



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE *Trichoderma harzianum* SOBRE EL CRECIMIENTO AÉREO
Y RADICAL EN *Fragaria chiloensis* (L.) Duch. SOMETIDA A CONDICIONES DE ESTRÉS**

Rafaela Patricia Riquelme Valdivia

MEMORIA DE GRADO

TALCA, 2005

**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE *Trichoderma harzianum* SOBRE EL CRECIMIENTO AÉREO
Y RADICAL EN *Fragaria chiloensis* (L.) Duch. SOMETIDA A CONDICIONES DE ESTRÉS**

Por

Rafaela Patricia Riquelme Valdivia

MEMORIA DE GRADO

Presentada a la Universidad de Talca
como parte de los requisitos
para optar al título de

INGENIERO AGRONOMO

TALCA, 2005

APROBACIÓN:

Profesor Guía:

**Jorge Benjamín Retamales
Ing. Agronomo, Ms., Ph. D
Profesor Escuela Agronomía
Facultad Ciencias Agrarias
Universidad de Agronomía.**

|

Profesor Informante

**Claudio Sandoval
Ing. Agronomo, Ms., Dr.
Profesor Escuela Agronomía
Facultad Ciencias Agrarias
Universidad de Agronomía.**

Fecha de Defensa Memoria: 17 Diciembre de 2004.

Agradecimientos

Siento la necesidad de agradecer a Dios, quien estuvo a mi lado para guiarme y acompañarme durante estos años de estudios.

A mis padres, quienes desde un comienzo me entregaron amor y confianza al momento de mi partida. Me entregaron trabajo y fortaleza en aquellas ocasiones difíciles de superar y continuar. Y muchas ganas y alegría para terminar. Gracias por todo lo que soy, los amo mucho. A mis hermanas Pame y Blanki, lo bueno de tener hermanos es que ayudan sin esperar a cambio, por eso, gracias niñas por siempre estar ahí conmigo. A mis sobrinos Ignacio y Constanza, que con un solo beso me hicieron sentirme nuevamente en casa. A mi Nacho, gracias por correr a recibirme y con un gigante abrazo y expresar que era bueno estar nuevamente con mi gente. Marcelo, gracias solucionaste detalles que marcaron la diferencia. A mi Tía Maida y Nena, quienes me acogieron cariñosamente el primer año de universidad. Y no puedo olvidar a mi querido perro Rudo que siempre estaba contento de volver a verme.

Ja tu también eres una de las personas que colaboraron en la construcción de mi vida. Por eso, por que eres una gran amiga, te doy las gracias por no abandonarme y permanecer muy junto a mi. A mis amigas Caro y Dany, que lograron hacer de mi estadía en Talca mucho mas entretenida y muy acompañada. Dany, gracias por vivir conmigo y aprender a aceptarme tal cual soy.

A mi niño, Eduardo, llegaste en el momento que mas te necesitaba, me regalaste tranquilidad y mucha confianza.

A mis amigos de la U: Yasna, Winy, Loreto, Gabriel, Pelluco, Alvaro, Qiu, Claudia.

A mi Profesor Don Jorge Retamales, quien tuvo tiempo y mucha paciencia para terminar este proyecto que un día juntos comenzamos. A Don Claudio Sandoval, gracias por su incondicional disposición a ayudar, creo que es algo destacable como profesor.

Debo agradecer también a la Municipalidad de Contulmo y a Bio insumos Nativa por permitir llevar acabo este ensayo.

De Corazón, gracias a todas esas personas que ya he nombrado y a todas aquellas que no alcanzo a nombrar en este ensayo.

A Dios que supo guiar mi camino...
A mis padres que me apoyaron en ese camino.

RESUMEN

Fragaria chiloensis es una especie frutal nativa de Chile que tiene el potencial de convertirse en un cultivo comercial. Para investigar el impacto de la aplicación del hongo del suelo ***Trichoderma*** sobre el crecimiento de ***F. chiloensis*** sometida a estrés, se realizaron dos ensayos, en el invernadero de la **U. de Talca**, séptima región y en un huerto comercial de la Comuna de **Contulmo**, octava región. Se utilizaron plantas de ***Fragaria chiloensis* (L.) Duch.**, provenientes del mismo huerto, de un año de edad y cepas de ***Trichoderma harzianum***, proveídas por **Bioinsumos Nativa**, a una concentración de 10^9 conidias/ml de solución. En Talca, previo a la plantación, se realizó una inmersión de raíces (T1) en una solución de 1L/há, durante 15 segundos. A la plantación se aplicaron dos niveles de ***Trichoderma***: 0 L/há (T0; T1) a la corona y raíces, además de la inmersión radical. En floración se aplicó nuevamente ***Trichoderma harzianum*** a la corona. Luego de 30 días de establecidas las plantas con el hongo, se aplicaron tres niveles de sal (NaCl), durante el riego: 0, 4 y 8 g, un estrés abiótico que debiera disminuir el crecimiento en 0, 25 y 50%. La interacción de los factores aumentó en (73; 47 y 54%) la presencia de raíces (Nº de raíces / 5 mm²) en tres períodos de medición (13/09 a 07/11; 14/11 a 17/12; 13/09 a 03/03) a una profundidad de 0-10 cm. La interacción, estimuló el peso fresco de láminas (182%), pecíolos (113%), raíz secundaria (108%) y total (127%) de las estructuras vegetales. En peso seco aumentó sólo lámina (114%) y pecíolo (120%). En materia seca, la presencia de los factores sólo tuvo incidencia sobre pecíolo (7%). El factor ***Trichoderma*** incrementó la presencia de raíces (Nº de raíces / 5 mm²) a una profundidad de 0-10 cm, en cuatro períodos de medición (13/09 a 07/11; 14/11 a 17/12; 27/12 a 03/03 y 13/09 a 03/03) y a una profundidad de 11-30 cm en solo un período de medición (27/12 a 03/03). ***Trichoderma*** aumentó el peso fresco de lámina, corona, raíz primaria y secundaria, así como total. Solo pecíolo vio disminuido su peso fresco en presencia del hongo. Se incrementó significativamente el peso seco de: lámina, pecíolo, raíz principal y secundaria, así como total. En materia seca lámina, pecíolo, raíz principal y secundaria se vieron favorecidos por la acción de ***Trichoderma harzianum***. El factor salinidad, con el nivel S0, aumentó la presencia de raíces (Nº de raíces / 5 mm²) en tres períodos de medición (13/09 a 7/11; 14/11 a 17/12; 13/09 a 03/03) a 0-10 cm de profundidad. En peso fresco sólo se incrementó en raíz secundaria y total; mientras en peso seco, la salinidad no afectó significancia ninguna variable. En materia seca, sólo pecíolo aumentó su proporción con el nivel S1. En **Contulmo** no se obtuvieron efectos significativos ni con cada factor por separado ni en la interacción de los factores, sobre el crecimiento aéreo y radical de ***Fragaria chiloensis* (L.) Duch.** ***Trichoderma***, al crecer en asociación con ***Fragaria chiloensis* (L.) Duch.**, influyó significativamente en el crecimiento aéreo y radical, esta asociación fue favorecida cuando la planta fue sometida a condiciones de estrés salino.

***Trichoderma harzianum*; *Fragaria chiloensis* (L.) Duch; U de Talca; Contulmo; Bio Insumos Nativa.**

Abstract

Fragaria chiloensis is a native species of Chile that has the potential to become a commercial crop. To investigate the impact of the soil-borne fungus *Trichoderma*, trials were carried out in the greenhouse of the **Universidad de Talca** (Seventh Region) and in a commercial orchard in the County of **Contulmo** (VIIIth Region). One-year-old plants were used – *Fragaria chiloensis* L. (Duch) (Accession PUR), which were collected from the orchard used for field trials. *Trichoderma harzianum* were used at a concentration of 10^9 conidia/ml solution and were provided by **Bioinsumos Nativa** (San Javier, VIIth Region). In Talca, before planting, a root immersion was carried out in a solution of 1L/ha for fifteen seconds. At time of planting, two levels of *Trichoderma harzianum* were applied to crowns and roots of the plants: 0 and 1L/ha, besides root/crown immersion. During flowering, *Trichoderma harzianum* was again applied to the crowns. Thirty days after planting with the fungus, three levels of salt were added (NaCl) through the watering process: 0, 4 or 8 g. These salts represent a biotic stress which would reduce growth between 25% and 50%. Interaction of factors increased presence of roots (Root number/ 5 mm²) by 73, 47 and 54% in three periods (9/13-11/7; 11/14-12/17 and 13/9-0/03) in the 0 to 10 cm depth. The interaction Salt/*Trichoderma* increased leaf fresh weight (182%), petioles (113%), secondary root (108%) and total plant structures (127%). In dry weight, only leaves and petioles increased (114 and 120%, respectively). In dry matter, the factors only had a significant effect on petioles (7%). *Trichoderma harzianum* increased root presence in the 0-10 cm depth in four measuring periods (from September 13th until November 7th; from November 14th until December 17th; from December 27th until March 3rd and from 13th September until March 3rd); while for the 11 to 30cm depth it only increased root presence in one measuring period (12/27-3/3). *Trichoderma harzianum* increased fresh weight of leaves, crowns, primary and secondary roots and total. Only petioles decreased their fresh weight when the fungus was present. The fungus increased dry weight of leaves, petioles, primary and secondary roots and total. In dry matter leaves, petioles, primary and secondary roots were favored by the '*Trichoderma harzianum*' action. The salinity factor, with level S0, increased the presence of roots in the same three measuring periods, in the 0-10 cm depth. In fresh weight, only secondary root and total plant growth were increased; in dry weight, salinity had no effect in its levels S0 and S1. In dry matter, only petioles increased their proportion with S1 level. In **Contulmo**, no differences were obtained from the interaction of factors or acting separately. *Trichoderma harzianum*, when growing in association with *Fragaria chiloensis*, had a significant influence upon the aerial and radical growth of this plant. This association was favored when the plants were subjected to salinity stress.

***Fragaria chiloensis* L. (Duch); *Trichoderma harzianum*; Universidad de Talca; Contulmo; Bioinsumos Nativa.**

ÍNDICE

	Página
1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Antecedentes generales	3
2.2 Sistema radical de <i>Fragaria chiloensis</i>	4
2.3 Requerimientos ambientales de <i>Fragaria spp.</i>	5
2.4 Salinidad y crecimiento de <i>Fragaria spp.</i>	5
2.5 Interacción entre plantas y microorganismos	6
2.5.1 <i>Trichoderma</i>	6
2.5.2 Teorías sobre el mecanismo de acción de <i>Trichoderma</i>	7
2.6 Competencia biológica entre <i>Fragaria chiloensis</i> (L.) Duch. y agentes patógenos.	
3.- MATERIALES Y MÉTODOS	11
3.1 Ubicación de los ensayos	11
3.2 Diseño Experimental	12
3.2.1 Tratamientos en Talca y Contulmo	13
3.3 Aplicación de tratamientos	13
3.3.1 Aplicación de <i>Trichoderma</i> a la corona	13
3.3.2 Aplicación de <i>Trichoderma</i> a las raíces	13
3.3.3 Aplicación de Sal (NaCl)	13
3.4 Evaluaciones Fisiológicas	13
3.4.1 Talca	13
3.4.2 Contulmo	13
3.5 Metodología	14
3.5.1 Crecimiento radical	14
3.5.2 Peso fresco, peso seco en Talca y Contulmo	14
3.6 Análisis estadístico	14
4.- RESULTADOS	15
4.1 Ensayo Talca	15
4.2 Peso fresco	15
4.2.1 Láminas	17
4.2.2 Pecíolos	17
4.2.3 Raíz secundaria	17
4.2.4 Peso fresco total	17
4.3 Peso seco	18
4.3.1 Láminas	20
4.3.2 Pecíolos	20
4.4 Materia seca	21
4.4.1 Materia seca pecíolo	22
4.5 Crecimiento radical	23
4.5.1 Crecimiento radical en tres períodos de medición (13/09 a 07/11; 14/11 a 17/12 y 13/09 a 03/03) a 0-10 cm de profundidad	25
4.6 Ensayo Contulmo	26
4.6.1 Peso fresco	26
4.6.2 Peso seco	27
4.6.3 Proporción de materia seca por órgano	28
4.6.4 Reproducción vegetativa	29

5.- DISCUSIÓN	30
6.- CONCLUSIONES	35
7.- BIBLIOGRAFÍA	36

ÍNDICE DE CUADROS

Página

3.- Materiales y métodos

Cuadro 3.1 Tratamientos con *Trichoderma harzianum* y sal (NaCl) en U. De Talca y Contulmo 13

4.- Resultados

Cuadro 4.2 Efecto de dos niveles de aplicación de *Trichoderma* y tres niveles de sal (NaCl) sobre peso fresco por planta (g/pl), y las proporciones destinadas a lámina, pecíolo, corona, raíz I, raíz II y estolones en ***Fragaria chiloensis***. 15

Cuadro 4.3 Efecto de dos niveles de aplicación de *Trichoderma* y tres niveles de sal (NaCl) sobre peso seco por planta (g), y las proporciones destinadas a láminas, pecíolo, corona, raíz primaria, raíz secundaria y estolones en ***Fragaria chiloensis***. (órganos sometidos a 72 °C durante 72 hrs.) 18

Cuadro 4.4 Efecto de dos niveles de aplicación de *Trichoderma* y tres niveles de sal (NaCl) sobre materia seca por cada órgano (g): láminas, pecíolo, corona, raíz I, raíz II y estolones en ***Fragaria chiloensis***. 21

Cuadro 4.5 Efecto de dos niveles de aplicación de *Trichoderma* y tres niveles de sal (NaCl) sobre el crecimiento radical (Nº de raíces / celda de 5 mm²) de ***Fragaria chiloensis*** a distintas profundidades (0-10 y 11-30), en tres períodos de medición. 23

Cuadro 4.6 Efecto de la interacción de tres niveles de aplicación de *Trichoderma* y dos niveles de sal (NaCl) en ***Fragaria chiloensis*** sobre el peso fresco por planta (g), y las cantidades destinadas a hoja, corona, raíz y estolones. 26

Cuadro 4.7 Efecto de la interacción de tres niveles de aplicación de *Trichoderma* y dos niveles de sal (NaCl) en ***Fragaria chiloensis***, sobre el peso seco por planta (g/pl), y las proporciones destinadas a hojas, corona, raíz y estolones (Plantas sometidas a 72 °C durante 72 h). 27

Cuadro 4.8 Efecto de la interacción de tres niveles de aplicación de <i>Trichoderma</i> y dos niveles de sal (NaCl) en <i>Fragaria chiloensis</i> sobre la materia seca por planta (g/pl), y las proporciones destinadas a hoja, corona, raíz y estolones.	28
Cuadro 4.9 Efecto de la interacción de tres niveles de aplicación de <i>Trichoderma</i> y dos niveles de sal (NaCl) sobre descendencia en <i>Fragaria chiloensis</i> .	29

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 4.2 Interacción de dos niveles de <i>Trichoderma</i> (T0: 0 L/há y T1: 1 L/há) y tres niveles de sal (NaCl) (S0: 0 g, S1: 0,4 y S2: 0,8 g) sobre: peso fresco láminas (A), peso fresco pecíolos (B), peso fresco raíz secundaria (C) y peso fresco total (D) en <i>Fragaria chiloensis</i> .	16
Figura 4.3 Interacción de dos niveles de <i>Trichoderma</i> (T0: 0 L/há y T1: 1 L/há) y tres niveles de sal (NaCl) (S0: 0 g, S1: 0,4 y S2: 0,8 g) sobre peso seco lámina (A) y peso seco pecíolo (B) en <i>Fragaria chiloensis</i> .	19
Figura 4.4 Interacción de dos niveles de <i>Trichoderma</i> (T0: 0 L/há y T1: 1 L/há) y tres niveles de sal (NaCl) (S0: 0 g, S1: 0,4 y S2: 0,8 g) sobre materia seca de pecíolo en <i>Fragaria chiloensis</i>	22
Figura 4.5 Interacción de dos niveles de <i>Trichoderma</i> (T0: 0 L/há y T1: 1 L/há) y tres niveles de Sal (NaCl) (S0: 0 g, S1: 0,4 y S2: 0,8 g) sobre la presencia de raíces en <i>Fragaria chiloensis</i> a profundidad superficial (0-10 cm) y en los períodos 13/9 a 7/11 (A) y 14/11 a 17/12 (B), así como para la presencia de raíces en todo el período del ensayo 13/09 a 03/03 (C).	24

1. INTRODUCCIÓN

Las raíces de las plantas proveen de un hábitat sustentable para el desarrollo de microorganismos. Un número particularmente alto de organismos vivos son encontrados en las cercanías de éstas. Las interacciones entre microorganismos del suelo y raíces de plantas satisfacen requerimientos nutricionales, tanto para los microorganismos asociados como para las plantas (Starkey, 1958). La densidad de los microorganismos es alta en la rizosfera del suelo, la cual es definida como una delgada capa de suelo adherida al sistema radical después de remover el suelo suelto (Atlas, 1987). Una característica de la rizosfera es que en ella existen numerosos microorganismos en mayor densidad que en el suelo normal, tales como: bacterias, hongos benéficos, no benéficos y micro fauna. Los hongos benéficos no causan enfermedades a las plantas y contribuyen a su nutrición. Existen organismos, como es el caso de los hongos pertenecientes al género *Trichoderma*, que generan mutualismo con plantas, incrementando la resistencia de éstas al ataque de patógenos. *Trichoderma* es un hongo que se puede encontrar tanto fuera como dentro de la rizosfera (Beagle-Ristaino y Papavizas, 1985; Papavizas, 1981); es en esta última zona donde puede colonizar y proteger las raíces de las plantas (Lorito *et al.*, 1993). Además, se ha descubierto recientemente que *Trichoderma* posee la capacidad de potenciar el crecimiento en un amplio rango de plantas, incluyendo especies tales como: crisantemo (*Dendrathera grandiflora*), radichio (*Raphanus sativus*), tabaco (*Nicotiana sp.*), y tomate (*Lycopersicon esculentum*). Baker *et al.*, 1984; Chang *et al.*, 1986; Paulitz *et al.*, 1986; Baker 1988, han demostrado que la capacidad de incrementar el crecimiento (por parte de *Trichoderma spp.*) depende particularmente del cultivo. El cultivo de *Fragaria chiloensis* se desarrolla en forma artesanal; así, no existen prácticas culturales que permitan manejar de forma adecuada condiciones de estrés bióticas y abióticas que afectan su óptimo crecimiento. *Trichoderma harzianum* se podría establecer como una opción dentro del manejo productivo. De aquí el interés en determinar si *Fragaria chiloensis* es una especie con la cual *Trichoderma harzianum* pueda crear una relación mutualista, donde se vean beneficiados el crecimiento aéreo y radical de la planta y el crecimiento del hongo.

Una condición biótica, posible de manejar con aplicaciones de *Trichoderma*, es el ataque de patógenos que aumentan las pérdidas de plantas, teniendo su directa consecuencia en una merma en el rendimiento. Por otra parte *Fragaria spp.* es un grupo de especies de reconocida susceptibilidad a la salinidad, condición que reduce su óptimo crecimiento. Así la planta deberá destinar mayor energía en controlar el estrés antes que a potenciar todos los procesos fisiológicos tendientes a un mayor rendimiento.

De acuerdo a los antecedentes expuestos para la presente investigación, se plantea la siguiente hipótesis:

Trichoderma, al crecer asociado a las raíces de las plantas en una relación mutualista, podría determinar un mayor crecimiento aéreo y radical. Este estímulo podría ser aún mayor en *Fragaria chiloensis* sometida a estrés, respecto a plantas creciendo en condiciones óptimas.

De acuerdo a lo anterior se ha planteado como objetivo general:

Determinar si la asociación de *Trichoderma harzianum* con la raíz de *Fragaria chiloensis*, potencia el crecimiento aéreo y radical, y si esta interacción se ve favorecida ante condiciones de estrés.

Como objetivos específicos se tiene:

Cuantificar el crecimiento aéreo, radical y la distribución de materia seca en plantas de *Fragaria chiloensis* creciendo en cajas de vidrio, en el invernadero de la U. de Talca, como consecuencia de la presencia de *Trichoderma harzianum*, sometida a condiciones abióticas (salinidad) de estrés. (Ensayo invernadero, Talca, VII Región)

Cuantificar el crecimiento vegetativo en plantas de *Fragaria chiloensis* creciendo en terreno, sometidas a condiciones abióticas de estrés (salinidad) como consecuencia de la presencia de *Trichoderma harzianum*. (Ensayo en campo, Contulmo VIII Región)

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Antecedentes generales

Las frutillas modernas tienen un origen relativamente reciente (siglo XIX), pero las formas silvestres son nativas de casi todo el mundo, excepto África, Australia y Nueva Zelanda (Villagrán, 1994).

La Frutilla Chilena (*Fragaria chiloensis* (L.) Duch.) es una de las frutillas octoploides en el mundo. En América del Norte está distribuida en las playas, desde Alaska a Santa Bárbara, California (Reed, 1996). En América del Sur, *F. chiloensis* es abundante a lo largo de playas e islas en las costas de Chile, en la Cordillera de los Andes desde el sur de Concepción a Coyhaique, en la ladera oeste en Argentina y en las cumbres de la cordillera de Hawaii (Galletta y Bringhurst, 1990). Los nativos de Chile recolectaban y cultivaban tipos superiores de frutilla chilena a la llegada de los conquistadores españoles a mediados del siglo XVI (Lee, 1966). Los españoles apreciaron el tamaño y sabor de la frutilla de Chile y llevaron plantas a Perú en 1557. Algunas de las plantas cultivadas en Concepción fueron exportadas a Francia por el Teniente Coronel Amedée Francois Frezier en 1714 (Lee, 1966). Desde París, la frutilla Chilena fue distribuida a jardines botánicos y hortícolas en Holanda, Inglaterra, Bélgica y Alemania. En la mayoría de las localidades de Europa, excepto en Brest, las plantas presentaban un desarrollo vegetativo vigoroso pero no producción frutal (Galletta y Bringhurst, 1990). En ésta, y especialmente cercano a la comunidad de Plougastel, los granjeros podían vencer la esterilidad de las plantas chilenas interplantándolas con polinizadores de *F. moschata* o *F. Virginiana*.

La famosa frutilla de "Plougastel" de la Bretaña francesa se desarrolló de un cruzamiento de *Fragaria chiloensis* x *F. virginiana* mediante polinización natural alrededor de 1750; ello dió origen a una plántula híbrida, *Fragaria* x *ananassa*, conocida por todos hoy día como la frutilla comercial (Galletta y Bringhurst, 1990).

2.2 Sistema radical de *Fragaria spp.*

Las raíces que se desarrollan directamente desde la corona son llamadas raíces primarias o raíces estructurales. Las raíces primarias contienen un cilindro central o estela. Una raíz saludable presenta un cilindro central de color blanco a marfil; el cual se muestra decolorado cuando la raíz está enferma. El conducto de transporte o estela sirve para translocar los nutrientes en forma ascendente y los productos fotosintéticos en forma descendente, donde son almacenados en forma de almidón en las coronas y raíces. El almacenaje de almidón ocurre cuando la temperatura está bajo 7,2°C. Cuando las plantas reciben adecuadas condiciones de frío, la acumulación de almidón hace de soporte para el desarrollo vigoroso después del trasplante (Strand, 1994). Las raíces primarias normalmente viven por un año, pero pueden morir en un par de semanas debido a condiciones de estrés por enfermedades o al persistir condiciones adversas por mucho tiempo (Galletta y Bringhurst, 1990).

Desde las raíces primarias se desarrollan las raíces secundarias, o raíces blancas o absorbentes. Ellas absorben agua y nutrientes desde el suelo, transfiriendo estos componentes hacia las raíces primarias. Estas raíces viven por un período de días y son constantemente reemplazadas. La destrucción de las raíces absorbentes por enfermedades o por condiciones adversas reduce notoriamente la absorción de agua y nutrientes por parte de la planta (Strand, 1994).

El tamaño del sistema radical va a depender del medio ambiente donde se desarrollen, además del vigor natural que expresen sus genes. Varios estudios han demostrado que las raíces de *Fragaria spp.* pueden penetrar el suelo a una profundidad de 100 cm. Normalmente un 50% a 90% de las raíces se ubican en los 15 cm primeros de profundidad. La penetración de las raíces es mayor en suelos con mayor porosidad (Galletta y Bringhurst, 1990).

El sistema radical llega a estabilizarse a los 2 a 3 meses después del trasplante. Las raíces crecen cuando el suelo tiene una temperatura mayor a 7,2 °C; el crecimiento es mucho más rápido cuando el suelo tiene una temperatura de 13°C (Strand, 1994).

2.3 Requerimientos ambientales de *Fragaria spp.*

El clima elegido para la plantación debe ser benigno, con temperaturas que fluctúen entre 5 y 25°C. Este debe permitir que se cumpla el requerimiento de horas de frío (100 a 400 horas bajo 10°C para romper el receso invernal); también debe haber luminosidad suficiente para la maduración de los frutos, lo que afecta directamente el sabor de ellos. Se requiere de un régimen de lluvias y una humedad del aire moderada, ya que puede aumentar la incidencia de enfermedades criptogámicas por humedad excesiva (Lavín y Maureira, 2000).

El abastecimiento de agua es imprescindible y se debe disponer de ella en cantidad apropiada. *Fragaria chiloensis* ha demostrado ser la especie del género más tolerante a la sequía. Esto se debe a que posee una cutícula gruesa, estomas más hundidos, pequeños y en menor número por hoja; todo lo que implica una reducción de la transpiración foliar (Staudt, 1989).

Fragaria spp se adapta a suelos de diversas características, pero prospera en forma óptima en aquellos con textura franco arenosa o areno-arcillosa o aún en suelos arenosos, siempre y cuando disponga de la humedad suficiente. El equilibrio químico de los elementos nutritivos se considera más favorable que una concentración adecuada de los mismos. La granulometría óptima del suelo es 50% de arena silíceo, 20% de arcilla, 15% de calizas y 5% de materia orgánica. El pH óptimo es 6,5 a 7,5, aunque prospera bien en pH de 5,5 a 6,5 (Proexant, 2004). El suelo debe estar libre de malezas y es preferible que haya sido desinfectado (Lavín y Maureira, 2000).

2.4 Salinidad y Crecimiento de *Fragaria spp.*

Las inhibiciones del crecimiento radical por salinidad reducen el volumen de suelo que puede ser explorado y la capacidad de captar agua y minerales por parte de las raíces. La disminución de elementos nutricionales contribuye a la reducción de crecimiento de brotes (Delane *et al.*, 1982; Pitman, 1984; Bernstein *et al.*, 1993). La solución salina impone dos tipos de estrés al crecimiento de la planta: 1) estrés osmótico, resultando un menor potencial hídrico en el medio de crecimiento de las raíces; 2) estrés iónico, induce cambios en las concentraciones de iones específicos en el medio de crecimiento de las raíces (Delane *et al.*, 1982).

Usualmente la salinidad es medida en unidades de conductividad eléctrica (Rhoades, 1976). La conductividad eléctrica en soluciones se define como la capacidad que tiene esta para conducir la corriente eléctrica. Una solución puede conducir la corriente eléctrica cuando contiene partículas cargadas o iones (Bruna *et al.*, 2002).

La conductividad eléctrica expresa la salinidad del suelo, la que en el caso de la frutilla debe ser inferior a 1,5 mmhos o 1,5 dS/m. Este aspecto es de gran importancia para el crecimiento de la planta, ya que es muy sensible a sales (especialmente Na y Cl) (Lavín y Maureira, 2000). Estudios demuestran que si la planta de frutilla comercial se somete a una conductividad de 1,7 dS/m o de 1,2 dS/m el rendimiento disminuye en un 50 y 25% respectivamente (Irrigation Water Quality Standards, 1998).

La conductividad eléctrica del suelo en la zona radical de una planta es muy variable pues depende de la cantidad y calidad del agua de riego y de la evapotranspiración del cultivo. Por lo tanto, si la cantidad de agua aportada es constante, las plantas más desarrolladas transpiran en mayor cantidad, provocando una concentración mayor de sales en la zona radical (Ferreyra *et al.*, 1998).

La planta funciona con normalidad si la presión hídrica del suelo es intermedia al no haber una elevada concentración de sales. Sin embargo, si la concentración de sales en el suelo es muy alta, ello disminuye la presión hídrica del mismo, tendiendo a ser menor que la presión total dentro de la raíz. En este caso la planta se marchita pues no consigue entrar agua y las raíces sufren desecaciones y quemaduras por toxicidad de los elementos que se encuentran en el suelo (Gurí, 2002).

2.5 Interacción entre plantas y microorganismos del suelo

Las interacciones entre las plantas y los organismos del suelo, han sido reconocidas por su importancia en la nutrición mineral (Bever, 1994). Cerca del 90% de las taxas de plantas vasculares poseen relaciones simbióticas con microorganismos (Mousain, 1997). Entre los microorganismos más comúnmente asociados a la nutrición de las plantas podemos mencionar a: *Rhizobium*, micorrizas y Cianobacterias.

El que un organismo pueda crecer en la rizósfera, no implica que provea control biológico o promueva el crecimiento de la planta. Además un controlador biológico probado puede no ser siempre capaz de colonizar la rizósfera o proveer estimulación del crecimiento (Whipps, 2001).

2.5.1 *Trichoderma*

Respecto a las interacciones mutualistas entre plantas y hongos, el ejemplo más conocido es el de las micorrizas, el cual tiene su mayor efecto sobre la nutrición de las plantas. Sin embargo, existen otros organismos que también generan mutualismo con plantas, incrementando la resistencia de estas al ataque de patógenos, como es el caso de los hongos del género *Trichoderma* (Mousain, 1997).

Trichoderma es un hongo perteneciente a los Deuteromycetes, familia Moniliales. Es cosmopolita, pues está presente en casi todos los suelos y hábitat (Harman *et al.*, 2003). Posee capacidad saprofitica y rápido crecimiento, pudiendo colonizar las raíces de las plantas (Harman *et al.*, 2003).

2.5.2 Teorías sobre el mecanismo de acción de *Trichoderma*: La estimulación del crecimiento de raíces por efecto de la presencia de *Trichoderma*, fue reportada por Bjorkman *et al.*, (1995). En experimentos de invernadero en plantas de maíz, el peso de raíces a los 21 días después de plantación e inoculación era un 50% mayor que las plantas testigo, mientras que la exploración del suelo fue 40% mayor. La colonización de las raíces por *Trichoderma* se relacionó con la edad de éstas, siendo mayor en sus partes más viejas, si bien lograba colonizar incluso el ápice radical con poblaciones dos ordenes menor al de las raíces viejas.

El mecanismo de acción no ha sido identificado, pero el hongo es capaz de acidificar la rizosfera en aproximadamente 0,1 unidades de pH, lo que podría aumentar el crecimiento debido a una mejor absorción de iones (Bjorkman *et al.*, 1995). Otra opción para la estimulación del crecimiento, es la que se basa en la nutrición. Aparentemente *Trichoderma* secuestra P soluble en el micelio. Además es capaz de crecer a lo largo de las raíces durante su elongación, colonizando así todo el sistema radical (Sivan y Harman, 1991). Así, a medida que el micelio se va degradando por la edad, el P queda disponible en forma inmediata para las plantas. Los patógenos *Pythium* y *Rhizoctonia* son incapaces de solubilizar fosfato, lo que le da *Trichoderma* una alta eficiencia competitiva en la supresión de enfermedades en las plantas (Altomare, 1999).

Windham *et al.*, (1986) y Björkman *et al.*, (1998) señalan que el mecanismo de *Trichoderma*, para aumentar el crecimiento de la planta, se basa en la aceleración de la elongación celular en el ápice de las raíces. Este incremento según Blanchard y Björkman, (1996), sería independiente de la tasa de producción de auxinas.

El efecto de *Trichoderma* podría deberse a cambios metabólicos en la planta; así, varios estudios muestran que la colonización de raíces con *Trichoderma* aumenta los niveles de enzimas vegetales, incluyendo peroxidasas, quitinasas, β -1,3 glucanasas, lipoxigenasas e hidroxigenasas (Howell *et al.*, 2000; Yedidia *et al.*, 1999). Las peroxidasas son enzimas que en su estructura contienen hierro. Localizada en la pared de la célula vegetal, su función se relaciona con la producción de moléculas de agua a partir de O_2 y NADH. Las quitinasas, β -1,3 glucanasas, lipoxigenasas e hidroxigenasas, son sintetizadas por la planta cuando ésta es atacada por hongos para degradar las paredes de los agentes invasores (Salisbury, 1994). En pepino, la adición de *Trichoderma* T-203, incrementó la producción de fenilalanina amonio liasa, tanto en raíces como en brotes, pero luego de dos días esta volvió a su nivel basal en ambos órganos (Yedidia *et al.*, 1999). Esta enzima se encarga de catalizar la conversión del aminoácido esencial fenilalanina en proteína (Salisbury, 1994).

La colonización de raíces con *Trichoderma* T-203 induce cambios significativos en el metabolismo. Plantas de maíz (*Zea mays spp.*) de cinco días de crecimiento, fueron tratadas con y sin *Trichoderma* T-22. Las plantas fueron fraccionadas con gel en una electroforesis de dos dimensiones. Aproximadamente un 40% de las proteínas que fueron visibles en presencia de *Trichoderma* T-22 no fueron visibles en el gel que contenía las proteínas de las plantas no tratadas con *Trichoderma* (Harman *et al.*, 2004) esto indicaría que este hongo modifica fuertemente el metabolismo de las plantas, lo cual en muchos casos puede ser beneficioso.

La estimulación del crecimiento sería un proceso común en *Trichoderma*, ya que se ha reportado dicho efecto en varias especies, entre ellas: *T. harzianum* (Chang *et al.*, 1986; Invar *et al.*, 1994), *T. virens* (Ousley *et al.*, 1993, 1994), y *T. koningii* (Windham *et al.*, 1986).

El mayor crecimiento de las raíces de las plantas, como consecuencia de la presencia de *Trichoderma*, es un proceso complejo, que requiere el intercambio de señales entre los dos organismos, ya que las plantas sólo son beneficiadas cuando presentan algún tipo de estrés, lo que podría hacerlas susceptibles a la estimulación por *Trichoderma* o bien estimular a este hongo a actuar sobre el metabolismo de la planta (Ruiz-Lozano, 1996). Frente a esto, la teoría de una estimulación del crecimiento por solubilización de nutrientes, sólo podría explicar el mayor crecimiento de raíces cuando las plantas se vean frente a un estrés nutricional, pero no cuando enfrenten a un estrés por falta o exceso de agua o el ataque de algún patógeno.

2.6 Competencia biológica entre *Fragaria spp.* y agentes patógenos

Una de las causas más comunes de la falta de crecimiento y la reducción de los retornos económicos de un cultivo, es la competencia de otras plantas, animales o microorganismos por el agua, aire y nutrientes (Galletta y Bringham, 1990). Esta interacción se presenta como una enfermedad o alteración en la planta que se debe a la relación entre el huésped (frutilla), el agente biótico (hongos, virus, bacterias, nemátodos, insectos, ácaros, etc.) y las condiciones ambientales que favorecen la merma en crecimiento, como: suelos salinos, deficiencias nutricionales, exceso de humedad, sequía (Villagrán, 1994).

En Chile, las principales enfermedades fungosas que afectan al cultivo de la frutilla, a nivel de las raíces, son: la pudrición roja de la raíz causada por el patógeno *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* y la pudrición de la raíz y corona ocasionadas por los patógenos *Rhizoctonia* spp. y *Fusarium oxysporum* fsp. *fragariae* (Montealegre, 2003). En el caso de *Rhizoctonia* spp., el ataque se produce principalmente en suelos fríos y húmedos (Agrios, 1991), siendo el principal síntoma la marchitez de las plantas. Otros síntomas son: raíces necróticas, pérdida de vigor y muerte de plantas (Montealegre, 2003).

Actualmente, las medidas para controlar pudrición de raíces son: usar plantas sanas en suelos libres de la enfermedad, uso de suelos con buen drenaje y aireación, desinfección del suelo a través de solarización y uso de fungicidas en la preplantación (Montealegre, 2003). Sin embargo, en años recientes se han hecho grandes esfuerzos por encontrar métodos alternativos de control que sean más eficientes y que causen un menor daño al entorno natural. Así, una de las opciones es el control biológico, el cual es definido como la reducción de la densidad del inóculo o de las actividades de un patógeno que produce una enfermedad, por uno o más organismos, en forma natural o a través de la manipulación del medio ambiente, hospedero o antagonista, o por la introducción de una población de uno o más antagonistas. El control biológico de patógenos del suelo, a través de la adición de microorganismos antagonistas, es un medio no químico (no contaminante) potencial para el control de enfermedades de plantas (Elad *et al.*, 1980).

Rhizoctonia es parasitado por varios microorganismos entre los que se encuentran, hongos de los géneros *Trichoderma*, *Gliocladium* y *Laetisaria* (Agrios, 1991). *Trichoderma* ha sido estudiado por más de 70 años por sus propiedades como controlador biológico de múltiples patógenos de plantas (Cook, 1989; Campbell, 1989; Boland, 1998). Es un hongo con alta capacidad para tolerar un amplio rango de temperaturas. McBeath y Adelman (1991) aislaron una cepa en los suelos de Alaska; a pesar de ser un aislamiento de clima frío, registraron crecimiento aún en los 4°C y el hongo toleró una temperatura máxima de 33°C.

Sin embargo, el hecho que el microorganismo logre crecer a una temperatura diferente a la del sitio donde fue aislado, no es garantía que exprese su antagonismo hacia un patógeno determinado. Acevedo y Arcia (1988) demostraron que los aislamientos en zonas frías no son eficientes biocontroladores en zonas cálidas y viceversa. Asimismo, trabajos realizados por Rodríguez y Arcia (1993), señalan que no necesariamente las temperaturas óptimas para el crecimiento (25-30°C), son las temperaturas óptimas para expresar el antagonismo, ya que esas mismas cepas de *Trichoderma* mostraron habilidad antagónica prácticamente nula a 30°C.

Los mecanismos de biocontrol referidos para *Trichoderma* son: Micoparasitismo, competencia por los nutrientes en el exudado de las semillas y/o antibiosis. Bautista y Acevedo, (1993) y Harman *et al.*, (1981), sugieren que el micoparasitismo es el principal mecanismo de acción de este hongo. En este caso, el agente biocontrolador envuelve al patógeno y penetra sus células causándole gran daño (Boosalis y Mankau, 1965; Elad *et al.*, 1983). Entre otros, causaría los siguientes efectos: alteración de la pared celular, incluyendo la degradación de ésta; retracción de la membrana plasmática de la pared; desorganización del citoplasma (Boosalis y Mankau, 1965). También actúa sobre la replicación celular al inhibir la germinación de esporas y la elongación del tubo germinativo (Lorito *et al.*, 1993). En todo caso, según lo demuestran estudios realizados por McAllister *et al.*, (1994), cada relación patógeno-*Trichoderma* muestra uno o varios mecanismos de acción específicos.

Por último, no se han establecido los beneficios que recibe *Trichoderma* por estar asociado a las raíces de las plantas; pero las necesidades del microorganismo en el suelo, como son una buena aireación, humedad, pH (Cook, 1989), carbono orgánico (Eastburn, 1988) son generadas por la presencia de raíces (Cook, 1989). Por otra parte, se ha visto que en bosques, *Trichoderma* presenta dos máximos de crecimiento poblacional, otoño e inicios de primavera (Jah, 1992), los que coinciden con los máximas tasas de crecimiento de raíces.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación de los ensayos

Se plantearon dos ensayos, el primero se ubicó en Talca, Séptima Región y el segundo en Contulmo, Octava Región.

En **Talca** (35° 26' S), el experimento se inició el 19 de Agosto del 2003, en cajas de vidrio de 30*40*2 cm, con un suelo procedente de Contulmo, el que fue autoclavado (marca Orthamn; modelo Orsa) en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad de Talca, durante 30 minutos a una temperatura de 121 °C y a una presión de dos atmósferas; una vez enfriado, se utilizó para mezclarlo con arena a la razón 2:1. Las cajas de vidrio fueron cubiertas con papel aluminio y se colocaron sobre mesones en un ángulo de 45°, en el invernadero de la U. de Talca con cubierta de polietileno.

En **Contulmo** (Latitud 38° 04' S), el experimento se realizó en el huerto comercial de Don Erasmo Quintana, el 14 de Agosto del 2003. Las plantas fueron establecidas sobre el mismo suelo que se utilizó en Talca, asegurándose de haber tenido papas (*Solanum tuberosum*) como cultivo anterior. El suelo pertenece a los ultisoles, con avanzado estado de desarrollo. Posee una capacidad de uso de I a III, que lo definen como arable, sin limitaciones, de textura franco arcillosa (Conama, 2004). Tiene un pH de 5,27, clasificado como moderadamente ácido, con un porcentaje de materia orgánica de 10,67 y una conductividad eléctrica de 0,049 dS/m (Laboratorio Suelos, 2003).

Trichoderma harzianum

Las cepas de *Trichoderma harzianum* fueron proveídas por **Bio Insumos Nativa S.A.** (Talca). Se utilizó una formulación líquida con una concentración de 10⁹ conidias/ml, el que fue elaborado en el laboratorio de Fitopatología de la U. de Talca. Los volúmenes utilizados para los ensayos fueron: para Talca de 0 L/ha y 1L/ha y para Contulmo 0 L/ha; 1L/ha y 2L/ha.

***Fragaria chiloensis* (L.) Duch**

En Talca se utilizaron 24 plantas de frutilla (*Fragaria chiloensis*), accesión PUR, de un año de edad, las que fueron elegidas según vigor aéreo y radical. En Contulmo se utilizaron 72 plantas de frutilla (*Fragaria chiloensis*) de un año de edad, las que fueron elegidas según vigor aéreo y radical. Se utilizó una densidad de plantación de 60.000 plantas por hectárea.

Salinidad

En el laboratorio de suelos de la Universidad de Talca se realizó la medición de la conductividad eléctrica. A un volumen conocido (1 L de agua de Talca y Contulmo) se midió la conductividad inicial con el conductivímetro (Marca Jenway; Modelo 4310) al que se le fue adicionando 0,5 g de sal (NaCl), mezclando y luego midiendo la conductividad eléctrica, para así determinar la concentración de sal (NaCl) a utilizar que teóricamente disminuiría el crecimiento en un 25% y 50% en *Fragaria x ananassa* (Irrigation Water Quality Standards, 1998). Las dosis de sal que se utilizó en Talca fueron de 0,4 g y 0,8 g de sal (NaCl) por litro de agua (25 y 50% de reducción del crecimiento). En Contulmo la dosis fue de 0 g y 0,9 g de sal por litro de agua, para reducir el crecimiento en un 50%.

Riego

El riego fue establecido según las necesidades hídricas de las plantas. Así, en Talca se regó con un volumen de 100ml/planta por día. El volumen de agua fue corregido en cada período de crecimiento del sistema radical. Cuando las raíces sobrepasaron los 20 cm de profundidad el volumen de agua fue modificado a 200 ml/planta por día. En Contulmo se regó en forma constante con un volumen de 100ml/planta por semana.

3.2 Diseño Experimental:

Los ensayos fueron conducidos en un diseño de Bloques Completamente al Azar (DBA). Los bloques fueron establecidos según crecimiento aéreo y radical de *Fragaria chiloensis* al inicio del experimento. En Talca, los tratamientos fueron asignados con arreglo factorial de 2*3 (dos niveles de *Trichoderma* y con tres niveles de sal), con cuatro repeticiones y una unidad experimental de una planta. En Contulmo, los tratamientos fueron asignados con arreglo factorial de 3*2 (tres niveles de *Trichoderma* y con dos niveles de sal), con seis repeticiones y una unidad experimental de dos plantas.

3.2.1 Tratamientos en Talca y en Contulmo:

Cuadro 3.1: Los tratamientos evaluados tanto en Talca como en Contulmo se resumen en el cuadro 3.1

Tratamientos U. Talca	Dosis U. Talca	Tratamientos Contulmo	Dosis Contulmo
T0S0	0 L/ha con 0g	T0S0	0 L/ha con 0 g
T0S1	0 L/ha con 0,4 g	T1S0	1 L/ha con 0 g
T0S2	0 L/ha con 0,8 g	T2S0	2 L/ha con 0 g
T1S0	1L/ha con 0 g	T0S1	0 L/ha con 0,9 g
T1S1	1 L/ha con 0,4 g	T1S1	1 L/ha con 0,9 g
T1S2	1 L/ha con 0,8 g	T2S1	2 L/ha con 0,9 g

T: *Trichoderma harzianum*

S: Sal (NaCl)

3.3 Aplicación de Tratamientos:

3.3.1 Aplicación de *Trichoderma* a la corona: Se realizó una aplicación al momento de la plantación y otra a la floración en los tratamientos T1 y T2, tanto en Talca como en Contulmo. En ambos ensayos se utilizó una jeringa de 100 ml para aplicar la solución a la corona de *Fragaria chiloensis*.

3.3.2 Aplicación de *Trichoderma* a las raíces: En Contulmo y Talca, se realizó a la plantación una inmersión de las raíces en una solución de *Trichoderma* de 0,2 ml en un volumen de agua de 1,2 L, durante 15 segundos.

3.3.3 Aplicación de Sal: Junto con el agua de riego se aplicó la dosis de sal a los tratamientos S1 y S2, en Talca diariamente y en Contulmo una vez por semana. La dosis se comenzó a aplicar luego de 1 mes del establecimiento de las plantas.

3.4 Evaluaciones Fisiológicas:

3.4.1 Talca

Se evaluó semanalmente crecimiento radical en longitud (cm). Al final del ensayo, se midió peso fresco (g) y peso seco (g) de raíces, follaje (láminas y pecíolo), corona y estolones.

3.4.2 Contulmo

Se evaluó peso fresco (g) y seco (g) de raíces, corona, estolones y follaje (láminas y pecíolo).

3.5 Metodología

3.5.1 Crecimiento radical en Talca

Las mediciones se iniciaron el 13 de Septiembre del 2003 y finalizaron el 3 de marzo del 2004. Se utilizaron acetatos transparentes de 20 * 30 cm, los que se sobreponían al vidrio que estaba más cerca del piso del invernadero y con un plumón instantáneo se dibujó el crecimiento semanal de las raíces. Obtenidas todas las mediciones, se utilizó papel milimetrado para cuantificarlo durante el ensayo. Se utilizaron celdas de 5 mm por lado para determinar la presencia de raíces.

3.5.2 Peso fresco y seco en Talca y Contulmo

En Contulmo las plantas fueron cosechadas el 19 de abril del 2004. Mientras en Talca fueron cosechadas el 3 de marzo del 2004. Finalizados los ensayos, las plantas fueron llevadas al laboratorio de Hortalizas de la U. de Talca, para ser lavadas con agua potable y separadas según la estructura vegetal a medir: pecíolo, lámina, corona, estolones, raíz primaria y raíz secundaria. Se separaron raíces primarias de raíces secundarias, teniendo el cuidado de diferenciarlas según color, las primarias o estructurales de color café oscuro y las secundarias o absorbentes de color blanco o crema. En el caso de Contulmo, se midió el número de descendencias por planta, contando las plantas hijas, nietas etc. que poseía cada estolón. Cada estructura fue colocada en bolsa de papel y guardada a 4 °C, siendo marcadas debidamente según el tratamiento. Dentro de 24 horas de colectadas las muestras se midió el peso fresco con una balanza (Marca Everyweigher; Modelo RS-232-C) y luego se sometieron a secado en una estufa (72° C por 72 horas) (Marca WTB Binder; Modelo 78532). Al final de dicho período nuevamente fueron pesadas en la balanza para cuantificar el peso seco de cada estructura vegetal.

3.6 Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a análisis de varianza para establecer diferencias entre los tratamientos. En los casos que se detectó significancia, se procedió a la separación de medias a través de la prueba de Duncan ($p < 0,5$). Para los datos de materia seca (%), se recurrió a la transformación $\text{Arcsen}\sqrt{\%}$, previo al Análisis, para cumplir con los supuestos del análisis de varianza.

4. RESULTADOS

4.1 Ensayo Talca

4.2 Peso fresco

La interacción de *Trichoderma* y sal aumentó de manera altamente significativa el peso de lámina, pecíolo y total, teniendo un efecto significativo en el peso fresco de raíz secundaria (Cuadro 4.2; Figura 4.2).

El factor *Trichoderma* logró aumentar de manera significativa el peso fresco y el total de todas las estructuras vegetales a excepción de los pecíolos, los que disminuyeron su peso en presencia de *Trichoderma*; en el caso de estolones, no hubo efecto significativo debido a que solo dos plantas desarrollaron esta estructura vegetal. El factor sal (NaCl) sólo generó diferencias significativas en el peso fresco de la raíz secundaria y el total de todas las estructuras vegetales, el que obtuvo un mayor peso fresco ante la ausencia de aplicación de sal (Cuadro 4.2).

Cuadro 4.2: Efecto de dos niveles de aplicación de *Trichoderma* y tres niveles de sal (NaCl) sobre peso fresco por planta (g/pl), y las proporciones destinadas a lámina, pecíolo, corona, raíz I, raíz II y estolones en *Fragaria chiloensis*.

Factores	Peso fresco / órgano vegetal (g) ^z						Total
	Lámina	Pecíolo	Corona ^y	Raíz I ^x	Raíz II ^x	Estolón	
Trichoderma							
T0	2,4b	2,8 a	1,2b	1,5 b	1,5b	0,1	9,5b
T1	3,9a	1,7 b	1,7a	1,7 a	2,4a	0,3	11,7a
Significancia	**	**	**	**	**	n.s	**
Sal							
S0	3,4	2,4	1,2	1,6	2,4a	0,6	11,6a
S1	2,8	2,1	1,9	1,3	1,5c	0	9,6b
S2	3,3	2,4	1,4	1,5	1,8b	0	10,4ab
Significancia	n.s	n.s	n.s.	n.s	**	n.s	**
Interacción	**	**	n.s	n.s	*	n.s	**

^z Promedios seguidos por letras distintas en una columna, difieren estadísticamente según la prueba Duncan con nivel de confianza de: * = menor a 0,05, ** = menor a 0,01 o ns = no significativo.

^y Coeficiente de Variación: 32%.

^x Raíz I: corresponde al sistema radical primario (estructurales y de color café oscuro) en *Fragaria chiloensis*; Raíz II: corresponde al sistema radical secundario (absorbentes y blancas) en *Fragaria chiloensis*.

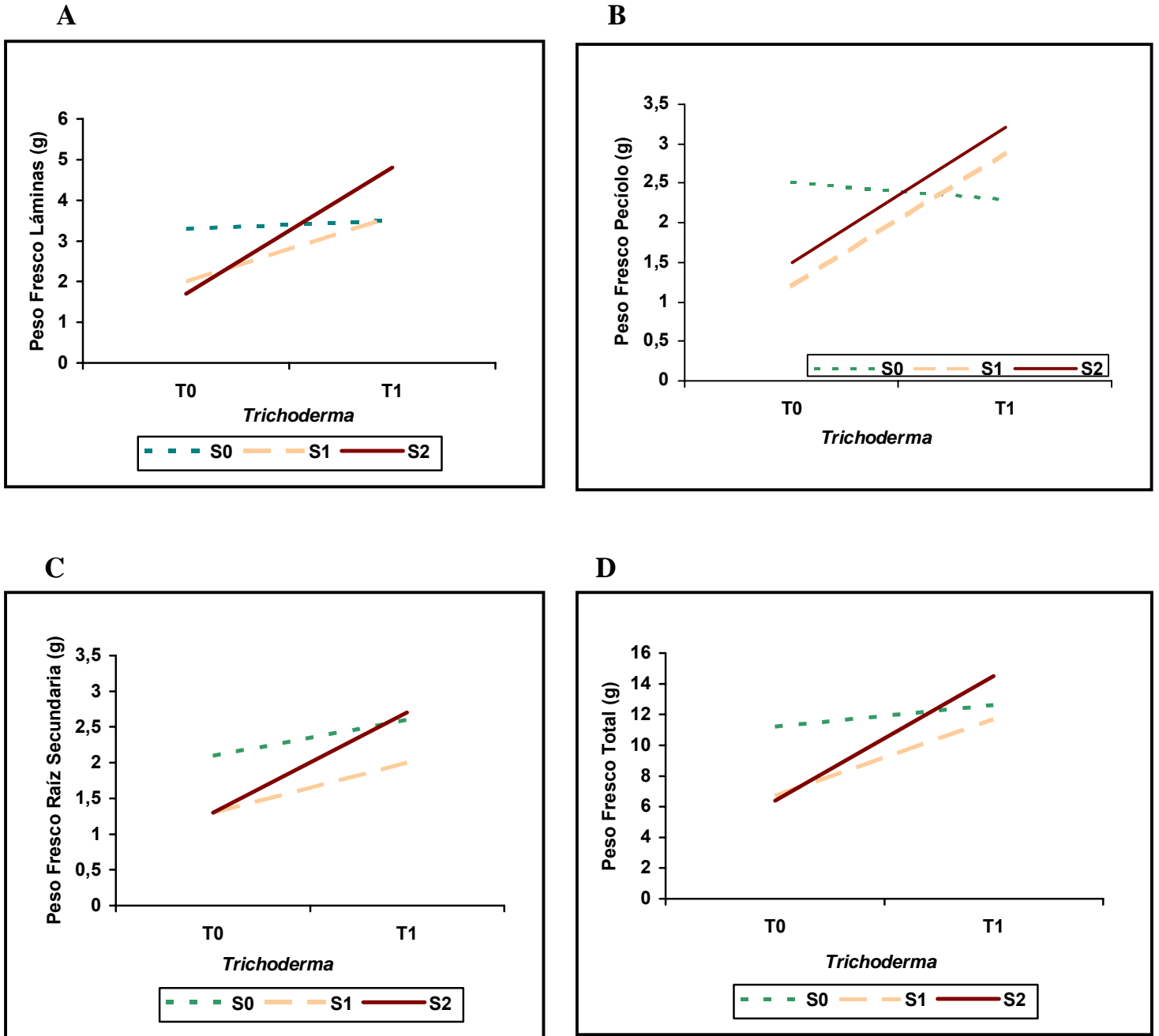


Figura 4.2: Interacción de dos niveles de *Trichoderma* (T0: 0 L/há y T1: 1 L/há) y tres niveles de sal (NaCl) (S0: 0 g, S1: 0,4 y S2: 0,8 g) sobre: peso fresco láminas (A), peso fresco pecíolos (B), peso fresco raíz secundaria (C) y peso fresco total (D) en *Fragaria chiloensis*.

4.2.1 Láminas

Trichoderma (T0 y T1) no generó diferencias en peso fresco en el nivel S0. Los niveles S1 y S2 aumentaron el peso fresco en presencia de *Trichoderma* (T1), siendo S2 el nivel que logró mayor peso fresco con 182% de mayor crecimiento en láminas de *Fragaria chiloensis* en comparación al nivel S2 pero sin aplicación de *Trichoderma* (Figura 4.2, A).

4.2.2 Pecíolos

La adición de *Trichoderma* no presentó diferencias en el nivel S0, generando incluso un efecto levemente negativo (8%) sobre el crecimiento de pecíolos. Los niveles S1 y S2, en presencia de *Trichoderma*, aumentaron el peso fresco de pecíolos en *Fragaria chiloensis* (142% y 113%), siendo S1 el nivel que logró mayor crecimiento de estos órganos (Figura 4.2, B).

4.2.3 Raíz secundaria

Tanto S0, S1 como S2 experimentaron un mayor crecimiento de raíces secundarias, en presencia de *Trichoderma* (24%; 54% y 108%). En el nivel S2, la presencia de *Trichoderma* generó un mayor efecto sobre el crecimiento de las raíces secundarias (Figura 4.2, C).

4.2.4 Peso fresco total

Se observa un efecto creciente, en el peso fresco total, de los niveles de S0, S1 y S2 en presencia de *Trichoderma* (13%; 75% y 127%). El nivel S2 fue el que generó un mayor efecto en el crecimiento general en *Fragaria chiloensis* en presencia del hongo *Trichoderma* (Figura 4.2, D).

4.3 Peso seco

La interacción de ambos factores solo fue significativa para láminas y pecíolos (Cuadro 4.3; Figura 4.3). Similar a lo obtenido en peso fresco, el factor *Trichoderma* tuvo efecto significativo sobre el peso seco de las láminas, pecíolo, raíz primaria, secundaria y total. *Trichoderma* no tuvo incidencia sobre el peso seco de la corona y mantuvo su falta de significancia sobre el peso seco de los estolones. El factor salinidad no presentó diferencias significativas sobre el peso seco de las distintas estructuras vegetales en *Fragaria chiloensis* (Cuadro 4.3).

Cuadro 4.3: Efecto de dos niveles de aplicación de *Trichoderma* y tres niveles de sal (NaCl) sobre peso seco por planta (g), y las proporciones destinadas a láminas, pecíolo, corona, raíz primaria, raíz secundaria y estolones en *Fragaria chiloensis* (órganos sometidos a 72 °C durante 72 hrs.).

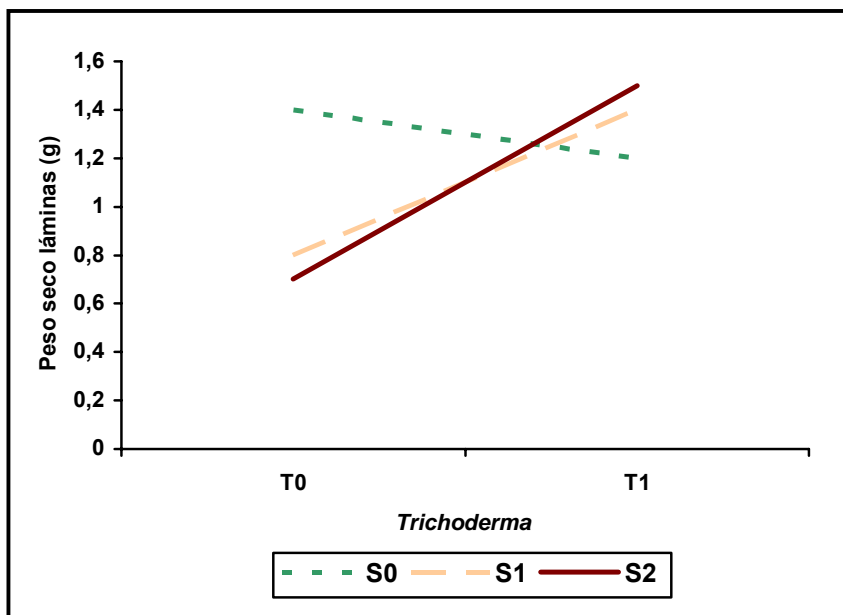
Factores	Peso seco / órgano vegetal (g) ^z						Total
	Lámina	Pecíolo	Corona ^y	Raíz I ^x	Raíz II ^x	Estolón	
Trichoderma							
T0	0,9b	0,7b	0,5	1,6a	0,8a	1,1	5,6b
T1	1,4a	0,9a	0,6	1,7b	1,1b	0,2	5,9a
Significancia	*	*	n.s	*	*	n.s	**
Sal							
S0	1,3	0,9	0,6	1,6	0,9	0,2	5,5
S1	1,1	0,8	0,5	1,3	0,8	0,2	4,7
S2	1,1	0,8	0,6	1,5	0,9	-	4,9
Significancia	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s.	n.s	n.s
Interacción	*	**	n.s.	n.s	n.s	n.s	n.s

^z Promedios seguidos por letras distintas en una columna, difieren estadísticamente según la prueba Duncan con nivel de confianza de: * = menor a 0,05, ** = menor a 0,01 o ns = no significativo.

^y Coeficiente de Variación: 32%.

^x Raíz I: corresponde al sistema radical primario (estructurales y de color café oscuro) en *Fragaria chiloensis*; Raíz II: corresponde al sistema radical secundario (absorbentes y blancas) en *Fragaria chiloensis*.

A



B

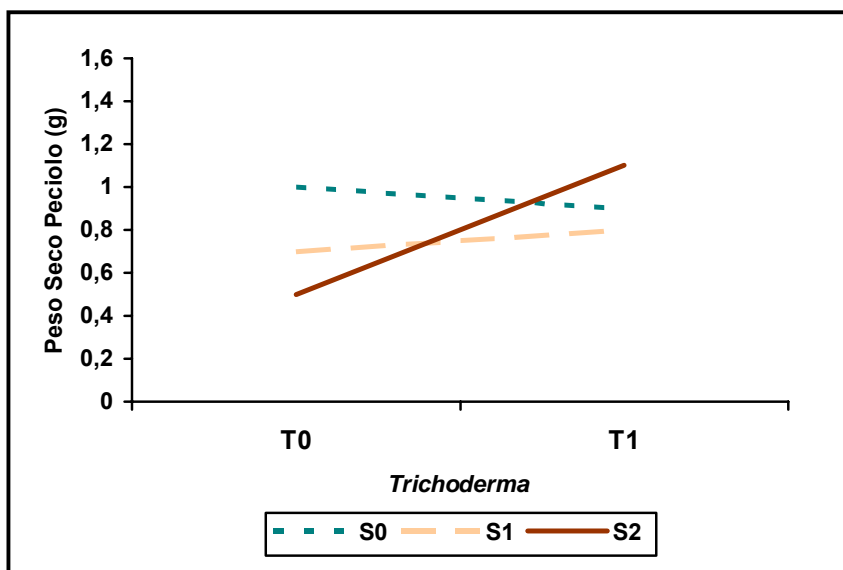


Figura 4.3: Interacción de dos niveles de *Trichoderma* (T0: 0 L/há y T1: 1 L/há) y tres niveles de sal (NaCl) (S0: 0 g, S1: 0,4 y S2: 0,8 g) sobre peso seco lámina (A) y peso seco pecíolo (B) en *Fragaria chiloensis*.

4.3.1 Láminas

En presencia de *Trichoderma* (T1), el nivel S1 aumentó el crecimiento en 75% y el nivel S2 logró aumentarlo en 114%. En cambio S0, en presencia del hongo reduce el crecimiento de láminas en *Fragaria chiloensis* en un 14% (Figura 4.3, A).

4.3.2 Pecíolos

El nivel S0, no experimentó cambios en el crecimiento de pecíolos en presencia de *Trichoderma* (T1). S1 generó un leve incremento (14%) en peso fresco con la incorporación de *Trichoderma*. El nivel más alto de sal (S2), se diferencia del resto de los niveles, pues en presencia del hongo presentó 120% de aumento en esta estructura vegetal (Figura 4.3, B).

4.4 Proporción de materia seca

La interacción *Trichoderma* y salinidad muestra significancia solo para pecíolo (Cuadro 4.4; Figura 4.4). Tanto para el factor *Trichoderma* como para salinidad, sólo hubo diferencias significativas en materia seca del pecíolo. Así, se observa mayor materia seca sin aplicación de *Trichoderma*; por otra parte, el menor crecimiento del pecíolo se logró con el más alto nivel de sal (S2) (Cuadro 4.4).

Cuadro 4.4: Efecto de dos niveles de aplicación de *Trichoderma* y tres niveles de sal (NaCl) sobre materia seca por cada órgano (g): láminas, pecíolo, corona, raíz I, raíz II y estolones en *Fragaria chiloensis*.

Proporción de materia seca (%) por órgano vegetal ^z						
Factores	Lámina	Pecíolo ^y	Corona	Raíz I ^x	Raíz II ^x	Estolón
Trichoderma						
T0	26,9	20,1	14,1	14,9	21,3	2,7
T1	27,1	20,4	14,1	15,1	21,6	1,8
Significancia	*	*	n.s	*	*	n.s
Sal						
S0	26,6	19,5	12,7	15,3	21,7	4,1
S1	26,8	19,3	13,1	13,3	21,1	5,1
S2	26,5	19,5	14,7	15,2	23,2	0,8
Significancia	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
Interacción	n.s	*	n.s	n.s	n.s	n.s

^z Análisis en base a datos transformados mediante la función $\arcsen \sqrt{(\%)}$.

^y Promedios seguidos por letras distintas en una columna, difieren estadísticamente según la prueba de Duncan con nivel de confianza de: ** = o menor que 0,01 o n.s = no significativo.

^x Raíz I: corresponde al sistema radical primario (estructurales y de color café oscuro) en *Fragaria chiloensis*; Raíz II: corresponde al sistema radical secundario (absorbentes y blancas) en *Fragaria chiloensis*.

4.4.1 Materia seca pecíolo:

Los niveles S0 y S2, en presencia de *Trichoderma*, no modificaron significativamente la materia seca del pecíolo, mostrando S0 una leve disminución (4%) y S2 un leve crecimiento (7%). En presencia del hongo, el nivel intermedio de sal (S1) reduce en un 35% la materia seca asignada a esta estructura vegetal (Figura 4.4).

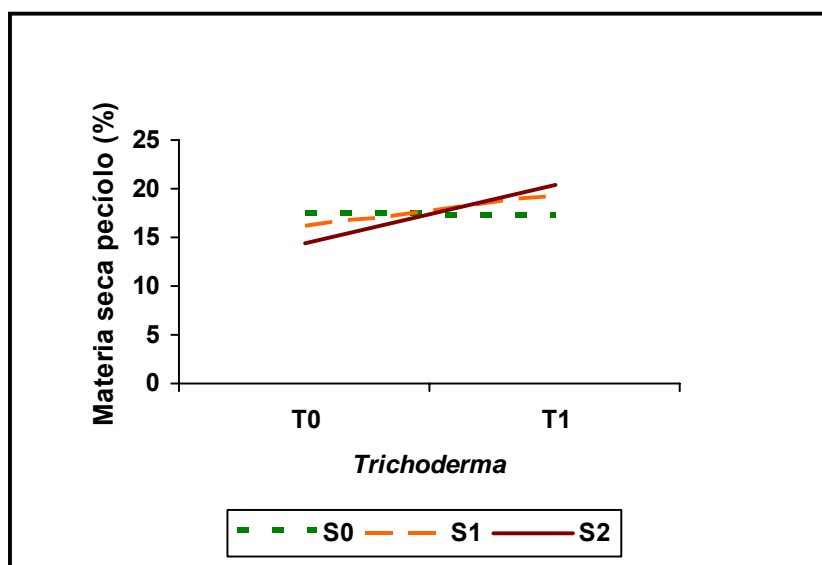


Figura 4.4: Interacción de dos niveles de *Trichoderma* (T0: 0 L/há y T1: 1 L/há) y tres niveles de sal (NaCl) (S0: 0 g, S1: 0,4 y S2: 0,8 g) sobre materia seca pecíolo en *Fragaria chiloensis*.

4.5 Crecimiento radical:

La interacción fue significativa para la profundidad superficial (0-10 cm) en los períodos 13/9 a 7/11 y 14/11 a 17/12, así como para la presencia de raíces en todo el período del ensayo (Cuadro 4.5; Figura 4.5). En los tres períodos de medición y total (13/9 a 7/11; 14/11 a 17/12 y 13/09 a 03/03), el factor *Trichoderma* generó una presencia radical significativamente mayor (Nº de raíces / celda de 5 mm²) en los diez primeros centímetros de profundidad. El factor salino obtuvo diferencias en los diez primeros centímetros de profundidad en las primeras dos fechas de medición y en el total; en todos estos casos, la aplicación de sal redujo significativamente la presencia de raíces (Cuadro 4.5).

Cuadro 4.5: Efecto de dos niveles de aplicación de *Trichoderma* y tres niveles de sal (NaCl) sobre el crecimiento radical (Nº de raíces / celda de 5 mm²) de *Fragaria chiloensis* a distintas profundidades (0-10 y 11-30), en tres períodos de medición.

Factores	Densidad radical (Nº de raíces / celda de 5 mm ²) a lo largo de la temporada ^z							
	13/09 a 07/11		14/11 a 17/12		27/12 a 03/03		Total	Total
	0-10	11-30	0-10	11-30	0-10	11-30	13/09 a 3/03	13/09 a 3/03
Trichoderma								
T0	85,7 b	158,3	111,3 b	242,2	147,7 b	169,8 b	344,7a	570,3
T1	113,2 a	162,1	131,4 a	227,8	179,5 a	181,9 a	424,1b	571,8
Significancia	**	n.s	**	n.s	**	**	**	ns
Sal								
S0	125,3 a	161,3	140,1 a	230,3	173,5	168,3	438,9a	559,9
S1	90,6 b	152,6	109,4 b	241,8	157,4	182,3	357,4b	576,7
S2	81,6 c	166,6	114,6 b	233,1	159,8	177,3	356,0b	577
Significancia	**	n.s	**	n.s	n.s	n.s	**	ns
Interacción	*	n.s	**	n.s	n.s	n.s	**	n.s

^z Promedios seguidos por letras distintas en una columna, difieren estadísticamente según la prueba Duncan con nivel de confianza de: * = menor a 0,05, ** = menor a 0,01 o ns = no significativo.

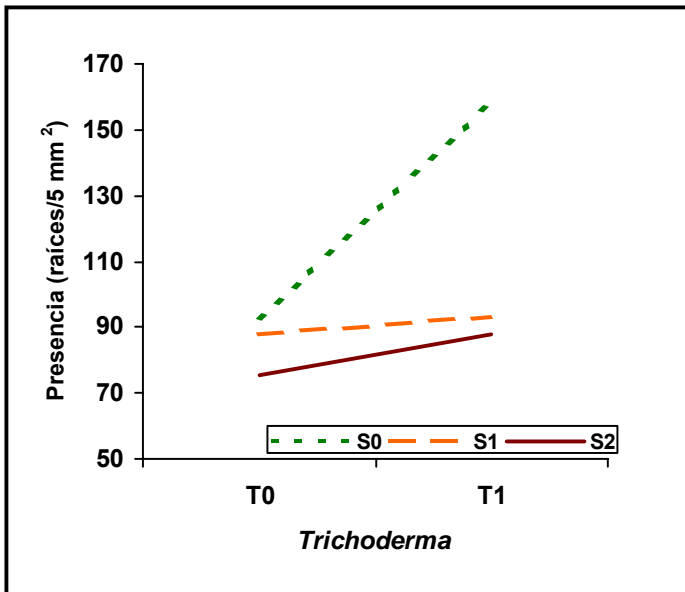
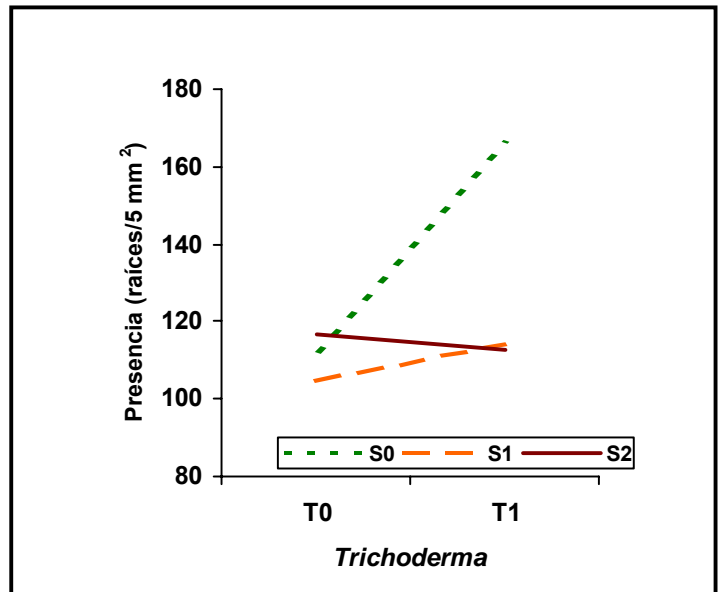
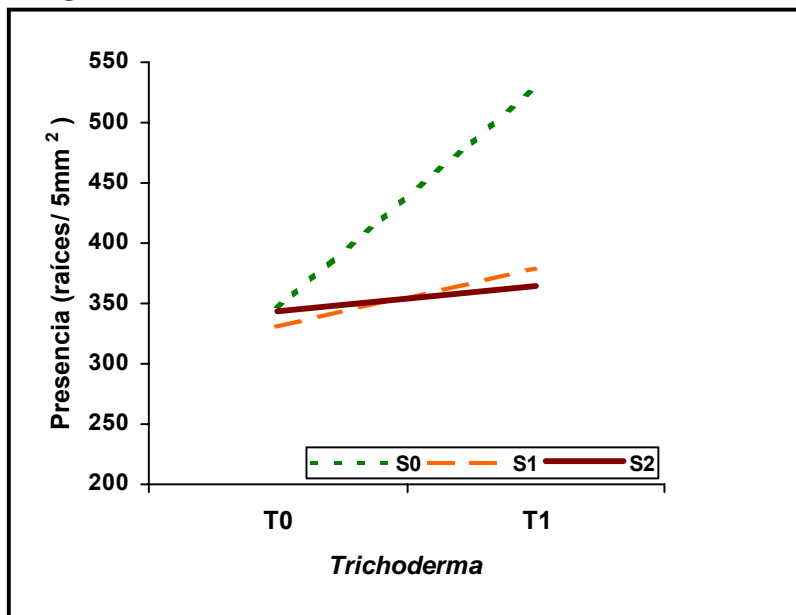
A**B****C**

Figura 4.5: Interacción de dos niveles de *Trichoderma* (T0: 0 L/há y T1: 1 L/há) y tres niveles de Sal (NaCl) (S0: 0 g, S1: 0,4 y S2: 0,8 g) sobre la presencia de raíces en profundidad superficial (0-10 cm) y en los períodos 13/9 a 7/11 (A) y 14/11 a 17/12 (B) así como para la presencia de raíces en todo el período del ensayo 13/09 a 03/03 (C).

4.5.1 Crecimiento radical en tres períodos de medición (13/09 a 07/11; 14/11 a 17/1 y 13/09 a 03/03) a 0-10 cm de profundidad

En la figura 4.5 (A, B y C), se observa que el factor salinidad (S0), en presencia de *Trichoderma*, presenta un mayor crecimiento en N° de raíces/5mm² en 73%, 47% y 54% para estos tres períodos respectivamente. En los tres casos existe una similar tendencia con una mayor presencia de raíces en plantas sin estrés salino. El factor S1 en los tres gráficos (figura 4.5 A, B y C) en presencia de *Trichoderma* posee un leve aumento de 6%, 9% y 14%, respectivamente. El factor S2, en presencia del hongo, generó un leve aumento del N° de raíces/5mm² (gráficos de la figura 4.5 (A) y (C)). En el gráfico de la figura 4.5 (B), se observa que el factor salinidad disminuyó la presencia de raíces en un 4%. Estos resultados indicarían que *Trichoderma* presentaría potencial para promover el crecimiento de raíces en plantas sin estrés.

4.6 Ensayo Contulmo

4.6.1 Peso fresco

Trichoderma no generó diferencia alguna en el crecimiento de las estructuras vegetales. De igual modo la salinidad no tuvo efectos significativos en sus dos niveles (S0 y S1). La interacción de *Trichoderma* (T0, T1 y T2) con salinidad (S0 y S1) no generó diferencias significativas en el peso fresco en hoja, corona, raíz, estolón y total en *Fragaria chiloensis* (Cuadro 4.6).

Cuadro 4.6: Efecto de la interacción de tres niveles de aplicación de *Trichoderma* y dos niveles de sal (NaCl) en *Fragaria chiloensis* sobre el peso fresco por planta (g), y las proporciones destinadas a hoja, corona, raíz y estolones.

Factor	Peso fresco / órgano vegetal (g) ^z				
	Hoja	Corona	Raíz	Estolón	Total
<i>Trichoderma</i> ^y					
T0	35,2	9,8	10,7	53,3	108,8
T1	35,8	10,1	11,2	53,9	110,9
T2	37,6	8,6	12,2	42,7	101,2
Significancia	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
Sal ^x					
S0	36,1	9,5	11,4	45,1	102,3
S1	36,1	9,5	11,2	54,8	111,7
Significancia	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
Interacción	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s

^z ns = no significativo

^y T0: 0 L/há; T1: 1 L/há; T2: 2 L/há.

^x S0: 0 g de NaCl; S1: 0,9 g de NaCl.

4.6.2 Peso seco

El factor *Trichoderma* no logró diferencias significativas sobre el peso seco de *Fragaria chiloensis*. El factor salinidad obtuvo similares resultados al factor *Trichoderma*. La interacción de ambos factores no produjo resultados significativos, mostrando un similar crecimiento con los distintos niveles de *Trichoderma* y sal (NaCl) (Cuadro 4.7).

Cuadro 4.7: Efecto de la interacción de tres niveles de aplicación de *Trichoderma* y dos niveles de sal (NaCl) en *Fragaria chiloensis*, sobre el peso seco por planta (g/pl), y las proporciones destinadas a hojas, corona, raíz y estolones (Plantas sometidas a 72 °C durante 72 h).

Factor	Peso seco / órgano vegetal (g) ^z				
	Hojas	Corona	Raíz	Estolón	Total
<i>Trichoderma</i>^y					
T0	14,1	5,9	7,1	18,1	45,6
T1	14,7	6,1	6,8	19,1	46,8
T2	15,1	5,5	7,3	15,4	43,3
Significancia	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
NaCl^x					
S0	14,3	5,9	7,1	16,1	43,2
S1	15,1	5,8	7,1	19,3	47,2
Significancia	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
Interacción	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s

^z ns = no significativo

^y T0: 0 L/há; T1: 1 L/há; T2: 2 L/há.

^x S0: 0 g de NaCl; S1: 0,9 g de NaCl.

4.6.3 Proporción de materia seca por órgano

Similares resultados a los de peso fresco se lograron en materia seca a los de peso fresco y seco. Los factores *Trichoderma* y sal (NaCl) no arrojaron diferencia estadística alguna en sus diferentes niveles ni en su interacción (Cuadro 4.8).

Cuadro 4.8: Efecto de la interacción de tres niveles de aplicación de *Trichoderma* y dos niveles de sal (NaCl) en *Fragaria chiloensis* sobre la materia seca por planta (g/pl), y las proporciones destinadas a hoja, corona, raíz y estolones.

Factor	Proporción de Materia Seca (%) ^z			
	Hojas	Corona	Raíz	Estolón
<i>Trichoderma</i>^y				
T0	31,1	13,5	15,9	39,5
T1	31,8	13,6	14,8	39,8
T2	36,0	13,4	17,6	32,9
Significancia	n.s	n.s	n.s	n.s
NaCl^x				
S0	33,9	14,4	16,8	34,9
S1	32,1	12,6	15,4	39,9
Significancia	n.s	n.s	n.s	n.s
Interacción	n.s	n.s	n.s	n.s

^z Análisis en base a datos transformados mediante la función $\arcsen \sqrt{(\%)}$; ns = no significativo

^y T0: 0 L/há; T1: 1 L/há; T2: 2 L/há.

^x S0: 0 g de NaCl; S1: 0,9 g de NaCl.

4.6.4 Reproducción vegetativa

Los factores *Trichoderma* y sal (NaCl) no arrojaron diferencia alguna sobre la producción de estolones en sus diferentes niveles ni en su interacción (Cuadro 4.9).

Cuadro 4.9: Efecto de la interacción de tres niveles de aplicación de *Trichoderma* y dos niveles de sal (NaCl) sobre el número de descendencia en *Fragaria chiloensis*.

Factor	Estolón	D1	D2	D3	D4	D5
<i>Trichoderma</i>^z						
T0	4,8	4,6	2,7	1,3	0,3	0,08
T1	4,7	4,6	2,5	1,3	0,6	0,08
T2	3,9	3,8	2,4	1,9	0,8	0,1
Significancia	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
NaCl^y						
S0	3,9	3,7	2,5	1,6	0,6	0,06
S1	5	4,9	2,5	1,4	0,6	0,1
Significancia	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s
Interacción	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s

ns = no significativo

D1: corresponde a plantas hijas; D2: corresponde a plantas nietas; D3: corresponde a plantas bisnietas; D4: corresponde a plantas tataranietas; D5: corresponde a plantas tataratataranietas.

^zT0: 0 L/há; T1: 1 L/há; T2: 2 L/há.

^yS0: 0 g de NaCl; S1: 0,9 g de NaCl.

5. DISCUSIÓN

La interacción de ambos factores (*Trichoderma harzianum* y salinidad) mostró ser consistente en aumentar el crecimiento sobre el peso fresco de láminas, pecíolos, raíz secundaria y total de los órganos vegetales de *Fragaria chiloensis*; mientras que al medir peso seco, el efecto de la interacción sólo se reflejó para lámina y pecíolo. La interacción de los factores aumentó el crecimiento radical, medido como presencia de raíces (Nº de raíces/5 mm²), a una profundidad de 0-10 cm y en tres fechas de medición (13/09 a 7/11; 14/11 a 17/12 y 13/09 a 03/03). *Fragaria chiloensis*, al crecer en un solución salina, presentó una reducción del crecimiento debido a efectos osmóticos y a efectos sobre iones específicos (Kafkafi y Bernstein 2000). Como resultado de altas concentraciones de sales, se podría producir un desbalance en la acumulación de nutrientes lo que induce una disminución en la extensión de raíces en el suelo. La reducción de la elongación radical bajo condiciones de salinidad reduce la absorción de iones y la tasa de transporte de agua y nutrientes. Anna *et al.*, (2003), señalan que con altas concentraciones de salinidad se afecta el crecimiento vegetal debido a efectos osmóticos. Al existir una mayor concentración de sales en la rizosfera, disminuye la absorción de agua, acentuándose el efecto en combinación con una tasa de transpiración constante. Existe una pérdida de turgor y se refleja en una disminución en el crecimiento de la planta. Además, al existir una alta concentración de sales aumenta el desorden fisiológico debido a una modificación en el balance de calcio, causando una necrosis marginal en las hojas de las plantas (Kafkafi y Bernstein 2000). Así, *Fragaria chiloensis* al crecer bajo condiciones de estrés, disminuyó su crecimiento debido a la menor disponibilidad de agua y a un estrés nutricional. Pero al crecer en una relación mutualista con *Trichoderma harzianum*, el crecimiento de la planta se vio potenciado debido que *Trichoderma* logró aumentar la absorción de agua y nutrientes desde la rizosfera.

La interacción de los factores generó un aumento en la presencia de raíces con los niveles T1 (1L/há) y S0 (0 g de NaCl). Gurí, (2002) señala que la planta funciona con normalidad si la presión hídrica del suelo es intermedia, al no haber una elevada concentración de sales. Al no aplicar el estrés salino sobre el sistema radical de *Fragaria chiloensis* (L.) Duch, esta creció con normalidad. Semillas de maíz (*Zea mays*) creciendo en óptimas condiciones y que fueron inoculadas con *Trichoderma*, lograron un mayor crecimiento que aquellas que no fueron inoculadas con el hongo (Harman *et al.*, 2004). Así, *Trichoderma* al crecer asociado a las raíces de *Fragaria chiloensis* sin estrés salino, habría potenciado el aumento de crecimiento experimentado por las raíces de la planta de frutilla.

Estos resultados concuerdan con los de Björkman *et al.*, (1995), quien en experimentos de invernadero con plantas de maíz (*Zea mays*) después de 21 días de plantación e inoculación con *Trichoderma*, encontró que la exploración del suelo por parte de las raíces, fue de 40% mayor que las no inoculadas. *Trichoderma* aumentaría el crecimiento mediante la aceleración en la elongación celular del ápice de las raíces (Windham *et al.*, 1986; Björkman *et al.*, 1998).

Es interesante señalar que la interacción de *Trichoderma* con salinidad generó un aumento en el crecimiento aéreo, en contraste con lo obtenido en la ausencia de estrés salino en crecimiento radical. El mecanismo de medición radical que se utilizó, sólo detectó presencia de raíces en celdas de 5 mm² y no dimensionó el efecto sobre el diámetro radical. La estimulación del aumento en el crecimiento radical, como consecuencia de la presencia de *Trichoderma*, es un proceso complejo que requiere de señales entre los dos organismos, ya que también serían beneficiadas las raíces que presentan algún tipo de estrés, lo que podría hacerlas susceptibles a la estimulación por *Trichoderma* o bien estimular a este hongo a actuar sobre el metabolismo de la planta (Ruiz-Lozano, 1996). El sistema radical de *Fragaria chiloensis*, sometido a altas concentraciones de salinidad (0,8 g de NaCl) habría generado señales de estrés a los que *Trichoderma* habría respondido con un aumento en la cantidad de raíces. En este sentido Björkman (1996) señala que en plantas de maíz (*Zea mays*) 21 días después de plantadas e inoculadas con *Trichoderma*, el peso de las raíces fue 50% mayor que en plantas sin el hongo. Dichos resultados concordarían con los obtenidos en este ensayo en cuanto a crecimiento de peso fresco de raíz secundaria, el que fue significativamente mayor en presencia de ambos factores. Así, *Trichoderma*, al crecer junto a las raíces sometidas a estrés salino, pudo haber estimulado un aumento en el diámetro (y peso), pero no en longitud radical.

En peso seco *Trichoderma* generó un aumento en láminas, pecíolo, raíz primaria, raíz secundaria y total. En presencia de raíces, *Trichoderma* generó efecto en 0-10 cm de profundidad y en 5 períodos de medición ((13/09 a 7/11; 14/11 a 17/12; 27/12 a 03/03; 13/09 a 03/03) y en 11-30 cm de profundidad en una fecha de medición (27/12 a 03/03). Se ha observado que la colonización de raíces con *Trichoderma*, aumenta los niveles de enzimas vegetales, incluyendo peroxidasas, quitinasas, β- 1,3 glucanasas, lipoxigenasas e hidroxigenasas (Howell *et al.*, 2000; Yedidia *et al.*, 1999). Localizada en la pared de la célula vegetal, la función de las peroxidasas se relaciona con la producción de moléculas de agua a partir de O₂ y NADH. Las quitinasas, β- 1,3 glucanasas, lipoxigenasas e hidroxigenasas, son sintetizadas por la planta cuando ésta es atacada por hongos para degradar las paredes de los agentes invasores (Salisbury, 1994).

Además, existen estudios que señalan que *Trichoderma* al colonizar las raíces, induce cambios significativos en el mecanismo metabólico (Harman, 2000); así en plantas de maíz (*Zea mays*) que fueron tratadas con y sin *Trichoderma* T-22 (*Trichoderma harzianum*), aproximadamente un 40% de las proteínas que fueron visibles en presencia de *Trichoderma* no lo fueron en las plantas no tratadas con el microorganismo. Similares resultados obtuvo Altomare (1999), quien señaló que la estimulación del crecimiento se basa en la nutrición; así la liberación de ácidos orgánicos que secuestran cationes y acidifican el medio ambiente alrededor de las raíces, sería el mayor mecanismo de solubilización de P, así como de Mn, Fe, y Zn.

En esos ensayos, *Trichoderma* aumentó la absorción y concentración de varios nutrientes (fósforo, hierro, magnesio y sodio); así, plantas que fueron inoculadas con *Trichoderma* (T-22) generaron máximo rendimiento con un 40% menos de la dosis de fertilización nitrogenada, en comparación con plantas no tratadas con T-22 (Harman *et al.*, 2004). En adición a los efectos de eficiencia nitrogenada, los análisis muestran que *Trichoderma* causa una mayor absorción de muchos elementos, incluido: arsénico, cobalto, cadmio, níquel, magnesio, manganeso, boro, zinc, aluminio y sodio.

No se detectó influencia de *Trichoderma* sobre los estolones. Para que exista generación de estolones a partir de las yemas axilares de las hojas, la planta debe acumular determinadas horas de frío y luminosidad (Hancock, 1999); al respecto debe considerarse que en el experimento en invernadero las plantas fueron trasladadas desde una zona fría (Contulmo) a una zona más cálida (Talca), por lo que sólo estaban en condiciones de desarrollar estolones aquellas plantas que acumularon un adecuado tiempo biológico para estimular la yema vegetativa. Además, es interesante señalar que el crecimiento de los estolones viene determinado genéticamente, por lo que quizás algunas plantas no tuvieron las condiciones necesarias para el desarrollo y crecimiento de estos órganos.

El factor salinidad afectó el peso fresco de raíz secundaria y total de los órganos vegetales; en materia seca, sólo se detectó diferencias a nivel de pecíolo. En presencia de raíces (N° de raíces/5 mm²) a 0-10 cm de profundidad y en dos fechas de medición y total de las mediciones, solo hubo efecto en ausencia de sales (S0). Esto se podría explicar debido a que inhibiciones del crecimiento radical por salinidad reducen el volumen del suelo que puede ser explorado y la habilidad de captar agua por parte de la planta. La disminución de elementos nutricionales contribuye a la reducción del crecimiento de brotes (Delane *et al.*, 1982).

Los resultados indican que los menores crecimientos se debieron a altas concentraciones de sal (S1: 0,4g y S2: 0,8 g de NaCl) debido a que la solución salina impone dos tipos de estrés al crecimiento de la planta: 1) estrés osmótico, resultando un menor potencial hídrico en el medio de crecimiento de las raíces; 2) estrés iónico, que induce cambios en la concentraciones de iones específicos en el medio de crecimiento de las raíces (Delane *et al.*, 1982). Así, la alta concentración de sales en el suelo disminuye la presión hídrica del mismo, tendiendo a ser menor que la presión total dentro de la raíz; en este caso la planta se marchita porque no consigue ingresar agua y las raíces sufren desecaciones y quemaduras por toxicidad de los elementos que se encuentran en el suelo (Gurí, 2002). Así, en plantas libres de sal no se generaron los daños mencionados anteriormente; el crecimiento se ve aumentado cuando la solución salina no impone el estrés sobre el crecimiento de *Fragaria chiloensis*.

Baker *et al.*, Baker 1988, 1984; Chang *et al.*, 1986; Paulitz *et al.*, 1986, han demostrado que la capacidad de incrementar el crecimiento depende particularmente del cultivo. Así, ante los resultados anteriormente expuestos es importante señalar que *Trichoderma* desarrollaría una relación mutualista con *Fragaria chiloensis*, con el consecuente aumento en el crecimiento de la planta.

El ensayo realizado en la localidad de Contulmo no generó diferencias en la interacción de *Trichoderma harzianum* y salinidad, así como en ninguno de los distintos niveles de los factores sobre el crecimiento aéreo y radical de *Fragaria chiloensis*. Para llevar a cabo el experimento se establecieron tres niveles de *Trichoderma* (0L/há; 1L/há y 2L/há) y dos niveles de salinidad (0 g y 0,9 g de NaCl), los que aplicados a las plantas en condiciones de campo pudieron haber alcanzado concentraciones insuficientes para que causaran los efectos esperados. Esto se podría explicar debido a que *Trichoderma* no habría alcanzado una adecuada colonización radical. (Harman *et al.*, 2004) señala que el incremento por parte de *Trichoderma* es menor en condiciones de campo. Las características del mutualismo se basan en una relación no dependiente y no definida en el tiempo; así, quizás en condiciones de campo, *Trichoderma* no encontró en la rizosfera de *Fragaria chiloensis* condiciones óptimas para su colonización. Además, al existir altas precipitaciones de 1250 mm (Dirección Meteorológica de Chile, 2004), la sal aplicada a la planta, se pudo haber lixiviado a las estratas más profundas quedando lejos de ejercer efecto sobre el sistema radical de *Fragaria chiloensis*. Al mismo tiempo, la rotación de cultivo papas-frutillas, se manejaba sin control químico, lo que aumentaría las poblaciones de patógenos en el suelo. A pesar que el ensayo se estableció en un suelo con papa como cultivo anterior, no se logró demostrar la capacidad de *Trichoderma* de actuar como controlador biológico.

Esto puede deberse a que en el sistema de rotación papa-frutilla, además de estar presente *Rhizoctonia solani*, que causa grandes pérdidas para el cultivo de la papa, se podría encontrar *Rhizoctonia fragariae*, especie que sería el agente causal de las enfermedades en plantas de frutillas. En la literatura no existe información disponible si *Trichoderma harzianum* controle eficazmente a *Rhizoctonia fragariae*.

Se requiere seguir estudiando el impacto real de *Trichoderma harzianum* en condiciones de cultivo y establecer la interacción entre este microorganismo y los patógenos que afectan en terreno al cultivo de *Fragaria chiloensis* (L.) Duch.

6. CONCLUSIONES

La interacción de los factores de *Trichoderma harzianum* y salinidad (NaCl) con sus mayores niveles (T1 y S2) ocasionaron aumentos en el peso fresco, seco y presencia de raíces en *Fragaria chiloensis*. En la materia seca sólo pecíolo generó diferencias en la presencia de ambos factores.

Trichoderma, al potenciar el crecimiento aéreo y radical de *Fragaria chiloensis* sometida a estrés salino, habría establecido una relación mutualista con el sistema radical de la planta.

El factor *Trichoderma*, al crecer en la zona radical de *Fragaria chiloensis*, potenció el crecimiento vegetal expresado en peso fresco, seco y presencia de raíces. En materia seca de lámina, pecíolo, raíz primaria y secundaria se generaron diferencias en presencia de *Trichoderma*.

El factor salinidad habría generado un estrés nutricional, disminuyendo el crecimiento de aquellas plantas sometidas a la mayor concentración de NaCl (S2). Así, plantas sin estrés salino se desarrollaron normalmente sin alteraciones significativas en su crecimiento.

En Contulmo, probablemente por la existencia condiciones de campo (pluviometría, existencia probable de *Rhizoctonia solani*, etc.) la interacción no generó diferencias significativas en la interacción, así como tampoco los factores por separado alteraron el crecimiento de la planta de frutilla.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, R y Arcia, A. 1988. Control biológico de *Sclerotium cepivorum* por *Trichoderma* sp. In vitro. (Resumen). Fitopatol. Venez. 1: 34-35.
- Agrios, G. 1991. Fitopatología. Editorial Limusa. México, 741p.
- Altomare, 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai strain. Appl. Environ. Microbiol. 1295-22
- Allen, E. B. and Cunningham, G. L. 1983. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizae on *Distichlis spicata* under three salinity levels. New Phytol. 93: 227-236.
- Allen, M. F., Smith, W. K., Moore, T. S. and Christensen, M. 1981. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis*. Steud. New Phytol. 88: 683-693.
- Anna, F. D', Incalcaterra, G., Mondaca, A. and Miceli, A. 2003. Effects of different electrical conductivity levels on strawberry grown in soilless culture. Acta Hort 609, ISHS. 355-360 p.
- Atlas, R. 1987. Microbial Ecology: Fundamentals and Applications. Cummings Publishing Company, Inc. California. 133-166
- Azcon, R., Barea, J. M. and Hayman, D. S. 1976. Utilization of rock phosphate in alkaline soils by plants inoculated with mycorrhizal fungi and phosphate solubilizing bacteria. Soil Biol. Biochem. 13: 19-22.
- Baker, R. 1991. Diversity in biological control. Crop Protection 10: 85-94.
- Bautista, L. y Acevedo, R. 1993. Antagonismo *in vitro* de dieciséis aislamientos de *Trichoderma* spp. vs. *Sclerotium cepivorum* (Resumen). Fitopatol. Venez. 6(2): 54.
- Beagle-Ristaino, J. and Papavizas, G. 1985. Survival and proliferation of propagules of *Trichoderma* spp and *Gliocladium virens* in soil and plant rhizospheres. Phytopathology 75: 729-732.
- Benhamou, N. and Chet, I. 1993. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: Ultrastructure and Cytochemistry of the mycoparasitic process. Phytopathology 83: 1062-1071.
- Bernstein, N., Silk, W. K., and Läuchli, A. 1993. Growth and development of sorghum leaves under conditions of NaCl stress: Spatial and temporal aspects of leaf growth inhibition. Planta 191: 433-439.
- Bever, M. 1994. Feedback between plants and their soil communities in an old field community. Ecology 75: 1965-1977.
- Björkman, T., G. E. Harman and L. Blanchard. 1995. Root development in sweet-corn inoculated with the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. HortScience 30(4): 810 (Abstr.)
- Blanchard, L.M. and T, Björkman. 1996. The role of auxin in enhanced root growth of *Trichoderma*-colonized sweet corn. HortScience 31:688-694
- Boland, G.J. 1998. Plant-microbe interactions and biological control. New York: Marcel Dekker.

Boosalis, M. and Mankau, R. 1965. Parasitism and predation of soil microorganisms. In: Ecology of soil – borne plant pathogens. R. W. Baker and W. C. Snyder (Eds.) University of California Press Berkeley, Los Angeles. 571pp.

Branzanti, E. 1989. La fresa. Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España. 350p.

Bruna, H., Fernández, A., Gutiérrez, V., Tello, V., y Reyes, M. 2002. ¿Porqué algunas soluciones acuosas presentan conductividad eléctrica?. (en línea). Consultado 14 oct. 2003. disponible en <http://www.uni.edu/coe/chileanproject/activities/2002/leasson1-2002.htm>

Campbell, R. 1989. Biological control of microbial plant pathogens. Cambridge University Press. 218pp.

Cherif, M and Benhmou, N. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of *Trichoderma sp. Fusarium oxysporum fsp. radiscis – lycopersici*. Phytopathology 80 (12): 1406-1414.

CONAMA, 2004. Corporación Nacional del Medio ambiente. (en línea). Capítulo V: el suelo, octava región del Bío-Bío. Consultado el 13 de Octubre 2004. Disponible en www.conama.cl

Cook, R.J. 1989. The nature and practice of biological control of plants pathogens. The American Phytopathological Society. II Edition; USA. 539pp.

Dandurand, L and Knudsen, G. 1993. Influence of *Pseudomonas fluorescens* on hyphal growth and biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* in the spermosphere and rhizosphere of pea Phytopathology 83: 265-270

Delane, R., Greenway, H. J., Munns, R., and Gibs, J. 1982. Ion concentration and carbohydrate status of the elongation leaf tissue of *Hordeum vulgare* growing at high external NaCl. I. Relationship between solute concentration and growth. J. Exp. Bot. 33: 557-573.

Dirección Meteorológica de Chile. 2004. Clima Templado Cálido con Estación Seca de 4 a 5 Meses. (en línea). Consultado el 24 de noviembre de 2004. Disponible en http://www.meteochile.cl/climas/climas_octava_region.html

Eastburn, D. M. 1988. Microhabitat characterization of *Trichoderma* in natural soil: Evaluation of factors affecting population density. Soil Biology Biochemistry, 20:541-546.

Elad, Y., Chet, I. and Katan, J. 1980. *Trichoderma harzianum*. A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 70: 119-121.

Elad, Y., Chet, I., Boyle, P and Henis, Y. 1983. Parasitism of *Trichoderma spp* on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scanning electron microscopy and fluorescence. Microscopy Phytopathology 73: 85-88.

Ferreyra, R., Peralta, J., Sadzawka, A., Valenzuela, J., y Muñoz, C. 1998. Efecto de la aplicación de ácido sobre algunas características químicas de un suelo calcáreo. Agricultura Técnica. Chile. 58:163-170.

Galletta, G.J. and R.S. Bringhurst. 1990. Strawberry Management. p: 83-156. En: Galletta, G. y Himelrick, R.S. (eds.). Small Fruit Crop Management. Prentice-Hall, Inc., New Jersey, USA.

Gurí, J., 2002. Concentración de sales en un substrato. (en línea). Consultado 14 oct. 2003. Disponible en <http://www.Fuchsiarama.com/concentracion.htm>

Hancock, J. F., A. Lavín, and J. B. Retamales. 1999. Our Southern strawberry heritage: *Fragaria chiloensis* of Chile. HortScience 34:814-816

- Harman, G., Chet, I., and R. Baker. 1981. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seed as a biocontrol agent. *Phytopathology* 71:569-572.
- Harman, G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. *Plant Dis.* 84: 377-393.
- Harman, G. E. 2003. *Trichoderma* spp., including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* and other spp. of Deuteromycetes, Moniliales (asexual classification system) in <http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/trichoderma.html>
- Harman, G., Howell, C., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species_opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews. Microbiology* 2: 43-55.
- Hartley, J. L. 1965. Mycorrhiza. 218-229. In: K. F. Baker and W. C. Snyder (eds.) *Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens*. University of California Press, Berkeley.
- Hirrell, M. C. and Gerdeman, J. W. 1980. Improved growth of onion and bell pepper in saline soils by two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 44: 1413-1425.
- Howell, C. R., Hanson, L.E., Stipanovic, R.D. and Puckhaber, L. S. 2000. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. *Phytopathology* 90: 248-252.
- Irrigation Water Quality Standards. 1998. (en línea). Consultado 11 Junio 2004. Disponible en <http://agnews.tamu.edu/drought/DRGHTPAK/SALINITY.HTM>
- Jha, D. K.; Sharma, G D.; Mishra, R R.1992. Ecology of soil microflora and mycorrhizal symbionts in degraded forests at two altitudes. *Biology and Fertility of Soils*, 12: 272-278.
- Kafkafi, U, and Bernstein, N. 2000. Root Growth Under Salinity Stres. p: 435-451
- Lee, D. V. 1966. Early breeding in Europe. p. 73-80. In: G. M. Darrow (ed.). *The strawberry: history, breeding and physiology*. Holt, Rinehart and Winston, New York.
- Lee, D. V. 1966. Early history of the strawberry. 115-123. In: G. M. Darrow (ed.). *The strawberry: history, breeding and physiology*. Holt, Rinehart and Winston, New York.
- Lee, D. V. 1966. The strawberry from Chile. p.124-139. In: G. M. Darrow (ed.). *The strawberry: history, breeding and physiology*. Holt, Rinehart and Winston, New York.
- Lee, D. V. 1966. Duchesne and his work. p. 140-170. In: G. M. Darrow (ed.). *The strawberry: history, breeding and physiology*. Holt, Rinehart and Winston, New York.
- Lo, C., Nelson, E., Hayes, C. and Harman, G. 1998. Ecological studies of transformed *Trichoderma harzianum* strain 1295-22 in the rhizosphere and the phylloplane of creeping bentgrass. *Phytopathology* 88 (2): 129-136.
- Lorito, M., Harman, G., Hayes, C., Broadway, R., Tronsmo, A., Woo, S. and Di Pietro, A. 1993. Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*. Antifungal activity of purified Endochitinase and Cgltobiosdase. *Phytopathology* 83(3): 302-307.
- Lynch, J.M., Wilson, K.L., Ousley, M.A. and Whipps, J.M. 1991. Response of lettuce to *Trichoderma* treatment. *Applied Microbiology*. 12: 59-61.

- McAllister, C., García-Romero, I., Godeas, A. and Ocampo, J. 1994. Interactions between *Trichoderma koningii*, *Fusarium solani* and *Glomus mosseae* : Effects on plant growth, arbuscular mycorrhizas and the saprophyte inoculants. *Soil Biology and Biochemistry* 26(10): 1363-1367.
- McBeath, J. and Adelman, M. 1991. Taxonomy of a new *Trichoderma* found in Alaska. *Phytopathology* 81(10):1151 (Abstract).
- Montealegre, J. 2003. Principales enfermedades que afectan al cultivo de la frutilla en Chile. p 35-41. Seminario Avances en técnicas de cultivo de la Frutilla. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.
- Mousain, 1997. Le Rôle Des Mycorhizes Dans La Nutrition Phosphateé Des Arbres Forestiers. *Rev. For.* XLIX : 67-81.
- Ojala, J. C., Jarrell, W. M., Menge, J. A. and Johnson, E. L. V. 1983. Influence of mycorrhizal fungi on mineral nutrition and yield of onion in saline soil. *Agron. J.* 75 : 255-259.
- Ousley, M. A., Lynch, J. M. and Whipps, J. M. 1994. The effects of addition of *Trichoderma inocula* on flowering and shoot growth of bedding plants. *Scientia Horticulturae* 59 : 147-155.
- Papavizas, G. 1981. Survival of *Trichoderma harzianum* in soil and pea bean rhizosphere *Phytopathology* 71: 121-125.
- Pitman, M. G. 1984. Transport across the root and shoot/root interaction. p 93-123. In: *Salinity Tolerance in Plants-Strategies for Crop Improvement* (R.C. Staples and G.H. Toenniessen, Eds.). Wiley, New York.
- Poss, J. A., Pond, E., Menge, J. A. and Jarrel, W. M. 1985. Effect of salinity on mycorrhizal onion and tomato in soil without additional phosphate. *Plant and Soil* 88: 307-319.
- Proexant, 2004. Cultivo de la frutilla. (en línea). Consultado 13 de Octubre del 2004. disponible en http://www.proexant.org.ec/Manual_Frutilla.html
- Rabeendran, N., Moot. D. J., Jones, E. E. and Stewart, A. 2000. Inconsistent Growth Promotion of Cabbage and Lettuce from *Trichoderma* Isolates. *New Zealand Plant Protection* 53: 143-146.
- Reed, C. F. 1966. Wild strawberry species of the world. p. 108-121. In: G. M. Darrow (ed.). *The strawberry: history, breeding and physiology*. Holt, Rinehart and Winston, New York.
- Rhoades, J.D. 1976. Measuring, mapping and monitoring field salinity and water table depths with soil resistance measurements. *FAO Soils Bull.* 31: 159-186.
- Rodríguez, I. y Arcia, A. 1993. Caracterización Fisiológica (temperatura, pH y luz) de 12 aislamientos de *Trichoderma spp.*, In vitro *Fitopatol. Venezuela.* 6(2): 53 (Resumen).
- Ruiz-Lozano, 1996. Alleviation fo Salt Stress by Arbuscular-mycorrhizal *Glomus* species in *Lactuca sativa* plants. *Physiologia Plantarum* 98: 767-772.
- Sivan, A., and Harman, G.E. 1991. Improved rhizosphere competence in a protoplast fusion progeny of *Trichoderma harzianum*. *J. Gen Microbiol.* 137:23-29.
- Staudt, G. 1962. Taxonomic studies in the genus *Fragaria*, typification of *Fragaria* species known at the time of Linnaeus. *Canadian Journal of Botany.* 40: 869-885.
- Strand, L. 1994. Integrated pest management for strawberry. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. 12-13 pp.

Starkey, R. L. 1958. Interrelations between microorganisms and plant root in the rhizosphere. *Bacteriological Reviews* 22: 154-172.

Villagrán, V., 1994. El cultivo de la frutilla. FIA, Ministerio de Agricultura. Santiago de Chile. 112 p.

Whipps, J. M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. 52: 487-511.

Windham M., Elad, Y. and Baker, R.1986. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma spp.* *Phytopathology* 76, 518-521.

Yedidia, I., Benhamou, N. and Chet, I. 1999. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 1061-1070.