicación de cinco cepas de *Trichoderma* para el biocontrol de *Fusarium* y la estimulación del desarrollo de la planta sobre los cultivos maíz y caraota. En maíz todos los tratamientos con base a *Trichoderma* lograron disminuir significativamente la incidencia de la Fusariosis los cuales estuvieron entre 0 a 40%, en relación a T6 el cual estuvo en 55%; asimismo estimularon el desarrollo de todas las variables de crecimiento con incrementos en la altura, tamaño de raíces y su peso en relación al testigo enfermo. Para mayor claridad, ver figura 3.

La Caraota tuvo la misma proyección con una disminución significativa de la incidencia de Fusariosis que estuvo entre 0 a 80%, con baja severidad de daño, en relación a T6 la cual llegó a 100%. Asimismo hubo incrementos en la altura de las plantas, el tamaño de la raíz y su peso; el mejor resultado fue obtenido con T4 el cual alcanzo el mayor tamaño de la raíz y un buen valor de peso. Para mayor claridad, ver figura 4.

Cuadro 2: Respuesta de la aplicación de cinco cepas de *Trichoderma* spp para el control de *R. solani* y variables de crecimiento de Papa, Maíz y Caraota.

Cultivo	Tratamientos	*Promedio de Incidencia de Rhizoctoniasis (%)	**Promedio de Severidad de daño (Grado)	*Altura Promedio de la planta (cm)	*Tamaño promedio de la Raíz (cm)	Promedio de Peso fresco de la Raíz (g)
---------	--------------	---	---	------------------------------------	----------------------------------	--

Papa	T0	0,00 c	0 c	5,60 c	8 c	0,09±
	T1	0,00 c	0 c	4,80 c	10,6 a	0,10±
	T2	17,00 b	1 b	7,50 ab	9,5 ab	0,21±
	T3	0,00 c	0 c	5,60 c	8,5ab	0,17±
	T4	0,00 c	0 c	8,60 a	10 a	0,16±
	T5	0,00 c	0 c	6,17 bc	11 a	0,14±
	T6	100,00 a	2 a	5,17c	0,7 d	0,003±
Maíz	T0	0,00 d	0 a	4,40c	10,4ab	0,41±
	T1	11,00 b	2 ab	11,60 a	7,90 c	0,37±
	T2	10,00 c	2 ab	10,70 ab	9,30 ab	0,49±
	T3	0,00 d	0 a	10,40 ab	10,50 ab	0,50±
	T4	0,00 d	0 a	9,80 ab	11,30 a	0,63±
	T5	0,00 d	0 a	10,90 ab	12,70 a	0,57±
	T6	100,00 a	1 a	8,80 b	4,9 d	0,26±
Caraota	T0	0,00 e	0 c	23,70 ab	7,90 a	0,41±
	T1	0,00 e	0 c	20,70 c	6,30 b	0,49±
	T2	100,00 a	2 b	23,20 ab	4,00 c	0,34±
	T3	30,00c	2 b	25,60 a	6,10 b	0,51±
	T4	0,00 e	0 c	20,00 c	7,60 a	0,31±
	T5	10,00 d	2 b	24,30 ab	8,50 a	0,73±
	T6	85,00 ab	3 a	20,60 c	4,50c	0,19±

Medias con una letra común, no son significativamente diferentes, según las pruebas de

Tukey y Kruskal Wallis/Mann Whitney** $p < 0,005$; $N = 21$*

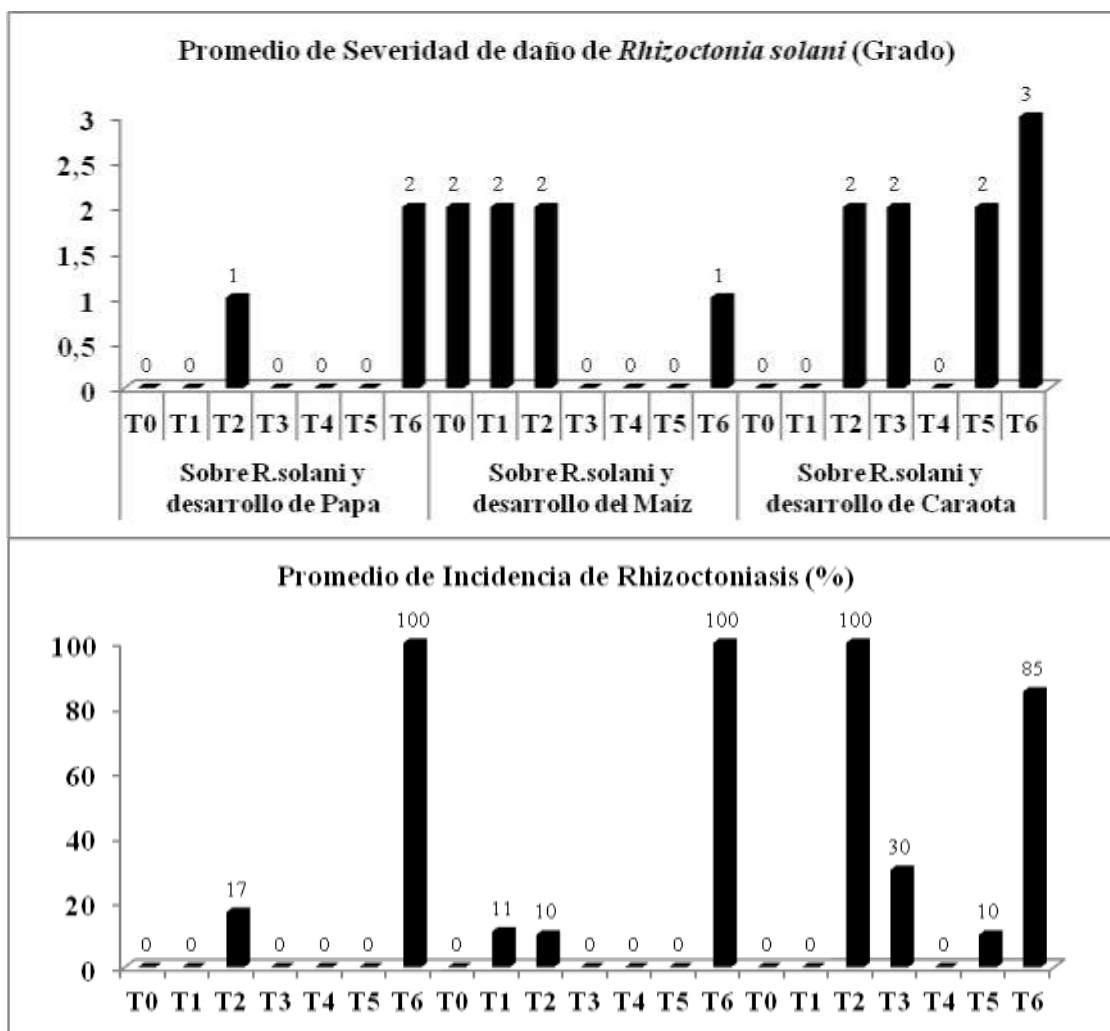


Figura1: Efecto de cinco cepas de *Trichoderma* sobre la Incidencia y Severidad de daño de *Rhizoctoniasis* sobre tres especies de plantas.

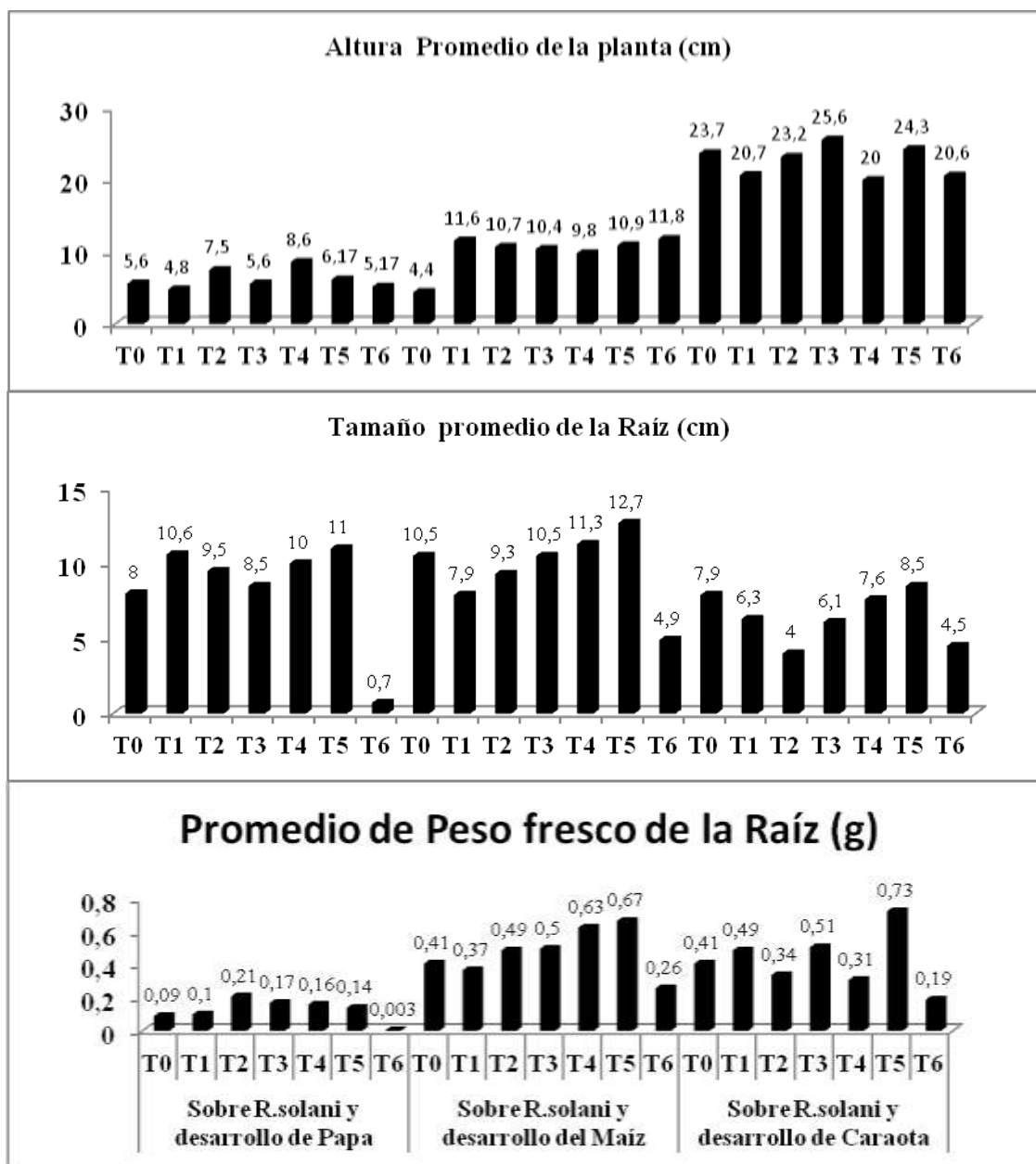


Figura 2: Efecto de cinco cepas de Trichoderma aplicadas para el biocontrol de Fusariosis, sobre variables de crecimiento de tres especies de plantas.

Cuadro 3: Respuesta de la aplicación de cinco cepas de *Trichoderma* spp para el control de *Fusarium* sp y variables de crecimiento de Maíz y Caraota.

Cultivos	Tratamientos	*Promedio de Incidencia de Fusariosis (%)	**Promedio de Severidad de daño (Grado)	*Altura Promedio de la planta (cm)	*Tamaño promedio de la Raíz (cm)	Promedio de Peso Fresco de la Raíz (g)
Maíz	T0	0c	0 a	4,40 b	14,50bc	0,41±
	T1	40,00a	1 a	5,90 a	17,10 a	0,75±
	T2	10,00bc	1 a	4,50 ab	14,80bc	0,76±
	T3	11,00bc	1 a	5,00 ab	16,60 ab	0,99±
	T4	0,00c	1 a	4,90 ab	17,70 a	0,97±
	T5	11,00bc	1 a	4,00 b	12,40 c	0,70±
	T6	55,00 a	1 a	4,90 ab	8,70 d	0,95±
Caraota	T0	0,00 e	0 a	23,70 a	7,90 b	0,41±
	T1	80,00b	1 a	19,50 b	7,45b	0,40±
	T2	0,00 e	1 a	15,20 e	6,20 c	0,45±
	T3	0,00e	0 a	17,60cd	6,30 c	0,50±
	T4	30,00d	1 a	18,40bc	10,40 a	0,84±
	T5	50,00c	1 a	22,50 a	7,90 b	0,65±
	T6	100,00a	2 b	17,17d	5,30d	0,27±

Medias con una letra común, no son significativamente diferentes, según las pruebas de Tukey y Kruskal Wallis/Mann Whitney** $p < 0,005$; $N = 21$*

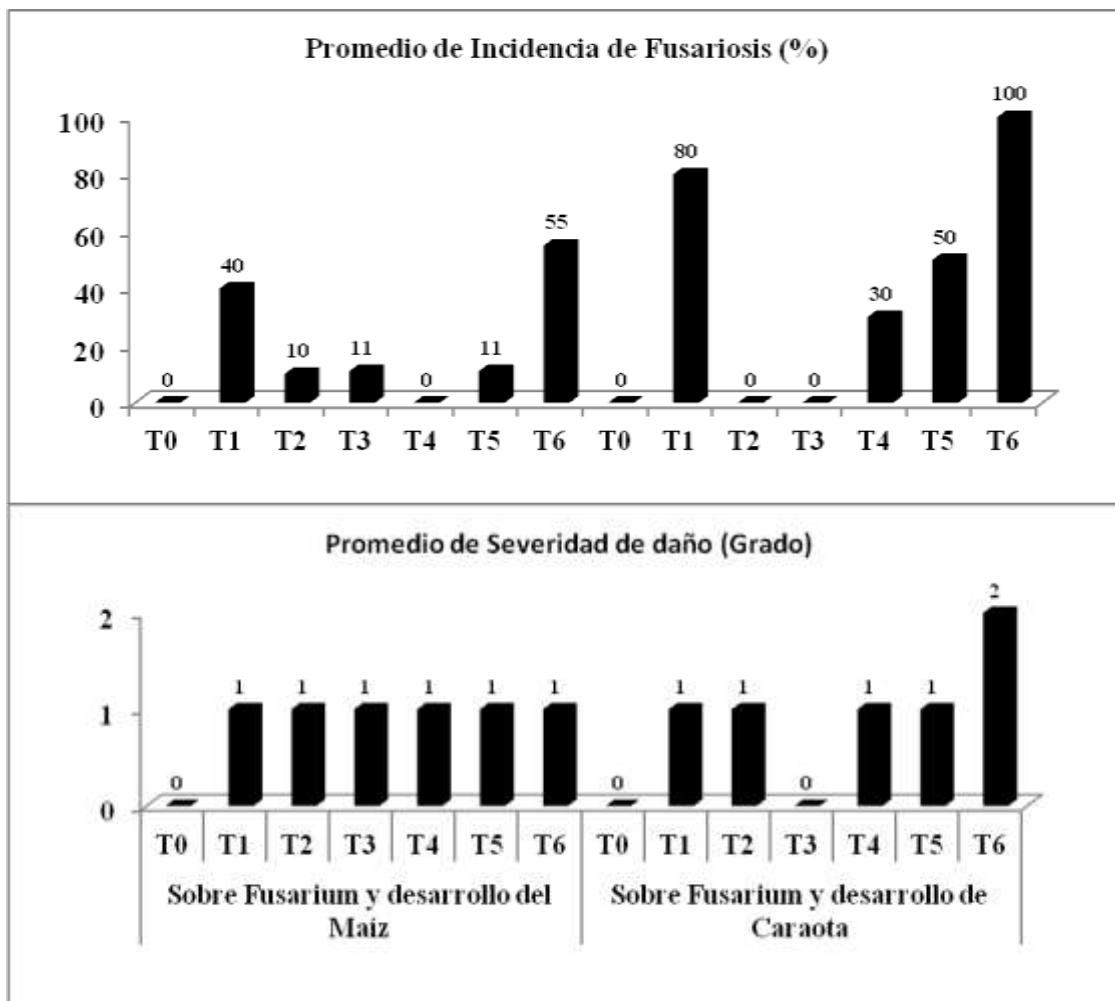


Figura 3: Efecto de cinco cepas de *Trichoderma* para el biocontrol de *Fusarium* sp sobre Incidencia y Severidad de daño de la enfermedad.

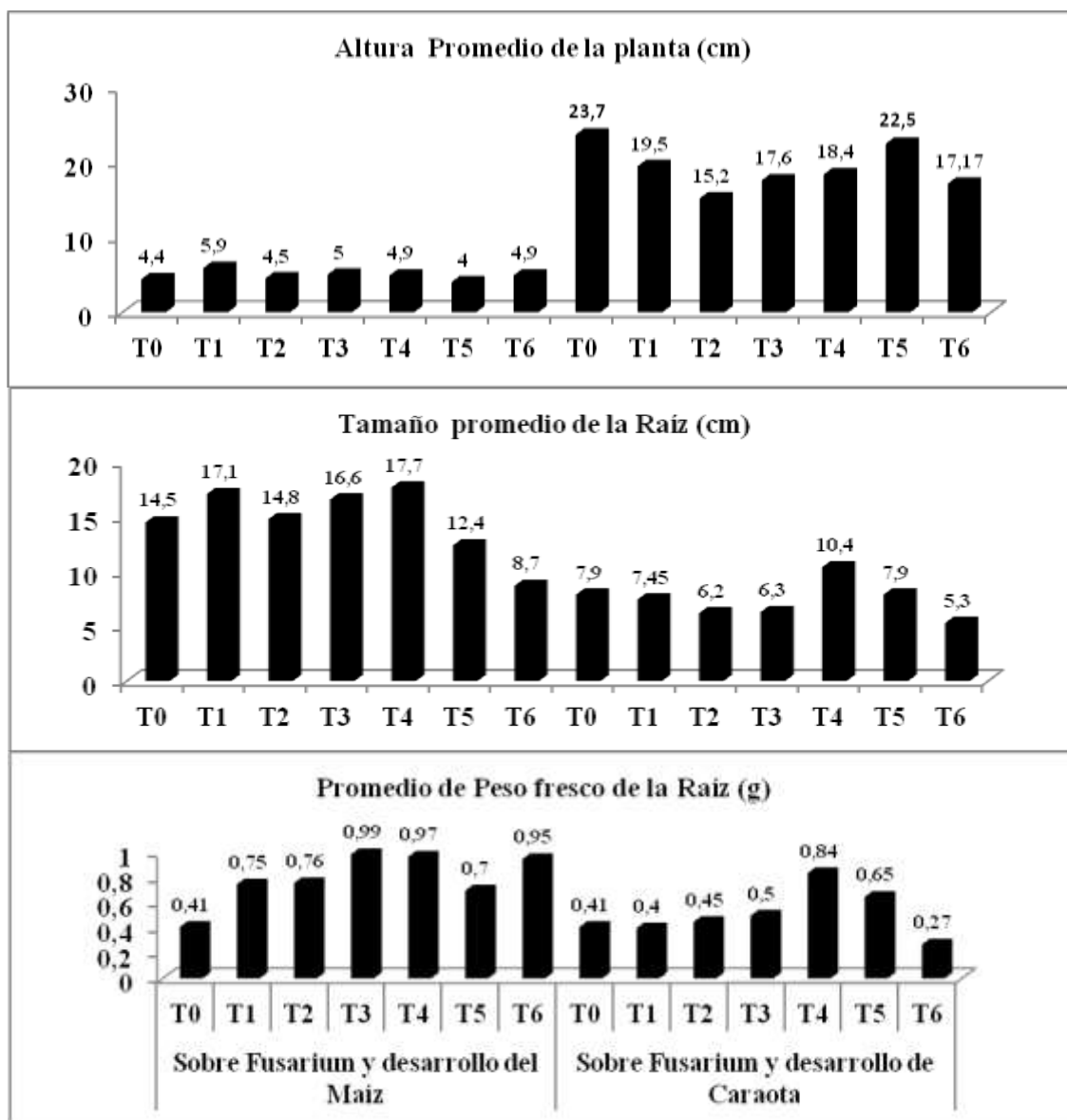


Figura 4: Efecto de cinco cepas de *Trichoderma* spp aplicadas para el biocontrol de Fusarium sobre variables de crecimiento de dos especies de plantas.

2.- Validación del Uso de Trichoderma Producido por Fermentación Líquida en la Comunidad de Mesa de Bodoque, Municipio Rivas Dávila del Estado Mérida.

En el cuadro 4 se puede ver que la cepa M-11, seleccionada por su buen comportamiento en cuanto a biocontrol contra *R. solani*, *Fusarium* sp y su capacidad de estimular variables de crecimiento; mantuvo su capacidad de crecimiento y esporulación en humus líquido bajo las condiciones de Bodoque.

Cuadro 4: Crecimiento y esporulación de la cepa M-11 de *Trichoderma* spp por fermentación líquida; bajo condiciones de campo de la Localidad Mesa de Bodoque.

Cepa <i>M-11/Envase</i>	Crecimiento y esporulación por fermentación líquida en melaza al 5%	Concentración Promedio del fermentado de las cepas (UFC. mL ⁻¹)
1	Creció y esporuló en un 100% de la superficie superior	1x10 ⁹ . mL ⁻¹
2	Creció y esporuló en un 100% de la superficie superior	1,2x10 ⁹ . mL ⁻¹
3	Creció y esporuló en un 100% de la superficie superior	1,1x10 ⁹ . mL ⁻¹

En el cuadro 5, se presentan los resultados del ensayo de validación, bajo condiciones de campo que fue realizado en la Localidad Mesa de Bodoque, se puede ver que cuando fue aplicada la cepa M-11 en lechuga hubo menor incidencia de la enfermedad en los cultivos lechuga y cebolla, la cual estuvo entre 7,8 y 14,3 respectivamente; con respecto a cuando no fue aplicada la cepa de *Trichoderma* que estuvo entre 17,6 y 27,4%: Así mismo se observó una mayor altura tamaño de raíces de las plantas.

En el cultivo de cebolla a pesar que hubo menor incidencia de enfermedades en el cultivo en general, se observó la misma proyección. Se puede ver que la incidencia de la enfermedad fue aún menor en las plantas tratadas que en las no tratadas y con mayores

valores en las variables de crecimiento estudiadas. Estos resultados se evidencian más claramente en la figura 5.

Cuadro 4: Validación del efecto de la cepa M-11 de *Trichoderma* spp en el control de *R.solani* y *Fusarium* sp en los cultivos lechuga y cebolla, en parcelas de campo. Mesa de Bodoque, Mayo-Agosto 2012.

Cultivos	Tratamientos	Incidencia de <i>R. solani</i>(%)	Incidencia de <i>Fusarium</i> spp(%)	Altura de la Planta (cm)	Tamaño de la Raíz (cm)
Lechuga	Con Trichoderma				
	Promedio	7,8	14,3	24	18,8
	Dv	3,9	0,8	2	2
	Sin Trichoderma				
	Promedio	17,6	27,4	22,6	17,8
	Dv	2,5	2,8	0,9	1,5
Cebolla	Con Trichoderma				
	Promedio	1,4	6,3	28,7	11,7
	Dv	2,4	1,6	1,8	1,3
	Sin Trichoderma				
	Promedio	3,8	11	27,8	8
	Dv	0,8	1	0,8	0,7

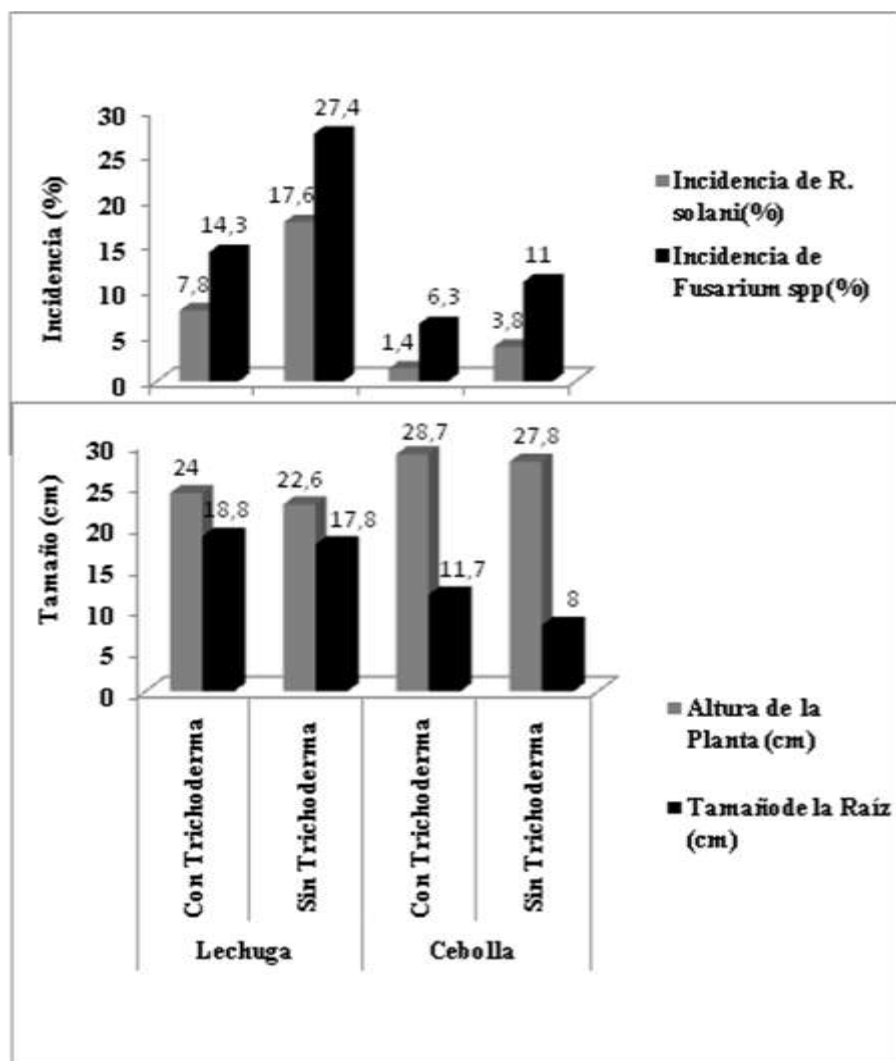


Figura 5: Efectividad de *Trichoderma* spp sobre *R.solani* y *Fusarium* spp en lechuga y ajo. Mesa de Bodoque, Municipio Rivas Dávila, Mérida.

Discusión:

La capacidad de distintas cepas de *Trichoderma* para proteger a la planta frente a patógenos de raíz sea venido estudiando durante varios años, la cual se atribuyó a un efecto directo contra los patógenos (Chet *et al.*, 1998), pero se ha demostrado que también existe una asociación directa de algunas cepas de *Trichoderma* con las raíces, ello estimula los mecanismos de defensa de la misma (Yedidia *et al.*, 1999; Korolev *et al.*, 2008; Segarra *et al.*, 2009), que por ende conlleva a una resistencia contra varios tipos de microorganismos fitopatógenos e incluso nematodos (Harman *et al.*, 2004).

El efecto de *Trichoderma* en cuanto a los incrementos en el crecimiento y desarrollo de las raíces ha sido explicado a través de varios mecanismos de acción: el hongo *Trichoderma* regula los niveles de auxinas en la rizósfera (Contreras-Cornejo *et al.*, 2009) estimulando el crecimiento de las plantas (Chang *et al.*, 1986; Yedidia *et al.*, 2001), además de proteger el sistema radical con habilidad para modificar su ambiente circundante, pudiendo acidificar el suelo mediante la secreción de ácidos orgánicos, lo que resulta en el metabolismo de otras fuentes de carbono (glucosa), capaces de solubilizar fosfatos e intervenir en el equilibrio de micronutrientes y minerales. Por lo tanto, la adición de *Trichoderma* al suelo, resulta en la biofertilización por la solubilización del metal incrementando la riqueza del mismo en forma tal que puedan ser asimiladas por las plantas (Altomare *et al.*, 1999), lo que se traduce en un incremento de la productividad del cultivo (Harman, 2004).

Trabajos que coinciden con los resultados obtenidos, se han reportado en otros cultivos. Así Chet *et al.* (1997), afirmaron que la producción en los cultivos puede incrementarse hasta un 300% después de la inoculación de *T. hamatum* o *T. koningii*. También, señalan en experimentos llevados a cabo en invernadero, un aumento considerable en la producción, con semillas de plantas previamente tratadas con esporas de *Trichoderma*. Sin embargo, existen muy pocos reportes de cepas que producen factores de crecimiento (auxinas, citoquininas y etileno) que son detectados e identificados en el laboratorio.

También en Venezuela, Jiménez (2011), al evaluar la efectividad de productos con base a *T. harzianum* y una cepa nativa *T. koningiopsis* de la zona bajo estudio y el inductor químico Bion®, solos y combinados como inductores de resistencia a la pudrición blanca en ajo (*Allium sativum* L.) producida por *Sclerotium cepivorum*, Berk. bajo condiciones de campo; encontró un efecto positivo en aquellos tratamientos donde se combinaron ambos inductores, con un incremento del rendimiento, indicando que los mayores fueron en aquellas plantas tratadas con *T. koningiopsis* + Bion®, las cuales mostraron además los mayores contenidos de clorofila, peso fresco y seco aéreo e incrementos en altura de las plantas; lo cual indicó el efecto aditivo y a largo plazo de la resistencia inducida, bajo una

disminución de la incidencia de la enfermedad y el área bajo la curva de progreso de la misma.

Conclusiones:

1. Se obtuvo un biopreparado fluible por fermentación líquida estática artesanal, cuya concentración de UFC.mL⁻¹, fue variable en dependencia de la cepa. Las mayores producciones de conidios fueron obtenidas con las cepas M-11 y M-23. La metodología fue también validada bajo condiciones de campo al usar como sustrato humus líquido.
2. Con la aplicación de las soluciones fluidas de las cinco cepas del antagonista *Trichoderma* provenientes de fermentación líquida, hubo un control variable de las enfermedades Rhizoctoniasis y Fusariosis, las cuales estuvieron entre 0 y 80%, dependiendo del cultivo; a su vez estimulación el tamaño y peso de las raíces y en menor proporción de la altura de las plantas, bajo condiciones controladas y de campo
3. Las Cepas que experimentaron un comportamiento superior en cuanto a reducción o control de la enfermedad, altura de las plantas y desarrollo de las raíces fueron M-11 y M-21; siendo mejor la M-11, la cual tuvo una proyección estable en los diferentes cultivos y variables.
4. La cepa M-11, representan una alternativa para el manejo sustentable de las enfermedades fungosas en cultivos agrícolas.

Recomendaciones:

Se recomienda el uso de la cepa M-11 para el manejo de la Fusariosis y Rhizoctoniasis y posible biofertilizante de plantas; bajo condiciones controladas y de campo.