

MANEJO ECOLÓGICO EN FRUTILLA APLICANDO *Trichoderma* sp. COMO PROMOTOR DE CRECIMIENTO Y CONTROLADOR BIOLÓGICO DE *Botrytis cinerea*

B.G. Murillo¹, E.E.F. Guerrero¹, S.R. Zapata¹,

⁽¹⁾ Fitopatología. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Salta.
Tel. 0387-4255481 – Fax 0387- 4255455 e-mail: rzapata@unsa.edu.ar

Recibido 11/08/16, aceptado 07/10/16

RESUMEN: El cultivo de frutilla es afectado por diversas enfermedades, siendo una de las más importantes el “moho gris” causado por *Botrytis cinerea* debido a las pérdidas económicas que provoca. Por tratarse de una infrutescencia que se consume en fresco y presentar el hongo estructuras de resistencia, es de difícil manejo químico. Este trabajo propone una alternativa al manejo sanitario del cultivo empleando una cepa nativa de *Trichoderma* sp de probada capacidad biocontroladora del patógeno *in vitro* y de promoción de crecimiento. Se realizó un ensayo en invernadero con dos variedades de frutilla y cuatro tratamientos. Se evaluó la sanidad y el rendimiento (kg/ha) del cultivo. Se obtuvo una óptima sanidad durante el mismo y en poscosecha y se comprobó una acción positiva de las aplicaciones de *Trichoderma* sp. en el rendimiento y la recuperación de las plantas en situación de estrés.

Palabras clave: frutilla, *Botrytis cinerea*, *Trichoderma* sp., biocontrolador

INTRODUCCIÓN

La frutilla es un vegetal que puede vivir varios años, sin embargo su duración en producción económica se reduce a uno o dos años ya que las plantas con mayor edad se muestran débiles, con bajos rendimientos y frutos de menor calidad, con mayor presencia de plagas. Es un alimento humano codiciado, rico en vitamina C, que puede consumirse directamente como fruta fresca o bien procesada. Posee propiedades medicinales, pues contiene ácido elálgico, un fenol anticancerígeno. La calidad de los frutos está definida por tamaño, forma, firmeza, color, sabor y contenido de vitamina C (Becerra *et al*, 2013).

Las principales causas de pérdida de productividad durante el cultivo y de calidad de fruto en poscosecha son las enfermedades fúngicas. Entre ellas, la llamada “moho gris” causado por *Botrytis cinerea* Pers. que infecta más de 200 especies vegetales distintas. El patógeno puede atacar al cultivo en cualquier estado de desarrollo del mismo y puede infectar cualquier parte de la planta (Benito *et al*, 2000). La enfermedad produce manchas en el fruto de color marrón claro. Es más frecuente observar la lesión en la zona del cáliz, pero puede aparecer en cualquier parte del fruto, en especial en zonas que están en contacto con el suelo o sobre zonas del “mulching” de nylon que contenga agua. La pudrición puede extenderse a todo el fruto, el cual rápidamente queda cubierto por un moho gris que corresponde a las esporas del hongo. Puede atacar también las inflorescencias, produciendo un tizón que ocasiona la pérdida parcial o total de la misma. La esporulación típica puede aparecer en estos órganos afectados. *B.cinerea* produce abundante fructificación aérea y perdura en el suelo en forma de esclerocios o de micelio, el cual se desarrolla sobre restos de plantas en proceso de descomposición (Giménez *et al*, 2003).

La mayor parte de las estrategias de control utilizadas hasta el momento, tanto en cultivo como en poscosecha, se han basado en el empleo de fungicidas sintéticos. Sin embargo, estas prácticas son cada vez menos recomendables y están más restringida debido a los problemas de contaminación ambiental y por representar un potencial riesgo para la salud humana, además de la aparición de cepas del patógeno resistentes a los fungicidas utilizados (Benito *et al*, 2000). En la búsqueda de alternativas naturales para el control de pudriciones postcosecha se ha valorado el empleo del control biológico (Guédez *et al*, 2009).

El hongo *Trichoderma* sp. es un eficiente controlador biológico ampliamente usado en agricultura por su habilidad para colonizar sustratos rápidamente, inducir resistencia sistémica adquirida en plantas, promover el crecimiento vegetal y poseer actividad antagonista contra un amplio rango de hongos patógenos (Cruzat y Ionannidis, 2008).

Los mecanismos de biocontrol atribuidos a *Trichoderma* spp. son, competencia por los nutrientes, antibiosis y micoparasitismo, siendo este último el más importante mediante el cual cubre al patógeno, ataca y penetra en sus células causándole un daño extensivo alterando y degradando la pared celular, provocando la retracción de la membrana plasmática y desorganización del citoplasma sobre *Rhizoctonia solani* Khün, *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Sclerotinia sclerotiorum* de Bary, *Fusarium oxisporum* Schltdl., *Botrytis cinerea* Pers., causantes de enfermedades importantes en diversos cultivos (Ibarra-Medina *et al*, 2010; Otadoh *et al*, 2011; Boubekour *et al*, 2012; [Teixeira et al](#), 2012; [Yusimy](#), 2012 y Milanesi *et al*, 2013). *Trichoderma harzianum* se ha utilizado en el control de hongos como *B. cinerea* y *Penicillium expansum* en postcosecha en vid y manzana, protegiendo *in situ* al fruto hasta dos meses (Guédez *et al*, 2009). Merchán-Gaitán *et al* (2014) determinaron acción biocontroladora de dos cepas de *Trichoderma* sobre *Botrytis* sp. y el efecto en la calidad del fruto de frutilla otorgándole mayor firmeza, mejor color y mejores características organolépticas.

Por otro lado, *Trichoderma* sp. tiene reconocida capacidad de promoción del crecimiento de los cultivos, especialmente en condiciones de estrés abiótico, lo que lo convierte en un individuo con características muy interesantes para ser tenido en cuenta en cultivos orgánicos, producción sostenible y en condiciones de suelos agotados por monocultivos (Cruzat y Ionannidis, 2008).

Por ser un hongo habitante natural del suelo permite trabajar con cepas nativas, aisladas del lugar donde desarrollará su actividad biocontroladora y promotora del crecimiento, no alterando la composición cualitativa del suelo sino la cuantitativa llevando progresivamente al equilibrio dinámico perdido por la realización de prácticas culturales poco adecuadas (Zapata y Murillo, 2010).

El presente trabajo tiene como objeto probar la capacidad de una cepa nativa de *Trichoderma* sp. como promotora de crecimiento y biocontroladora del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* Pers. en el cultivo de frutilla.

La propuesta de trabajo se origina a solicitud de un productor de frutilla cuyo predio tiene un historial de alta incidencia de *B. cinerea* con las consecuentes pérdidas económicas y el elevado número de aplicaciones de químicos de síntesis destinados a paliar el daño producido por la enfermedad. Esta situación llevó al productor a replantearse la continuidad de esta producción en el lugar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las actividades de laboratorio se desarrollaron en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Salta y las de campo en el predio perteneciente al productor Hugo Terceros, en la localidad de Vaqueros, departamento La Caldera de la Provincia de Salta.

En laboratorio las actividades fueron las siguientes

- A. Multiplicación en agar papa glucosado acidificado (APGA) de la cepa nativa Ss de *Trichoderma* sp. perteneciente al cepario de la cátedra.

- B.** Propagación del hongo usando bolsas de polipropileno de 500 ml conteniendo trigo previamente autoclavadas a 120°C por 15 minutos. Estas bolsas se inocularon con una suspensión acuosa de 1×10^9 esp/ml y se incubaron en cámara de cría a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por 15 días.
- C.** Preparación del inóculo para aplicaciones en invernadero: a partir de las bolsas obtenidas se preparó una suspensión acuosa de 1×10^9 esp/ml.

En campo se trabajó en un invernáculo con una superficie de 500 m². Al inicio del ensayo se realizó una aplicación total del biocontrolador al suelo con la intención de reducir la concentración de inóculo de *B. cinerea*; y, desde que el cultivo inició la etapa de fructificación, se realizaron aplicaciones semanales preventivas a hojas y frutos de 300 litros/ha de la suspensión acuosa de esporas.

Las variedades empleadas fueron:

- “Sabrina”: con 3 repeticiones /tratamiento y se muestrearon 5 plantas/repetición;
- “Camarosa”: con 4 repeticiones /tratamiento y se muestrearon 5 plantas/repetición.

Se realizaron aplicaciones en “drench” (chorro al cuello de la planta) agregando 20 ml de la suspensión acuosa de esporas. Se trabajó según el diagrama del *Gráfico 1* y los tratamientos fueron:

- Una aplicación, 15 días postrasplante.
- Dos aplicaciones, 15 y 30 días postrasplante.
- Tres aplicaciones, 15, 30 y 45 días postrasplante.
- Cuatro aplicaciones, 15, 30, 45 y 60 días postrasplante

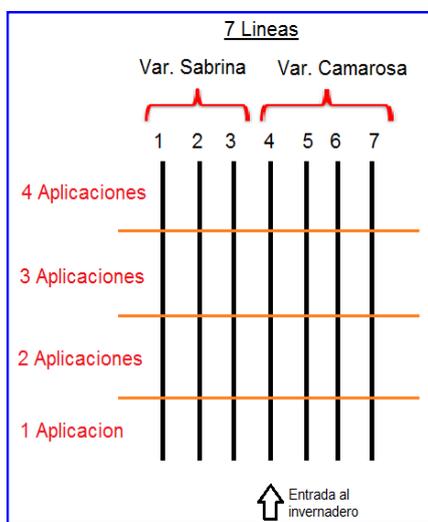


Gráfico 1: Diagrama de trabajo en el invernadero

No se consideró la posibilidad de incorporar un fungicida para el control del “moho gris” ya que es interés del productor realizar una producción sin aplicación de químicos de síntesis. La ausencia de un testigo sin tratar se debió a la alta incidencia del fitopatógeno en las campañas anteriores, lo que ocasionó pérdidas entre 80 y 85 % en cosecha (Comunicación verbal del Sr. Hugo Terceros).

La cosecha se inició el 11 de agosto y finalizó el 11 de diciembre de 2015. Se hicieron 2 recolecciones/semana (frecuencia usada por el productor) sobre 5 plantas/repeticón y se evaluó la incidencia de *B. cinerea* en planta (número de plantas enfermas/ número total de plantas analizadas), en fruto recién cosechado y a los 5 días poscosecha (número de frutos afectados/número total de frutos analizados).

Las variables evaluadas fueron:

- 1.- Peso fresco de frutos cosechados (Kg/ha)
- 2.- Incidencia de *B. cinerea* “moho gris” en fruto, en planta y poscosecha.

Los datos fueron analizados como un diseño completamente al azar (por la homogeneidad de las condiciones edáficas y ambientales), considerando cada variedad por separado. Se usó el programa estadístico INFOSTAT (Balzarini *et al*, 2008).

RESULTADOS

- a) Rendimiento total de la variedad “Sabrina”

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Rdto	12	0,46	0,25	17,50

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	86972944,67	3	28990981,56	2,23	0,1621
aplic	86972944,67	3	28990981,56	2,23	0,1621
Error	103996354,00	8	12999544,25		
Total	190969298,67	11			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=9427,70005

Error: 12999544,2500 gl: 8

aplic	Medias	n
3	18142,67	3 A
2	18436,00	3 A
1	20991,67	3 A
4	24856,33	3 A

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

a) Rendimiento total de la variedad “Camarosa”.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Rdto	16	0,17	0,00	18,72

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)						
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	43096116,25	3	14365372,08	0,82	0,5060	
aplic	43096116,25	3	14365372,08	0,82	0,5060	
Error	209474171,50	12	17456180,96			
Total	252570287,75	15				

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=8771,83586

Error: 17456180,9583 gl: 12

aplic	Medias	n
1	19901,75	4 A
4	21802,00	4 A
2	23375,00	4 A
3	24202,75	4 A

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Al evaluar el rendimiento de ambas variedades no se observó diferencias significativas entre las distintas aplicaciones como lo muestran las Figuras 1 y 2; sin embargo el tratamiento con cuatros aplicaciones en “Sabrina” mostró el mejor rendimiento superando en un 18 % al inmediato anterior mientras que para “Camarosa” los tratamientos tres aplicaciones y dos aplicaciones mostraron resultados similares (827 kg/ha de diferencia entre ambas).

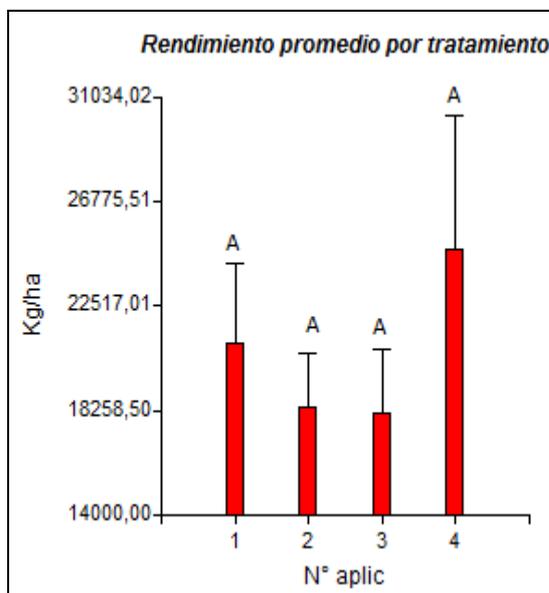


Figura 1: Rendimiento total (Kg/ha) frutilla var. “Sabrina”

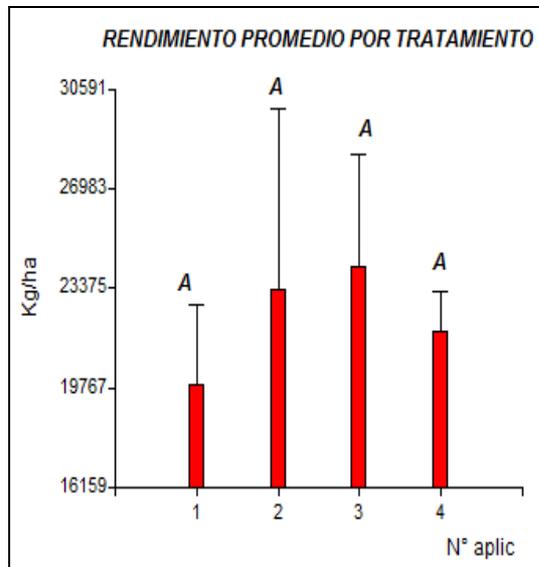


Figura 2: Rendimiento total (Kg/ha) frutilla var. “Camarosa”

Analizando el rendimiento promedio mensual por tratamiento para las dos variedades, como se muestra en las Figuras 3 y 4, se observa una disminución en la producción durante el mes de octubre que si bien es esperable por la fisiología del cultivo, se intensificó por la ocurrencia de vientos cálidos del sector norte en dos oportunidades ocasionando la ruptura del invernadero y un fuerte estrés en las plantas. Sin embargo, se observó una buena recuperación posterior con un pico de producción en el mes de noviembre para el tratamiento 4 aplicaciones en la variedad “Sabrina” y para 3 y 4 aplicaciones en variedad “Camarosa”. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Cruzat y Ionannidis (2008).

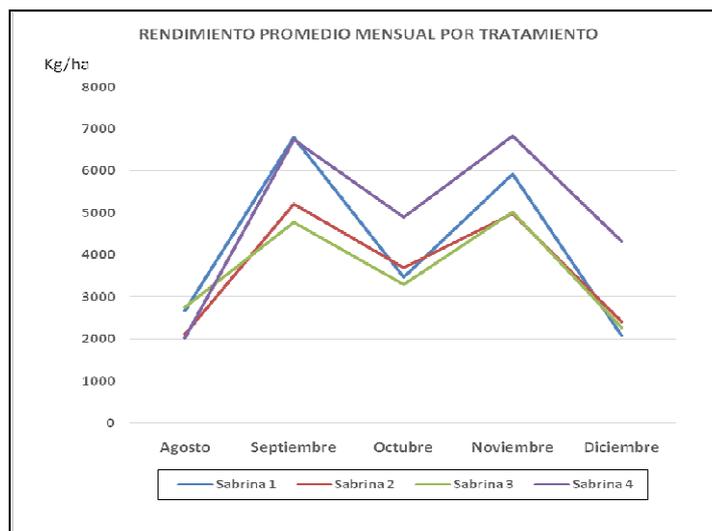


Figura 3: Rendimiento promedio mensual por tratamiento de la variedad “Sabrina”

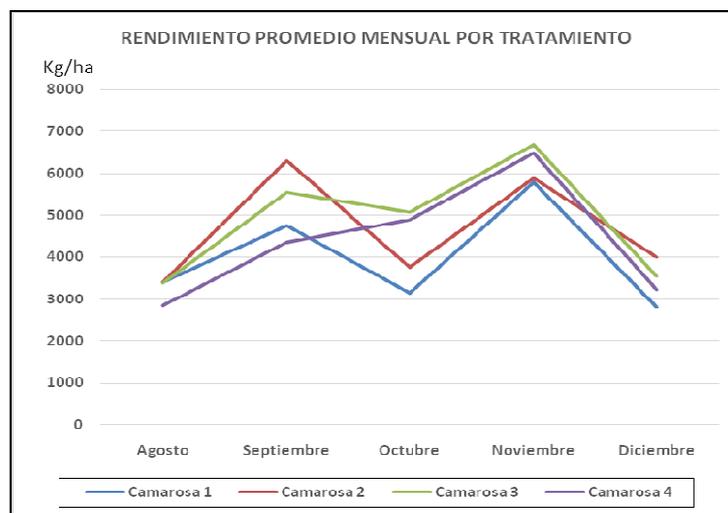


Figura 4: Rendimiento promedio mensual por tratamiento de la variedad “Camarosa”

En cuanto a la sanidad del cultivo y dadas las condiciones predisponentes para la manifestación del fitopatógeno, temperatura entre 15°y 25°C y humedad relativa superior al 80 %, no se observó incidencia del “moho gris” durante el ciclo del cultivo ni en poscosecha, en coincidencia con los resultados obtenidos por Guédez *et al* (2009) y Merchán-Gaitán *et al* (2014).

CONCLUSIONES

En función de los resultados obtenidos se puede concluir que el comportamiento de *Trichoderma* sp. es promisorio para el manejo de el “moho gris” en cultivo de frutilla ya que no se observaron síntomas de la enfermedad en este ensayo. La aplicación preventiva de *Trichoderma* sp. conserva una óptima sanidad del cultivo durante su desarrollo y del fruto poscosecha. Además favorece la recuperación de las plantas y su rendimiento después de haber sido afectadas por un estrés de temperatura.

BIBLIOGRAFÍA

- Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Casanoves, F.; Di Renzo, J.A. y Robledo, C.W. (2008). Manual del usuario. Editorial Brujas. Córdoba. Argentina
- Becerra, C., Robledo, P., Defilippi, B. 2013. Manual de frutilla. Instituto de investigaciones agropecuarias. Boletín INIA N°62..
- Benito, E.P., Arranz, M. y Eslava, A.P. 2000. Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. Revista Iberoamericana de Micología. 17: S43-S46
- Boubekeur Seddik Bendahmane, Mahiout Djamel, Elkhilil Benzohra Ibrahim and Mokhtar Youcef (2012). Antagonism of Three *Trichoderma* Species Against *Botrytis fabae* and *B. cinerea*, the Causal

- Agents of Chocolate Spot of Faba Bean (*Vicia faba* L.) In Algeria. World Applied Sciences Journal Vol 17, N° 3. Páginas 278-283.
- Cruzat R, Ionannidis D. 2008. Resultados y lecciones en biocontrol de enfermedades fungosas con *Trichoderma* spp. Proyecto de innovación en las regiones de O'Higgins y del Maule. Chile.
- Giménez, G. Paullier, P., Maeso. 2003. Identificación y manejo de las principales enfermedades y plagas en el cultivo de la frutilla. Boletín de divulgación N° 82.
- Guédez, C., Cañizález, L., Castillo, C. y Olivar, R. 2009. Efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* sobre algunos hongos patógenos postcosecha de la fresa (*Fragaria* spp). Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología; 29:34-38
- [Ibarra - Medina, V.A.](#); [Ferrera - Cerrato, R.](#); [Alarcón, A.](#); [Lara - Hernández, M.E.](#) & [Valdez-Carrasco, J.M.](#) 2010. [Aislamiento y selección de cepas de *Trichoderma* antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor*](#). Rev. Mex. Mic; 31(0); 53-63
- Merchán-Gaitán, J. B., Ferrucho, R. L., Álvarez-Herrera, J. G. 2014. Efecto de dos cepas de *Trichoderma* en el control de *Botrytis cinerea* y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria* sp.) Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas - Vol. 8 - No. 1 - pp. 44-56
- [Milanesi, P.M.](#); [Blume, E.](#); [Antonioli, Z.I.](#); [Muniz, M.F.B.](#); [Santos, R.F.](#); [Finger, G.](#) & [Durigon, M.R.](#) 2013. [Biocontrol de *Fusarium* spp. com *Trichoderma* spp. e promoção de crescimento em plântulas de soja](#). Rev. de Ciências Agrárias; 36(3); 347-356.
- Otadoh, J.A.; [Okoth, S.A.](#); [Ochanda, J.](#) & [Kahind, J. P.](#) 2011. [Assessment of *Trichoderma* isolates for virulence efficacy on *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*](#). Trop. subtrop. agroecosyt; 13(1); 99-107.
- [Teixeira, H.](#); [Paula Júnior, T.J.](#); [Vieira, R.F.](#); [Silva, M.B.](#); [Ferro, C.G.](#) & [Lehner, M.S.](#) 2012. *Trichoderma* spp. decrease Fusarium root rot in common bean. Summa Phytopathol.; 38(4); 334-336
- [Yusimy, R. D.](#) 2012. [Aislamientos de *Trichoderma* spp. promisorios para el control biológico del tizón de la vaina \(*Rhizoctonia solani* Kühn\) en arroz](#). Rev. Protección Veg.; 27(1); 68-68
- Zapata, S.R.; Murillo, B. 2010. Promoción de crecimiento en plantas de tabaco aplicando cepas nativas de *Trichoderma* spp en Salta, Argentina. XXI Congreso Peruano de Fitopatología. Tarapoto, Perú: 49.

ABSTRACT: Strawberry culture is affected by many diseases , one of the most important is " gray mold " caused by *Botrytis cinerea* due to the economic losses it causes. Their chemical management is difficult because their fruits are consumed in fresh state and the fungus has resistance structures. This paper proposes an alternative to crop health management using a native strain of *Trichoderma* sp wich has biocontrol pathogen ability in vitro and growth promotion. The trial was conducted in a greenhouse with two strawberry varieties and four treatments. Diseases and yield (kg / ha) crop were evaluated. No presence of diseases was observed neither during the season nor postharvest. Plants under stress shown good performance and recovery due to *Trichoderma* sp applications

Key words: strawberry, *Botrytis cinerea*, *Trichoderma* sp, biocontrol agent