



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

**Evaluación de tres cepas nativas de Trichoderma spp.
en el control de caída de plántulas en almácigo de pimentón
(Capsicum annuum)
cv. Fyuco**

MEMORIA DE TÍTULO

MARIA JOSE PELDOZA BRAVO

**TALCA - CHILE
2005**



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

**Evaluación de tres cepas nativas de Trichoderma spp.
en el control de caída de plántulas en almácigo de pimentón
(Capsicum annuum)
cv. Fyuco.**

Por

MARÍA JOSÉ PELDOZA BRAVO

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

INGENIERO AGRÓNOMO
TALCA - CHILE
2005

Aprobación Memoria de Título:

Profesor Guía Ing. Agr., M. Sc., Doctor en Agronomía. Claudio Sandoval Briones.
Profesor Escuela de Agronomía.
Facultad de Ciencias Agrarias.
Universidad de Talca.

Profesor Informante Ing. Agr., M. Sc., Ph. D. Mauricio Lolas Caneo.
Profesor Escuela de Agronomía.
Facultad de Ciencias Agrarias.
Universidad de Talca.

Fecha de presentación defensa de memoria: 18 de Marzo 2005

Dedicada a mi madre, por su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, a mis padres, amigos y compañeros de trabajo por su constante apoyo y preocupación. Además quiero agradecer a los profesores Claudio Sandoval (Prof. Guía) y Mauricio Lolas (Prof. Informante) por la buena voluntad y disposición durante todos estos años de estudio.

Gracias a los docentes y Funcionarios de la Escuela de Agronomía de la Universidad de Talca por los gratos momentos compartidos.

ABSTRACT

In order to evaluate the effectiveness of the biocontroller Trichoderma spp. in the control of damping off an experiment was estabesed using seedlings (Capsicum annuum) cv. Fyuco. At the some time the effect of two irrigation frequencies, daily and every three days, was evaluated. Trichoderma harzianum strain Queule, Trichoderma parcenamosum strain Trailles, Trichoderma virens strain Sherwood and a combination of these three strains were applied.

In a concentration of 10^6 conidial/ml. diluted in 10 ml. of distilled water depending on the treatment. The first application took place six days after the sowing and the second application was done seven days later. Two evaluations were done for the incidence and severity of the disease after applying Trichoderma spp. Also It was measured the final fresh weight of the plants, 38 days after sowing. The results of these experiments show that Phytophthora capsici, is the main responsible agent, of this pathology, which is associated to plant wilting and reddish brown liquid spots in the stems and finally the death of plants. On the other hand, statistical differences were found among the different treatments evaluated.

Trichoderma harzianum strain Queule and the irrigation frequency every three days appear as the best treatments..... the lowest incidence of damping off final fresh weight.

RESUMEN

Con el objeto de evaluar la efectividad del biocontrolador *Trichoderma* spp en el control de caída de plántulas se realizó un ensayo. Para esto se realizaron almácigos de pimentón (*Capsicum annuum*) cultivar Fyuco. Se evaluó la influencia de dos frecuencias de riego correspondiendo estas a una frecuencia de riego diaria y cada tres días, además se evaluó la capacidad biocontrolador de *Trichoderma harzianum* cepa Queule, *Trichoderma parcenamosum* cepa Trailes, *Trichoderma virens* cepa Sherwood y una combinación de estas tres cepas. Se aplicó una dosis de 2 ml de *Trichoderma* spp. en una concentración de 10^6 conidias/ml diluídas en 10 ml de agua destilada en cada celdilla según el tratamiento correspondiente, la primera aplicación se realizó a los 6 días después de siembra y la segunda a los 7 días más tarde.

Se realizaron dos mediciones de incidencia y severidad de caída de plántulas luego de haber aplicado las *Trichodermas* spp., además se midió el peso fresco final de las plántulas vivas a los 38 días después de siembra. Los resultados obtenidos en las pruebas de patogenicidad indican a *Phytophthora capsici* como el patógeno responsable, asociándose a su presencia síntomas como marchitez de plántulas, manchas acuosas de color castaño rojizo las que cubrieron el contorno del tallo produciendo finalmente la muerte de plántulas. Por otra parte, se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos de control evaluados. Se determinó que *Trichoderma harzianum* cepa Queule y la frecuencia de riego cada tres días fueron los tratamientos más efectivos en el control de caída de plántulas y acumulación de peso fresco final.

INDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Generalidades	4
2.2. Enfermedades en pimentón	4
2.3. Organismo causal	6
2.3.1. Morfología	6
2.3.2. Ciclo biológico	7
2.3.3. Sintomatología	9
2.3.3.1. Almácigo	9
2.3.3.2. Plantas establecidas	10
2.3.4. Humedad de suelo	10
2.3.5. Control de la marchitez del pimentón	11
2.3.5.1. Medidas de control cultural	11
2.3.5.2. Control biológico	13
2.3.5.3. Control químico	13
2.4. <u>Trichoderma</u> spp.	14
2.4.1. Mecanismos de acción de <u>Trichoderma</u> spp.	15
2.4.1.1. Micoparasitismo	16
2.4.1.2. Antibiosis	16
2.4.1.3. Competencia	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS	18
3.1. Ubicación del ensayo	18
3.2. Material vegetal	18
3.3. Obtención de <u>Trichoderma</u> spp.	18
3.4. Aplicación de <u>Trichoderma</u> spp. y riego	19
3.5. Aislamiento de patógenos asociados a caída de plántulas	19
3.6. Evaluaciones	20
3.7. Diseño experimental	21
3.8. Análisis estadístico	22

INDICE

	Página
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1. Efecto de distintos tratamientos de riego y aplicación de <u>Trichoderma</u> spp. sobre la incidencia de caída de plántulas de pimentón	23
4.2. Efecto de distintos tratamientos de riego y aplicación de <u>Trichoderma</u> spp. sobre la severidad de caída de plántulas en pimentón	27
4.3. Efecto de distintos tratamientos de riego y aplicación de <u>Trichoderma</u> spp. sobre el peso fresco final de plántulas de pimentón	30
4.4. Identificación del Patógeno	32
5. CONCLUSIONES	33
6. BIBLIOGRAFÍA	34

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 3.1. Tratamientos utilizados para evaluar in vivo la acción de <u>Trichoderma</u> spp. en el control de caída de plántulas en pimentón cv. Fyuco.	21
CUADRO 4.1. Efecto de dos frecuencias de riego y aplicación de tres cepas de <u>Trichodermas</u> spp. sobre el control de caída de plántulas en pimentón.	23
CUADRO 4.3. Efecto de dos frecuencias de riego y aplicación de tres cepas de <u>Trichodermas</u> spp. sobre la severidad de caída de plántulas en pimentón. Datos correspondientes a la segunda evaluación	28
CUADRO 4.4. Efecto de dos frecuencias de riego y aplicación de tres cepas de <u>Trichodermas</u> spp. sobre el peso fresco final por plántula de pimentón	30

INDICE

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

Figura 4.1. Efecto de la aplicación de dos frecuencias de riego y *Trichoderma* spp., sobre la incidencia de caída de plántulas en pimentón, cv. Fyuco. Primera evaluación de incidencia. T1: *I. harzianum* más riego diario, T2: riego diario más *I. parcenamosum*, T3: riego diario más *I. virens*, T4: riego diario más combinación de las tres cepas de *I. spp.*, T5: riego diario sin aplicación de *I. spp.*, T6: riego cada tres días más *I. harzianum*, T7: riego cada tres días más *I. parcenamosum*, T8: riego cada tres días más *I. virens*, T9: riego cada tres días más combinación de las tres cepas de *I. spp.*, T10: riego cada tres días sin aplicación de *I. spp.* Temporada 2003/2004, Talca. 24

Figura 4.2. Efecto de la aplicación de dos frecuencias de riego y *Trichoderma* spp., sobre la incidencia de caída de plántulas en pimentón, cv. Fyuco. Segunda evaluación de incidencia. T1: *I. harzianum* más riego diario, T2: riego diario más *I. parcenamosum*, T3: riego diario más *I. virens*, T4: riego diario más combinación de las tres cepas de *I. spp.*, T5: riego diario sin aplicación de *I. spp.*, T6: riego cada tres días más *I. harzianum*, T7: riego cada tres días más *I. parcenamosum*, T8: riego cada tres días más *I. virens*, T9: riego cada tres días más combinación de las tres cepas de *I. spp.*, T10: riego cada tres días sin aplicación de *I. spp.* Temporada 2003/2004, Talca. 25

Figura 4.3. Efecto de la aplicación de dos frecuencias de riego y *Trichoderma* spp., sobre el peso fresco de plántulas de pimentón, cv. Fyuco, evaluadas a los 38 días después de siembra. Temporada 2003/2004, Talca T1: *I. harzianum* más riego diario, T2: riego diario más *I. parcenamosum*, T3: riego diario más *I. virens*, T4: riego diario más combinación de las tres cepas de *I. spp.*, T5: riego diario sin aplicación de *I. spp.*, T6: riego cada tres días más *I. harzianum*, T7: riego cada tres días más *I. parcenamosum*, T8: riego cada tres días más *I. virens*, T9: riego cada tres días más combinación de las tres cepas de *I. spp.*, T10: riego cada tres días sin aplicación de *I. spp.* 31

INTRODUCCIÓN.

Las enfermedades de los vegetales son una preocupación constante para el hombre, debido a que éstas perjudican el desarrollo de las plantas y de sus productos (Agrios, 1991). Las principales que afectan al pimiento en Chile se presentan en almácigos y en plantaciones definitivas. En el caso de los almácigos la caída de plántulas constituye el principal problema, el cual es producido por un complejo de hongos del suelo, siendo los principales agentes causales: Pythium aphanidermatum, Pythium ultimum, Phytophthora capsici, Rhizoctonia solani y Fusarium oxysporum.

La marchitez del pimentón, provocada por el hongo Phytophthora capsici Leonina, causa serias pérdidas en el rendimiento final de este cultivo, lo que se traduce en una disminución importante de su rentabilidad. Sus daños son considerables, llegando en ocasiones a niveles de incidencia de hasta un 50% a nivel de campo (Fernández, 1984). Además este patógeno tiene la capacidad de afectar tanto almácigos como plantaciones definitivas (Fernández, 1983), lo que dificulta aún más su control. La aplicación de fungicidas en forma continua logra reducir la incidencia de esta enfermedad, sin embargo esto ha significado adquirir resistencia de algunos productos utilizados para el control de Phytophthora capsici (Baker, 1974). Debido a lo anterior, la tendencia actual es reducir y racionalizar el uso de estos.

Durante los últimos años se han desarrollado nuevos métodos de control, dentro de un manejo integrado, pudiendo de este modo disminuir el uso de químicos sin que se afecte la eficiencia del control (Vicelli, 1988). Dentro de las alternativas que considera un manejo integrado se encuentra el control biológico. Este, según Garret (1965), consiste en la reducción del desarrollo, actividad y daño producido por un patógeno, producto de la intervención de otro organismo vivo (excepto el hombre).

Para Baker y Cook (1974), corresponde a la reducción de la densidad del inóculo o la actividad del patógeno o del parásito, activo o latente, ejercido por uno o más organismos en forma natural, a través del manejo del ambiente, del hospedero o del antagonista. Además, estos autores señalan que el control biológico raramente erradica el patógeno, pero sí reduce su población o su capacidad patológica.

Un microorganismo para convertirse en un agente eficaz de control biológico debe cumplir ciertos requisitos: a) debe tener una capacidad reproductiva más alta que el patógeno a controlar; b) debe ser genéticamente estable y tener un alto grado de especificidad con respecto al hospedero sobre el cual se pretende emplear; c) debe ser capaz de infectar y destruir eficazmente al eventual patógeno en un amplio rango de condiciones ambientales; d) debe ser inocuo para el hombre y los animales y e) debe tolerar la acción de otros antagonistas (Baker *et al.*, 1974; Daniel *et al.*, 1973, citado por Domínguez, 1994).

A través de los años, han sido numerosos los investigadores que se han visto atraídos por las características de Trichoderma spp., las cuales han sido estudiadas por más de 70 años. Sus propiedades como controlador biológico de múltiples patógenos de plantas (Cook, 1989; Cambell, 1989; Boland, 1998, citado por García, 2001), han implicado un alto grado de desarrollo tecnológico en su uso, lo cual ha dado como resultado en los últimos años la aparición de múltiples formulados comerciales de distintas cepas para el control de distintas enfermedades.

Trichoderma spp. podría constituir un eficaz biocontrolador del complejo de hongos del suelo que causa caída de plántulas en pimentón tales como, Pythium aphanidermatum, Pythium ultimum, Phytophthora capsici, Rhizoctonia solani y Fusarium oxysporum.

De acuerdo a lo anterior, esta investigación, tuvo como objetivo general evaluar el efecto como biocontrolador de tres cepas de Trichoderma spp. sobre los agentes causales de caída de plántulas en almácigo de pimentón.

Como objetivos específicos se señalan:

- Determinar la incidencia de caída de plántula en almácigo de pimentón tratados con tres cepas de Trichoderma spp.
- Asociar los síntomas observados en plantas enfermas a la presencia de los hongos causantes de caída de plántulas.
- Determinar si el desarrollo e incidencia de la enfermedad es proporcional a la humedad del suelo.
- Determinar la cepa de Trichoderma spp. que logra el mejor control de esta patología.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Generalidades

En el país se denomina pimiento a todas las especies de Capsicum annuum, sea esta picante o dulce, en donde el ají corresponde a los tipos picantes y el pimiento a los dulces. La superficie del cultivo del pimiento en el país asciende a aproximadamente 3.800 hectáreas, distribuidas entre la I y VIII región. El éxito del cultivo radica en que presenta tres destinos de consumo: pimiento en fresco, deshidratado y conserva. La producción de pimiento fresco en la temporada 2002 fue de 62.000 toneladas (ODEPA, 2003). La industria requiere de un abastecimiento continuo a lo largo del tiempo entre primavera y otoño, donde se presentan condiciones climáticas que inciden en el desarrollo de diversas enfermedades.

La producción de éste cultivo para la agroindustria se lleva a cabo principalmente entre las regiones IV a VII, siendo la VI y VII región donde se localizan las principales empresas procesadoras de este producto. (ODEPA, 2001).

2.2. Enfermedades en Pimentón

Los riesgos más comunes de enfermedades en el cultivo, son producidos por ataques de hongos, virus, bacterias y fitoplasmas. Las principales patologías del pimiento en el país se dividen en dos grupos: enfermedades de los almácigos y enfermedades de la plantación.

La “Caída de Plántulas” o “enfermedad de los almácigos”, corresponde a la destrucción rápida, y a veces total de las plantas en sus primeros días de vida por acción de diversos hongos patógenos que habitan en el suelo, cuyos daños son mundialmente conocidos.

Los principales hongos patógenos causales de la caída de plántulas en pimentón son; Pythium aphanidermatum, Pythium ultimum, Phytophthora capsici, Rhizoctonia solani y Fusarium oxysporum (Agrios, 1991).

La marchitez fungosa causada por Phytophthora capsici es el factor limitante más importante para la producción de Capsicum annuum en el mundo, causando importantes pérdidas, razón por la cual muchas áreas de cultivo son abandonadas o se desplazan hacia nuevos sitios libres de la presencia de este patógeno. Este hongo puede infectar a las plántulas sin manifestarse en los almácigos, reproduciendo posteriormente la enfermedad en el terreno definitivo, originando después del trasplante una importante infección, la cual se caracteriza por el desarrollo de una marchitez brusca, necrosis del sistema radicular y hojas secas que se mantienen unidas a las plantas (Nuez, Ortega y Costa, 1996).

El desarrollo de un control biológico efectivo contra especies de Phytophthora sp. ha estado lleno de dificultades producto de su capacidad de producir diversas formas de inóculo en forma rápida y repetidamente, su habilidad de penetrar e infectar plantas hospederas en pocas horas, su propensión a subsistir en suelos a profundidades que le permiten escapar de la mayoría de los antagonistas y en algunos casos, su amplio rango de hospederos (Erwin y Ribeiro, 1996). Sin embargo, existen diversas referencias sobre el uso de hongos basidiomicetes y otros, entre los que se cuentan hongos del suelo, como Trichoderma spp. para el control de distintas especies de Phytophthora sp.

2.3. Organismo causal

El agente causal de la marchitez del pimentón es Phytophthora capsici, el cual fue descrito en 1922 por Leonian. Este género de hongos se clasifica taxónomicamente dentro de la división Oomycota, orden Peronosporales (Sarasola y Rocca, 1975; Agrios, 1991).

Los hongos del género Phytophthora sp. causan importantes pérdidas económicas en un gran número de especies vegetales (Fernández, 1991). Se han identificado al menos 48 especies de este hongo afectando cultivos y frutales, causando en su mayoría problemas a nivel del suelo, ya sea en el sistema radical o el cuello de la planta (Latorre, 1992). Sólo algunas especies provocan daño al follaje y a los frutos (Latorre, 1992).

2.3.1. Morfología

Este hongo se caracteriza porque su micelio no presenta tabiques transversales (cenocítico), es multinucleado, hialino, ramifica en ángulos rectos con una ligera constricción en la base de cada ramificación y casi en forma frecuente presenta apéndices o ramificaciones vesiculosas, esféricas u ovoides pequeñas, las cuales pueden dar lugar a filamentos en cuyo ápice se forma un esporangio (Alfaro, 1971; Wilcox, Agosin y Latorre, 1993).

El tamaño y forma de los esporangios es muy variable en ésta especie, variando desde esféricos a ovoides o ligeramente alargados. Existen vesículas con uno o dos ápices, encontrando esporangios papilados (P. capsici), semipapilados (P. citricola) y no papilados (P. megasperma) (Wilcox, Agosin y Latorre, 1993).

Dentro de los esporangios se diferencian las zoosporas, las cuales constituyen el inóculo secundario de la enfermedad. Estas estructuras son reniforme biflageladas y son expulsadas a través del poro de salida luego que se desintegra la papila. Estas nadan por algunos minutos, pierden los flagelos y se enquistan, correspondiendo a la forma de reproducción asexual del hongo (Sarasola y Rocca, 1975). Aunque las zoosporas son móviles, no son capaces de desplazarse grandes distancias a no ser que sean diseminadas por el agua de riego (FAO, 1985, citado por Cerpa, 2001).

La oospora resulta de la fusión del anteridio (gameto masculino multinucleado desarrollado en el extremo de la hifa como pequeña vasícula) y el oogonio (gameto femenino, el que es esférico o piriforme, multinucleado, ligeramente amarillo, con paredes delgadas, separadas de la hifa por una septa). Se encuentra provista de paredes gruesas y lisas, pigmentadas ocupando casi completamente el oogonio una vez finalizada la unión sexual. En *P. capsici* no se advierte la formación de estructuras de resistencia como las clamidosporas (Sarasola y Roca, 1975).

2.3.2. Ciclo biológico

La mayoría de las especies de *Phytophthora* sp. son organismos habitantes del suelo con plena capacidad de multiplicación y de sobrevivencia en ausencia de plantas hospederas (Latorre, 1988). Esto significa que pueden vivir a expensas de residuos orgánicos o pueden permanecer en estado de latencia como clamidosporas, oosporas o micelio activo en la medida que éste perdure asociado a tejidos parasitados, los cuales originan las infecciones primarias (Nuez, Ortega y Costa, 1996).

Cuando las condiciones de temperatura y humedad del suelo se presentan favorables y el hospedero ha producido secreciones radicales como consecuencia de un anegamiento en el sector, la oospora germina, formando un esporangio, el cual da origen finalmente a las zoosporas (Wilcox y Latorre, 1994).

Las zoosporas se mueven hacia las raíces de plantas hospederas, germinan y penetran los tejidos o la corona (Wilcox y Latorre, 1994). De no haber infección, luego de tres a cinco días pierden movilidad, se enquistan, pierden los flagelos, permaneciendo latentes por aproximadamente 48 horas (Latorre, 1989; Wilcox, Agosin y Latorre, 1993).

El ciclo de vida de este hongo se caracteriza por un corto período de latencia, que facilita el establecimiento de la enfermedad en el huerto o cultivo. Posteriormente, los tejidos servirán de sustrato para la formación de nuevos esporangios, incrementando la población del patógeno, lo que resulta en un incremento de la enfermedad y un aumento en la extensión de ésta (Weste, 1987, citado por Cerpa, 2001).

Las fuentes de inóculo y las vías de dispersión incluyen el arrastre por lluvias o el agua de riego contaminada, el suelo que persiste adherido a los instrumentos de labranza, maquinaria y los materiales de propagación contaminados (Latorre, 1989; Agosin y Latorre, 1994).

2.3.3. Sintomatología

El tipo de síntoma estará en función de la especie y cultivar hospedante, de la especie de Phytophthora sp. y además del clima (Wilcox y Latorre, 1994). Phytophthora capsici puede provocar daños en cualquier parte de la planta y en cualquier estado de desarrollo (Nuez, Ortega y Costa, 1996), sin embargo, la edad del hospedero en general, es un factor que determina el ataque del patógeno, siendo más rápido en las plantas jóvenes que en las adultas (Fernández, 1983).

2.3.3.1. Almácigo

En almácigos la enfermedad se presenta en dos estados de desarrollo definidos. La primera fase, llamada "Caída de Preemergencia", se presenta después de la siembra y antes de que las semillas germinen, o bien inmediatamente después de la germinación, pero antes de que emerjan sobre la superficie del suelo, produciéndose pudrición y una rápida destrucción de los tejidos vegetales.

La segunda fase, denominada "Caída de Postemergencia", se produce cuando las plántulas ya han emergido a la superficie. El hongo penetra los tejidos blandos y suculentos a nivel del cuello y de las raíces, las plantas afectadas presentan una mancha acuosa, de color castaño rojizo que avanza hacia arriba y llega a cubrir todo el contorno del tallo, en la porción basal del tallo se produce estrangulamiento, lo que hace que la plántula pierda firmeza y capacidad de soporte produciendo finalmente la caída y muerte de éstas (Nuez, Ortega y Costa, 1996).

El período de mayor susceptibilidad es desde emergencia hasta que las plantas alcanzan un desarrollo de 2 a 3 hojas verdaderas. Pasado éste, los tejidos se endurecen y el riesgo de caída disminuye. Un almácigo puede ser destruido totalmente en 24 a 48 horas si las condiciones predisponentes de la enfermedad se mantienen (Sarasola y Roca, 1975).

2.3.3.2. Plantas establecidas

Posterior al trasplante, la enfermedad se manifiesta tarde en la temporada y el número de plantas enfermas aumenta en forma progresiva a medida que se acerca la madurez (Fernández, 1983). La podredumbre del cuello y la subsiguiente marchitez brusca de las plantas son los síntomas más característicos. En el cuello de la planta enferma puede observarse una zona anular deprimida de color negruzco, la cual afecta primero a los tejidos corticales y posteriormente a los vasculares. Este fenómeno se produce de una forma tan rápida que las hojas se muestran colgantes, pero conservando inicialmente su color verde (Nuez, Ortega, y Costa, 1996).

La piel de los frutos sufre un arrugamiento y presenta lesiones aisladas de color verde más claro y de aspecto húmedo, cubriéndose posteriormente con colonias de Fusarium sp., Alternaria sp. o bacterias (Moreno y Vegh, 1971; Fernández, 1983). Las semillas también pueden ser atacadas por el hongo, quedando de color pardo y arrugadas (Sarasola y Roca 1975; Bruna, 1996, citado por Cerpa, 2001).

2.3.4. Humedad de suelo

Un factor que favorece el desarrollo de la enfermedad, es el manejo inadecuado del agua de riego, ya que por ser un hongo habitante del suelo es fácilmente transportable por el agua. De esta forma, condiciones de alta humedad favorecen la aparición de esta patología. Cuando las condiciones de temperatura y humedad son adecuadas para la germinación de las oosporas y desarrollo de los esporangios, se liberan las zoosporas.

La diseminación más habitual de este hongo es a través del agua de riego contaminada que puede trasladar a las zoosporas. Estas últimas se desplazan a cortas distancias alrededor de las raíces con las que entran en contacto, formando un quiste, que germina y penetra el tejido (Agrios, 1991; Wilcox y Latorre, 1994).

La alta humedad del suelo y las condiciones anaeróbicas afectan la fisiología de las raíces, aumentando la severidad de caída de plántulas y las pudriciones radiculares (Sarasola y Roca, 1975). La severidad de caída de plántulas es proporcional a la humedad del suelo y aumenta cerca del punto de saturación. Sin embargo, la saturación afecta a los patógenos debido a la disminución del oxígeno disponible y la temperatura de estos suelos (Agrios, 1971; Paulitz y Baker, 1987)

2.3.5. Control de la marchitez de pimentón

En el caso del cultivo del pimentón (*Capsicum annuum*) y del patógeno *Phytophthora capsici*, los manejos más frecuentes e importantes que se realizan para una buena sanidad, incluyen labores culturales, control químico, biológico y utilización de cultivares resistentes.

2.3.5.1. Medidas de control cultural

En preplantación se recomienda visitar periódicamente la almaciguera, para cerciorarse de una completa sanidad de las plantas con el objeto de impedir la introducción del patógeno en el cultivo (Gonzalez y Ruz, 1994; Sanders, 1991, citado por Brunel, 1996) considerando finalmente la selección de plantas sanas al momento de establecer el cultivo.

Otro medio de infección lo puede constituir el suelo contaminado que se encuentre adherido a los materiales, maquinaria o equipos utilizados en la labranza, y por la acción del viento, el cual infecta las semillas trasladando el inóculo a sectores no contaminados. La susceptibilidad genética es otro factor que favorece la manifestación de esta enfermedad, al igual que la cantidad de inóculo presente en el suelo (Wilcox y Latorre, 1994).

El manejo del agua es el factor más importante para prevenir esta enfermedad, por lo tanto, como medidas de control cultural se recomiendan todas aquellas que eviten su exceso en las proximidades del cuello de la planta, tales como, evitar encharcamientos mediante la utilización de parcelas bien drenadas y niveladas, regar con cantidades moderadas de agua.

Al plantar en camellones altos (30 cm. de altura) se evita el contacto de las raíces con el patógeno y de este modo se disminuye considerablemente la incidencia y severidad de la pudrición por Phytophthora capsici (Fernández, 1984).

Si las características de textura del terreno son favorables para el desarrollo de esta enfermedad, principalmente suelos arcillosos, es importante considerar el uso de variedades tolerantes o resistentes (FAO, 1985). La existencia de ellos nos ayuda a ampliar el área de cultivo de la especie agronómica y reducir la necesidad de otras medidas de control (Wilcox y Latorre, 1994).

Se recomienda una rotación de cultivos, generalmente, con especies anuales. El objetivo primordial, de esta medida, es interrumpir el ciclo de vida del patógeno (Gonzalez y Ruz, 1994; Sanders, 1991).

2.3.5.2. Control biológico

En la búsqueda de controladores biológicos de este patógeno se han encontrado ciertos Ascomycetes, bacterias y hongos antagónicos a Phytophthora capsici, los cuales se encuentran en forma natural en los suelos en donde se cultivan las plantas de pimentón. Dentro de estas bacterias y hongos antagónicos se pueden mencionar Streptomyces violaceoniger, Pseudomonas cepacia, Pseudomonas aeruginosa y Trichoderma harzianum, los cuales han demostrado bajo condiciones de laboratorio ser muy eficientes en el control de especies del género Phytophthora sp. Este control sobre el hongo, sería en base a antibiosis y competencia (Hwarg, 1995, citado por Niedmann, 1998).

2.3.5.3. Control químico

En cuanto al uso de productos químicos se destacan fungicidas como Fenilamidas (Metalaxilo, benalaxilo, furalaxilo) y fosfonatos (Fosetil aluminio, ácido fosforoso) los que se caracterizan por presentar una alta especificidad sobre Oomicetes, alta solubilidad y bajo coeficiente de adsorción en arcillas y materia orgánica. Esto favorece la movilidad de los productos en el suelo y una alta permanencia en algunos casos de hasta 90 días y finalmente una alta sistemicidad acropetala e incluso basipetala en el caso de los fosfonatos. Cabe mencionar que tales fungicidas resultan poco eficientes mientras persistan condiciones excesivamente húmedas en el suelo (Latorre, 1992; Wilcox y Latorre, 1994).

2.4. Trichoderma spp.

Numerosos trabajos señalan a distintas especies de Trichoderma spp. como importantes agentes para el biocontrol de las enfermedades producidas por un amplio rango de patógenos (Cook 1989).

En 1939 Bisby confirmó la relación entre Hypocrea y Trichoderma spp. reconociendo así la capacidad del hongo de reproducirse en forma asexual (anamorfo) y sexual (teleomorfo) (Cook 1989; Papaviza 1985). En 1969 Rifai, clasificó 9 especies para este género basándose en características morfológicas. Dentro de éstas encontramos a T. harzianum Rifai, una de las especies más ampliamente estudiadas por su capacidad antagónica hacia diversos hongos fitopatógenos (Cook 1989; Papaviza 1985, citado por Domínguez, 1994).

Las diferentes especies de estos biocontroladores crecen rápido en medio de cultivo en laboratorio formando colonias blancas, las cuales se compactan luego de la formación de conidias adquiriendo una coloración generalmente verdosa o azulada (Awad 1993; Cook 1989, citado por Domínguez, 1994). Trichoderma spp. germina fácilmente sobre muchos substratos en condiciones in vitro, ya que los nutrientes que entregan los medios de cultivo son suficientes para iniciar y sostener la germinación (González, 2001).

De acuerdo con Alexopoulos (1979), Trichoderma spp, se encuentra taxonómicamente en la subdivisión: Deuteromycotina; Clase: Deuteromycetes; Subclase: Hyphomycetidae; Orden: Moniliales y Familia: Moniliaceae.

Este género corresponde a hongos que se encuentran presentes sustancialmente en casi todos los suelos agrícolas y en otros ambientes, como madera en descomposición (Harman, 2001). En general, se distribuyen de acuerdo a patrones específicos como ubicación geográfica, humedad, temperatura y pH del suelo, propiedades químicas, contenidos orgánicos y salinos. Asimismo, Trichoderma spp. parece ser un colonizador secundario, ya que es frecuentemente aislado desde materia orgánica en descomposición. Se ha visto que ciertas especies sobreviven cuando las temperaturas prevalentes son bajas, mientras que otras se desarrollan mejor en regiones cálidas.

Las especies de Trichoderma spp. son fotosensibles, esporulando sobre sustratos naturales o artificiales y respondiendo a la alternancia diurna de luz y sombra, con producción de conidias durante el período de luz (González, 2001).

La sobrevivencia en el suelo de Trichoderma spp. se basa en su habilidad para degradar sustratos orgánicos, su versatilidad metabólica y su capacidad inhibitoria microbiana, lo que sugiere que puede sobrevivir en variados nichos ecológicos dependiendo de las condiciones existentes y de la cepa o especie involucrada (González, 2001).

2.4.1. Mecanismos de acción de Trichoderma spp.

Micoparasitismo, antibiosis y competencia por nutrientes o espacio se han considerado siempre los mecanismos con que Trichoderma spp. actúa frente al patógeno. Además confiere a la planta tolerancia a estrés, a través del incremento en el desarrollo de raíces y parte aérea, resistencia inducida y solubilización e inactivación de enzimas en patógenos. No se descarta la posibilidad de la existencia de otros mecanismos aún no descubiertos (Harman, 2000).

2.4.1.1. Micoparasitismo

Consiste en la capacidad del biocontrolador, de interferir con el crecimiento de las hifas del patógeno desarrollándose alrededor de ellas, para su posterior degradación y asimilación (Cook,1989, Harman,2001, Campbell,1989). Este mecanismo afecta tanto a micelio, conidias y estructuras de resistencias como esclerocios. Así el proceso de micoparasitismo involucraría detección del patógeno, seguido por un crecimiento dirigido, contacto, reconocimiento, adhesión al patógeno, penetración y salida.

Sin embargo, no todos estos pasos ocurren en esta interacción y en todos los organismos involucrados. La adhesión del biocontrolador al microorganismo puede estar dada por interacciones hidrófobas o entre moléculas complementarias presentes en la superficie de ambos organismos o bien entre lectinas y carbohidratos.

2.4.1.2. Antibiosis

Es la inhibición o destrucción de un organismo producto de la acción de metabolitos del otro, los que al penetrar en la célula causan toxicidad química, pudiendo ser letales (Baker y Cook, 1974). Varios de estos compuestos son producidos in vitro e in vivo a partir de la materia orgánica del suelo (González, 2001).

Además de micotoxinas se liberan enzimas extracelulares, las que degradan las paredes de los hongos y además generan resistencia inducida en las plantas, incluso para enfermedades de follaje como es el caso de Botrytis sp. (Cook,1989; Harman ,2003; Campbell ,1989).

2.4.1.3. Competencia

La competencia es la habilidad de un organismo de utilizar un sustrato en forma más eficiente que otro. En esencia, esta competencia es por nutrientes (particularmente por carbohidratos de alta energía y nitrógeno) y por ciertos factores de crecimiento como oxígeno y espacio. El género Trichoderma spp. es un agresivo competidor de muchos patógenos, muchos de los cuales limitan la secreción de exudados desde las raíces (Baker y Cook, 1974, citado por González, 2001).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del ensayo

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias, ubicado en el Campus Lircay de la Universidad de Talca. El período de pruebas y evaluaciones se desarrolló desde diciembre de 2003 a enero de 2004.

3.2. Material vegetal

Con el fin de evaluar in vivo la acción de Trichoderma spp. en el control de caída de plántulas en pimentón se utilizaron plántulas de esta especie cv. Fyuco, variedad recomendada para cultivo al aire libre, presenta un excelente potencial de rendimiento. Para ello se hicieron almácigos en bandejas speedling con un sustrato compuesto por una mezcla de suelo, turba y perlita (3:1:1/2, v/v/v). En esta mezcla no esterilizada con antecedentes de caída de plántulas causada por Phytophthora capsici fueron sembradas 3 semillas de pimentón por cada celdilla.

3.3. Obtención de Trichoderma spp.

Los biocontroladores a utilizar fueron cepas nativas de Trichoderma harzianum, Trichoderma parcenamosum, Trichoderma virens y una combinación de las tres cepas. Estas, se obtuvieron del Laboratorio de Fitopatología de la Universidad de Talca, las cuales fueron identificadas y evaluadas durante tres años de estudio, a través de un proyecto de investigación desarrollado en la Universidad de Talca financiado por la Fundación para la Innovación Agraria (FIA) (98-1-A-572). La concentración de conidias de las cepas de Trichoderma spp. correspondió a 10^6 conidias/ml la que se contabilizó a través del microscopio.

3.4. Aplicación de Trichodermas spp. y riego

La aplicación de los tratamientos con las cepas de Trichoderma spp. se efectuó el 29 de diciembre de 2003. Se utilizó una dosis de 2 ml de Trichoderma spp. en una concentración de 10^6 conidias/ml diluídas en 10 ml de agua destilada la que fue aplicada inundando cada celdilla, según el tratamiento correspondiente. Con el fin de asegurar el establecimiento adecuado de Trichoderma spp. en el suelo, a los 6 días después de la primera aplicación se aplicó nuevamente el biocontrolador en la dosis señalada anteriormente.

Con el objetivo de proporcionar a las semillas de pimentón un ambiente adecuado para la germinación durante los primeros días después de siembra no hubo diferenciación en la frecuencia de riego, según el tratamiento, en este periodo. Sólo a partir de los 15 días posteriores a la siembra se diferenciaron los riegos en cuanto a la frecuencia (riego diario o cada tres días).

3.5. Aislación de patógenos asociados a caída de plántulas

La aislación de los posibles patógenos asociados a la enfermedad se realizó desde tejido infectado de plántulas de pimentón provenientes de los distintos tratamientos que presentaron síntomas propios de esta patología. Para tal fin, éste se lavó cuidadosamente con agua destilada, con el fin de eliminar completamente restos de suelo y partículas anexas que pudieran llevar algún tipo de contaminante, desinfectando posteriormente la muestra superficialmente con etanol al 70%. Luego, se procedió a remover un trozo de aproximadamente 0,5 cm. del tejido desde la zona de avance de la enfermedad. Este se ubicó en el centro de una placa petri conteniendo como medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (ADP) al 2% (20 g/L), el cual fue esterilizado en autoclave a 121 °C y 20 psi de presión. Este medio se seleccionó, en base a lo señalado por Sarasola y Roca (1971), quienes concluyeron que Phytophthora capsici y otros hongos asociados a caída de plántulas crecen bien en este sustrato.

La identificación de la especie aislada se efectuó en base a las características morfológicas del hongo, como son sus estructuras reproductoras y el tipo de crecimiento del micelio (Fernández, 1983; Latorre, 1991).

3.6. Evaluaciones

Durante el desarrollo de la investigación se evaluó incidencia, severidad y peso fresco final (evaluada 30 de enero de 2004).

Las evaluaciones fueron realizadas en dos oportunidades, siendo la primera a los 11 días desde la segunda aplicación de Trichoderma spp. y la segunda 7 días más tarde, en donde finalmente se midió el peso fresco

A través de la observación visual, se procedió a buscar síntomas asociados a caída de plántula en cada tratamiento y repetición, con fin de cuantificar la incidencia y medir severidad.

La incidencia se expresó en %, utilizando la fórmula empleada por Ogawa (1986):

$$\text{Incidencia (I)} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de individuos afectados}}{\text{Total individuos}} * 100$$

Por otra parte para determinar la severidad de la enfermedad, se utilizó la siguiente escala numérica:

- 1 = Plántula sana
- 2 = Plántula con marchitez moderada
- 3 = Plántula muerta

3.7. Diseño experimental

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar, con arreglo factorial (5x2), con los siguientes niveles para cada factor: Trichoderma spp. (cepas Queule, Trailes, Sherwood, combinación de las tres cepas y Testigo); frecuencia de riego: riego diario y riego cada tres días. Esto origino un total de 10 tratamientos, cada uno con cuatro repeticiones. Cada unidad experimental estuvo compuesta por diez plántulas.

Los Tratamientos evaluados, en el control de caída de plántulas en pimentón se presentan a continuación en el cuadro 3.1.

Cuadro 3.1. Tratamientos utilizados para evaluar in vivo la acción de Trichoderma spp. en el control de caída de plántulas en pimentón cv. Fyuco. Temporada 2003/2004, Talca.

Tratamiento	Especie de <u>Trichoderma</u> spp	Frecuencia de riego
1	<u>Trichoderma harzianum</u> cepa Queule	Frecuencia de riego diaria
2	<u>Trichoderma parcenamosum</u> cepa Trailes	Frecuencia de riego diaria
3	<u>Trichoderma virens</u> cepa Sherwood	Frecuencia de riego diaria
4	Combinacion cepas <u>Trichoderma</u> spp.	Frecuencia de riego diaria
5	Sin aplicación de <u>Trichoderma</u> spp.	Frecuencia de riego diaria
6	<u>Trichoderma harzianum</u> cepa Queule	Frecuencia de riego cada tres días
7	<u>Trichoderma parcenamosum</u> cepa Trailes	Frecuencia de riego cada tres días
8	<u>Trichoderma virens</u> cepa Sherwood	Frecuencia de riego cada tres días
9	Combinacion cepas <u>Trichoderma</u> spp.	Frecuencia de riego cada tres días
10	Sin aplicación de <u>Trichoderma</u> spp.	Frecuencia de riego cada tres días

3.8. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA). Los datos de incidencia y severidad fueron transformados a valores angulares mediante la función $\arcsen (\%/100)^{1/2}$ según lo descrito por Little y Hills (1985), para cumplir con los supuestos de normalidad del análisis de varianza. La comparación entre medias se efectuó a través de la prueba de Duncan ($p \leq 0.05$) (Steel and Torrie, 1980). Para lo anterior se empleó el programa estadístico Statgraphics plus versión 1.4.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Efecto de distintos tratamientos de riego y aplicación de Trichoderma spp. sobre la incidencia de caída de plántulas de pimentón

En el cuadro 4.1. se muestran los resultados obtenidos correspondientes a los dos períodos de evaluación de incidencia de caída de plántulas, expresada como porcentaje de plántulas enfermas sobre el total de los distintos tratamientos evaluados en el control de caída de plántulas.

Cuadro 4.1 Efecto de dos frecuencias de riego y aplicación de tres cepas de Trichoderma spp. sobre el control de caída de plántulas en pimentón. Temporada 2003/2004, Talca.

Tratamiento	Incidencia expresada en %	
	Primera evaluación	Segunda evaluación
Riego (A)		
1 Riego Diario	35,79	41,55
2 Riego Cada Tres Días	32,05	35,53
Significancia	n.s	n.s
Trichoderma (B)		
1 T. harzianum	7,47 a ¹	8,49 a
2 T. parcenamosum	26,64 b	34,41 b
3 T. virens	40,50 c	43,63 bc
4 Combinación de T. spp.	41,36 c	48,77 cd
5 Sin aplicación de T. spp.	53,64 d	57,39 e
Significancia	**	**
Interacción (A x B)	**	**

n.s.: no significativo. **: altamente significativo.

¹Valores seguidos por la misma letra en la columna no difieren estadísticamente, según prueba de Duncan con $p \leq 0,05$

Al observar el análisis estadísticos correspondiente a la interacción de los factores, Riego y Trichoderma spp. en los dos períodos de evaluación se pudo observar una dependencia altamente significativa entre ellos, cuyo comportamiento se aprecia en la figura 4.1. y 4.2. Respecto al análisis estadístico de los datos correspondiente al efecto de las frecuencias de riego, siendo estas, frecuencia de riego diaria (1) y frecuencia de riego cada tres días (2) en relación a la incidencia de caída de plántulas, se puede ver que no se presentaron diferencias significativas entre éstas en ambos períodos de evaluación. Por otra parte, para los tratamientos correspondientes a aplicaciones de tres cepas de Trichoderma spp., se obtuvo diferencias altamente significativas, observándose que existe un claro efecto entre los niveles de incidencia de caída de plántulas y la aplicación de Trichoderma spp. en ambos períodos de evaluación. Dentro de este contexto, además se observó que todos los tratamientos a los cuales se aplicó Trichoderma spp. presentaron una mejor respuesta, en relación a los tratamientos que no recibieron ninguna aplicación.

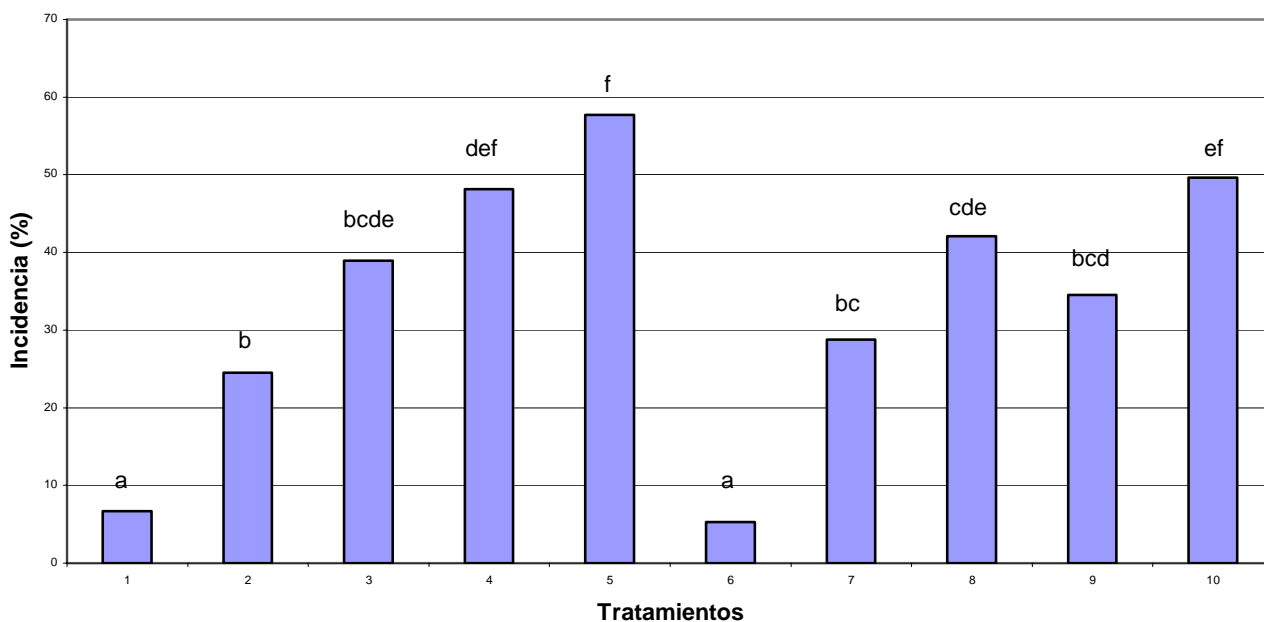


Figura 4.1. Efecto de la aplicación de dos frecuencias de riego y Trichoderma spp., sobre la incidencia de caída de plántulas en pimentón, cv. Fyuco. Primera evaluación de incidencia. Donde T1: T. harzianum más riego diario, T2: riego diario más T. parcenamosum, T3: riego diario más T. virens, T4: riego diario más combinación de las tres cepas de T. spp., T5: riego diario sin aplicación de T. spp., T6: riego cada tres días más T. harzianum, T7: riego cada tres días más T. parcenamosum, T8: riego cada tres días más T. virens, T9: riego cada tres días más combinación de las tres cepas de T. spp., T10: riego cada tres días sin aplicación de T. spp. Temporada 2003/2004, Talca.

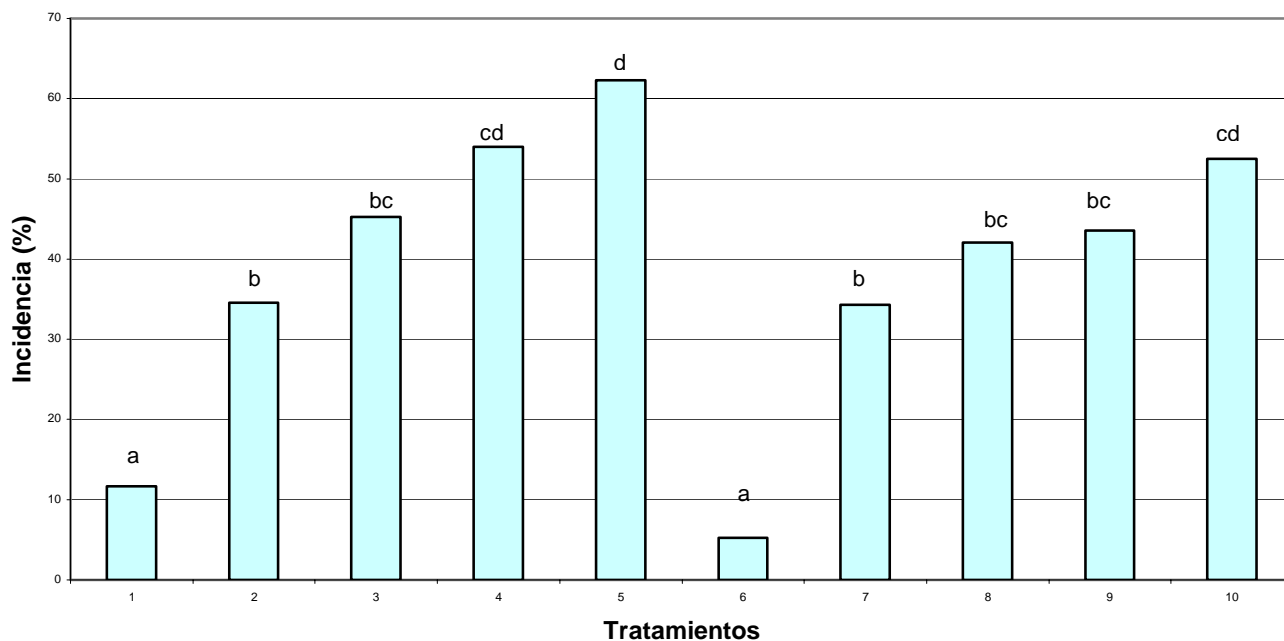


Figura 4.2. Efecto de la aplicación de dos frecuencias de riego y *Trichoderma* spp., sobre la incidencia de caída de plántulas en pimentón, cv. Fyuco, correspondiente a la segunda evaluación de incidencia. Donde T1: *T. harzianum* más riego diario, T2: riego diario más *T. parcenamosum*, T3: riego diario más *T. virens*, T4: riego diario más combinación de las tres cepas de *T. spp.*, T5: riego diario sin aplicación de *T. spp.*, T6: riego cada tres días más *T. harzianum*, T7: riego cada tres días más *T. parcenamosum*, T8: riego cada tres días más *T. virens*, T9: riego cada tres días más combinación de las tres cepas de *T. spp.*, T10: riego cada tres días sin aplicación de *T. spp.* Temporada 2003/2004, Talca.

En la figura 4.1. y 4.2. se puede observar que los tratamientos testigo (T5 y T10) presentaron el mayor porcentaje de plántulas enfermas, sin embargo el segundo de ellos, que se regó cada tres días, no difirió estadísticamente de los tratamientos 3 (aplicación de riego diario y *Trichoderma virens*), 4 (aplicación de riego diario y combinación de las tres cepas de *Trichoderma* spp.), 8 (aplicación de riego cada tres días y *Trichoderma virens*) y 10 (aplicación de riego cada tres días y sin aplicación de *Trichodermas* spp.) Por el contrario, se observa que los tratamientos que presentaron una menor incidencia fueron los tratamientos, T1 y T6 a los cuales se le aplicó *Trichoderma harzianum*.

Ambos presentaron un menor número de plántulas enfermas independiente de la tasa de riego para cada tratamiento (diaria y cada tres días respectivamente).

Por otra parte, se puede observar en la Figura 4.2. que pese de que no existen diferencias estadísticas los tratamientos a los cuales se regó cada tres días presentaron una menor incidencia en términos generales con respecto a los tratamientos que fueron regados diariamente, al comparar las mismas cepas de Trichoderma spp. para ambas frecuencias. Además se observa claramente un efecto de la frecuencia de riego sobre la eficiencia de algunas cepas de Trichoderma spp. (Tratamientos 4 y 9) en el control de ésta enfermedad. Condiciones de mayor humedad o saturación en el suelo favorecen el desarrollo de algunos hongos asociados a caída de plántulas como Phytophthora capsici. Además el uso de agua provoca condiciones de estrés a las plántulas las que pueden hacer más susceptibles al ingreso de patógenos. Es probable que bajo una condición de exceso de humedad aún más extrema (2 a 3 riegos diarios) la eficiencia de Trichoderma spp. en el control de esta patología se hubiese visto aún más afectada.

Estos resultados son comparables a los obtenidos por Sid Ahmed et al., 2000, quienes evaluaron la inducción de un sistema de resistencia en plantas de pimentón (Capsicum annuum). Los resultados de este estudio señalan que aplicaciones de Trichoderma harzianum inducen un sistema de defensa de la planta en contra de P. capsici reduciendo a la mitad la necrosis del tallo síntoma que provoca la caída de plántulas en pimentón causada por éste patógeno. Otros estudios realizados por los mismos autores, quienes evaluaron in vitro e in vivo el uso de Trichoderma harzianum para el control de Phytophthora capsici, señalan que el uso éste biocontrolador en ambos medios redujo significativamente la pudrición de raíces causada por P. capsici en plantas de pimentón. Esta reducción estaría relacionada con una disminución en la densidad de la población del patógeno debido al uso de este controlador biológico

4.2. Efecto de distintos tratamientos de riego y aplicación de Trichoderma spp. sobre la severidad de caída de plántulas en pimentón.

El cuadro 4.2. muestra los resultados obtenidos correspondientes a la primera evaluación de severidad de los diferentes tratamientos evaluados en el control de caída de plántulas.

Cuadro 4.2. Efecto de dos frecuencias de riego y aplicación de tres cepas de Trichoderma spp. sobre la severidad de caída de plántulas en pimentón. Datos correspondientes a la primera evaluación. Temporada 2003/2004, Talca.

Tratamiento	Índice de Severidad		
	1	2	3
Riego (A)			
1 Riego Diario	48,15	13,14	37,41
2 Riego Cada Tres Días	53,19	11,63	31,76
Significancia	n.s	n.s	n.s
Trichoderma (B)			
1 T. harzianum	81,50 a ¹	3,09	11,51 a
2 T. parcenamosum	53,16 b	22,33	25,92 b
3 T. virens	43,41 c	12,1	40,50 c
4 Combinación de T. spp.	40,38 c	19,12	41,36 c
5 Sin aplicación de T. spp.	34,90 c	5,28	53,64 d
Significancia	**	n.s	**
Interacción (A x B)	**	n.s	**

n.s.: no significativo. **: altamente significativo.

¹Valores seguidos por la misma letra en la columna no difieren estadísticamente, según prueba de Duncan con $p \leq 0,05$

En la primera evaluación de severidad se puede observar que la interacción de los tratamientos, Riego y Trichoderma spp. para los índices de severidad 1 y 3 mostraron una dependencia altamente significativa. Por otra parte, la influencia de las frecuencias de riego en relación a los índices de severidad no presentaron diferencias estadísticas. Sin embargo, en la aplicación de Trichoderma spp. se observan diferencias altamente significativas para los índices de severidad 1 y 3 los que equivalen a plántulas sanas y plántulas muertas respectivamente.

En el cuadro 4.3. se observan los resultados correspondientes a la segunda evaluación de severidad para los diferentes tratamientos evaluados en el control de caída de plántulas.

Cuadro 4.3. Efecto de dos frecuencias de riego y aplicación de tres cepas de *Trichoderma* spp. sobre la severidad de caída de plántulas en pimentón. Datos correspondientes a la segunda medición. Temporada 2003/2004, Talca.

Tratamiento	Índice de Severidad		
	1	2	3
Riego (A)			
1 Riego Diario	46,97 a	35,07 a	43,01 b
2 Riego Cada Tres Días	53,20 b	16,82 b	35,53 a
Significancia	*	**	**
Trichoderma (B)			
1 <i>T. harzianum</i>	79,3 a ¹	6,29 a	10,68 a
2 <i>T. parcenamosum</i>	53,16 b	20,68 b	34,41 b
3 <i>T. virens</i>	44,16 c	25,17 b	45,10 c
4 Combinación de <i>T. spp.</i>	41,21 c	25,21 b	48,77 cd
5 Sin aplicación de <i>T. spp.</i>	32,6 d	52,36 c	57,39 d
Significancia	**	**	**
Interacción (A x B)	**	**	**

n.s.: no significativo. **: altamente significativo.

¹Valores seguidos por la misma letra en la columna no difieren estadísticamente, según prueba de Duncan con $p \leq 0,05$

Al observar el cuadro 4.3. correspondiente a la segunda evaluación de incidencia se puede ver que la interacción entre los dos factores evaluados (frecuencia de riego y distintas cepas del biocontrolador) fue altamente significativas. *Trichoderma harzianum* logró el mayor porcentaje de plántulas con índice de severidad de la enfermedad 1 equivalente a plántulas sanas. En relación a la influencia de las frecuencias de riego sobre los índices de severidad se observan diferencias estadísticas. Para los grados de severidad 1 y 3 la mejor frecuencia de riego fue cada tres días no así para el índice de severidad 2.

El que casi siempre la interacción entre los dos factores evaluados, para los dos períodos de evaluación haya sido altamente significativa, indica una dependencia entre ambas variables. La única excepción la constituye el índice de severidad 2 para la primera evaluación.

Al comparar la evolución de los porcentajes de plántulas sanas, con síntomas y muertas, a lo largo de la evaluación, se observan diferencias moderadas en el efecto de la frecuencia de riego. Así en la primera evaluación en el Cuadro 4.2. no se observaron diferencias estadísticas entre ambas, sin embargo, en la segunda evaluación estas si existieron. Esta diferencia podría explicarse, debido a que sólo tres días antes de realizar la primera evaluación se estableció la diferenciación entre las frecuencias de riego, (diaria y cada tres días) por lo que en la segunda medición el efecto de este factor se pudo notar de mejor forma debido a las diferencias en el contenido de humedad existente en el suelo condición determinante en el desarrollo de patógeno.

En lo referente a la aplicación de Trichoderma spp. se puede observar que para que los mejores tratamientos fueron los que incluyeron a Trichoderma harzianum cepa Queule. A partir de la primera medición el tratamiento con este aislado comenzó a mostrar un mejor control, lo cual se repitió en la segunda evaluación.

4.3. Efecto de distintos tratamientos de riego y aplicación de Trichoderma spp. sobre el peso fresco final de plántulas de pimentón.

En el cuadro 4.4. se presentan los resultados obtenidos respecto al peso fresco final promedio por plántula para cada uno de los tratamientos evaluados.

Cuadro 4.4. Efecto de dos frecuencias de riego y aplicación de tres cepas de Trichoderma spp, sobre el peso fresco final por plántula de pimentón. Temporada 2003/2004, Talca.

Tratamiento	Peso fresco (gr.)
Riego (A)	
1 Riego Diario	1,94 b
2 Riego Cada Tres Días	2,4 a
Significancia	**
Trichoderma (B)	
1 T. harzianum	4,08 a ¹
2 T. parcenamosum	2,59 b
3 T. virens	1,88 c
4 Combinación de T. spp.	1,54 c
5 Sin aplicación de T. spp.	0,75 d
Significancia	**
Interacción (A x B)	**

**.: altamente significativo

¹Valores seguidos por la misma letra en la columna, no difieren estadísticamente, según prueba de Duncan $p \leq 0,05$

En el cuadro 4.3. se observa el análisis estadístico de los datos correspondiente al efecto de las frecuencias de riego y aplicación de Trichoderma spp. sobre el peso fresco final se pueden ver diferencias altamente significativas entre la interacción de los factores cuya tendencia se observa en la figura 4.3.

Por otra parte con una frecuencia de riego cada tres días, se logró una mejor respuesta para este parámetro, lo que indica que el riego diario produjo una condición de estrés a las plántulas. En relación a la aplicación de *Trichoderma* spp. se observaron diferencias altamente significativas entre las distintas cepas. Además se puede ver que todos los tratamientos a los cuales se aplicó el biocontrolador obtuvieron una mayor acumulación de peso fresco, en relación al tratamiento que no recibió ninguna aplicación. Esto indicaría un efecto estimulador sobre el crecimiento de este hongo.

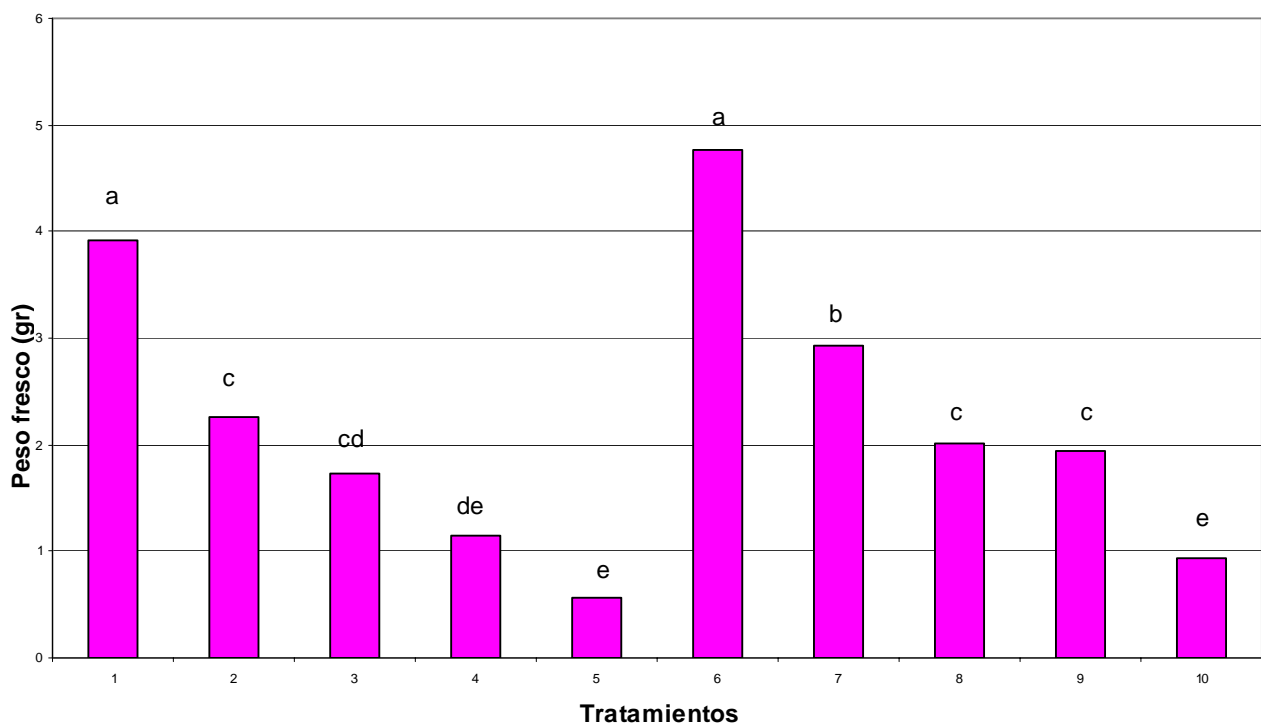


Figura 4.3. Efecto de la aplicación de dos frecuencias de riego y *Trichoderma* spp., sobre el peso fresco de plántulas en pimentón, cv. Fyuco, evaluadas a los 38 días después de siembra. Donde T1: *T. harzianum* más riego diario, T2: riego diario más *T. parcenamosum*, T3: riego diario más *T. virens*, T4: riego diario más combinación de las tres cepas de *T. spp.*, T5: riego diario sin aplicación de *T. spp.*, T6: riego cada tres días más *T. harzianum*, T7: riego cada tres días más *T. parcenamosum*, T8: riego cada tres días más *T. virens*, T9: riego cada tres días más combinación de las tres cepas de *T. spp.*, T10: riego cada tres días sin aplicación de *T. spp.*

En la figura 4.3. se puede observar que los tratamientos a los cuales se aplicó Trichoderma harzianum presentaron un mayor peso fresco, independiente de la frecuencia de riego. Sin embargo, se puede apreciar en forma general que para una misma cepa, aquella regada cada tres días obtuvo un mayor peso fresco respecto a la con una mayor frecuencia. Los tratamientos que presentaron el menor peso fresco correspondieron a los testigos. Índices como peso fresco, peso seco, altura de plantas han sido evaluados anteriormente por distintos autores, tales como Lindsey and Baker (1967), quienes observaron que algunos hongos podían inducir efectos similares al de reguladores de crecimiento en las plantas. Posteriormente Windham et al., (1986) avalaron estos resultados concluyendo que Trichoderma harzianum incrementa el crecimiento de las plantas por medio de la producción de un factor regulador del crecimiento, el cual aumentaría la tasa de germinación de semillas y el peso seco de brotes y tallos.

4.4. Identificación del Patógeno

La identificación de los aislamientos efectuados según el método descrito por Wilcox et al., (1993) y los estudios realizados para su identificación en el que se consideraron características morfológicas de las colonias, esporangios, temperatura de crecimiento, se pudo determinar que el patógeno aislado responsable de la caída de plántulas era Phytophthora capsici, también se identificó a Fusarium sp., el cual de acuerdo con Bartual et al., (1991), es un asiduo colonizador de las raíces de este cultivo; sin embargo no sería un hongo patogénico para éste.

Las formas de esporangios observados a través del microscopio eran en la mayoría ovoides, elipsoides, obpiriformes (forma de pera) e irregulares. Asimismo algunos presentaban una forma esférica papilada con dos ápices. Estas estructuras no formaban proliferaciones internas. La forma del ápice en estos esporangios era papilada presentando en algunos casos uno o dos ápices, siendo los más abundantes los monopapilados. Los esporangios formados tenían la capacidad de desprenderse del esporangioforo, es decir, eran caducos. Finalmente se observaron largos pedicelos en los esporangios formados.

CONCLUSIONES

- El hongo aislado a partir de las plántulas de pimentón con síntomas de marchitez y plántulas muertas corresponde a la especie Phytophthora capsici.
- La interacción de los factores riego y Trichoderma spp. fue altamente significativa.
- De acuerdo a los resultados obtenidos existen diferencias en la aplicación de las distintas cepas de Trichoderma spp., en comparación al tratamiento testigo sin aplicación. Se puede concluir que Trichoderma harzianum cepa Queule otorgó alta eficacia sobre la caída de plántulas causada por el hongo Phytophthora capsici, ya que las plántulas tratadas con el biocontrolador presentaron la menor incidencia y severidad de caída de plántulas en las distintas etapas de evaluación. Los tratamientos regados con una frecuencia de riego cada tres días presentaron una menor severidad de caída de plántulas.
- Los tratamientos que lograron una mayor acumulación de peso fresco fueron los tratamientos a los cuales se aplicó Trichoderma harzianum cepa Queule. La aplicación de una frecuencia de riego cada tres días presentó una mayor acumulación de peso fresco en comparación a los tratamientos a los que se aplicó una frecuencia de riego diaria.

BIBLIOGRAFÍA

- AHMED, A; SÁNCHEZ, C; CANDELA, M. 2000. Evaluation of induction of systemic resistance in pepper plants (*Capsicum annuum*) to *Phytophthora capsici* using *Trichoderma harzianum* and its relation with capsidiol accumulation. *European Journal of Plant Pathology*. 106(9): 817-824.
- AGRIOS, G. 1991. *Fitopatología*. Ediciones Limusa, México. 530p.
- BAKER, R. Y CHET, I. 1984. The controlled experiment in the scientific method with special emphasis on biological control. *Phytopathology* 74: (9)1019-1021.
- BRUNEL SALDIAS, M. 1996. Efecto de la rotación de cultivos sobre la población de *Phytophthora capsici* en el suelo. Tesis de grado. Talca, Universidad de Talca, facultad de Ciencias Agrarias Escuela de Agronomía. 75p.
- CERPA MALDONADO, S. 2001. Evaluación de abonos orgánicos en el control de *Phytophthora capsici* causante de marchitez, en pimentón. Memoria. Talca, Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Agrarias Escuela de Agronomía. 41p.
- DOMÍNGUEZ PHILIPPI, T. 1994. Evaluación de nuevas cepas de *Trichoderma* spp. como antagonista de *Botrytis cinerea* y *Phytophthora*. Tesis de grado. Santiago, Pontificia Universidad Católica de Chile. 89p.
- CRUZ, M Y CISTERNA, V. 1998. Control integrado de *Phytophthora capsici* en pimiento y efecto de hongos antagonistas sobre el crecimiento de las plantas. *Agricultura técnica* 58(2): 81-92.

- FERNÁNDEZ, C. 1983. Phytophthora capsici causante de la marchitez del pimiento (Capsicum annuum) en Chile. Agricultura Técnica 43: 91-93.
- FERNÁNDEZ, C. 1984. Efecto del manejo del agua de riego sobre Phytophthora capsici Leonina, causante de la marchitez del pimentón (Capsicum annuum). Agricultura Técnica 44: 319-324.
- FERNÁNDEZ, C. 1991. Phytophthora capsici Leonina organismo causante de marchitez en zapallo de guarda Cucúrbita marma. Agricultura Técnica 51: 353-355.
- FERREIRA, R; TOSSO, J; FERNÁNDEZ, C. 1984. Efecto del manejo del agua de riego sobre Phytophthora capsici Leonina, causante de la marchites del pimentón. Agricultura Técnica 44(4):319-324.
- GARCÍA SIEFELD, R. 2001. Caracterización y uso in vitro de Trichoderma harzianum en la inhibición de Phytophthora parasitica. Santiago, Pontificia Universidad Católica de Chile. 88 p.
- GONZÁLEZ SILVA, G. 2001. Evaluación in vitro del efecto inhibitorio de Trichoderma longibrachiatum sobre Phytophthora capsici agente causal de la Marchitez del pimentón (Capsicum annuum). Talca, Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía. 49p.
- HARMAN, G; BJÖRKMAN T. 1998. Potential and existing uses of Trichoderma and Gliocladium for plant disease control and plant growth enhancement. In: Harman GE, Kubicek CP, eds. Trichoderma and Gliacodium, Vol. 2. Enzymes, biological control and commercial applications. London: Taylor & Francis, 229-265.

- HARMAN, G. 2001. Trichoderma for biocontrol of plant pathogens: from basic research to commercialized products. Disponible en <http://www.nysaes.cornell.edu/>. Consultado 6 de noviembre 2003.
- HARMAN, G. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Dis.* 84:377-393.
- LATORRE, B. 1988. Problemas atribuidos a *Phytophthora* en uva de mesa. *Aconex* 33: 19-22.
- LATORRE, B. 1989. *Phytophthora* en frutales y hortalizas. *Revista Frutícola* 10: 92-95.
- LATORRE, B. 1992. Enfermedades de las plantas cultivadas. Ediciones Universidad Católica, Santiago, Chile. 628p.
- ODEPA, 2001. Estadísticas sobre la distribución del pimentón. Disponible en <http://www.odepa.gob.cl>. Consultado el 15 de octubre de 2004.
- SARASOLA, A. Y ROCCA, M. 1975. Fitopatología: Curso Moderno. Editorial Argentina. p. 136-141.
- SID AHMED, A.; C, PEREZ-SÁNCHEZ; C. EGEEA, Y M, CANDELA, 1999. Evaluation of *Trichoderma harzianum* for controlling root rot caused by *Phytophthora capsici* in pepper plants. *Plant pathology* 48: 58-65.

- NIEDMANN LOLAS, M. 1998. Etiología de la enfermedad “Pudrición al cuello” en pimentón (Capsicum annuum var. Grossum) y efecto de cinco fungicidas sobre el control in vitro e in vivo del agente causal. Tesis de grado. Talca, Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía. 69p.
- NUEZ, R; ORTEGA, R; COSTA, J. 1996. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Ediciones Mundi Prensa, España. 607p.
- WILCOX, W.; AGOSIN, E. Y LATORRE, B. 1993. Identificación y enfermedades producidas por Phytophthora. Pontificia Universidad Católica, Facultad de Agronomía, Departamento de fruticultura y enología, Santiago, Chile. 104p.
- WILCOX, W. Y LATORRE, B. 1994. Pudrición radical y del cuello en frutales causada por Phytophthora. Aconex 43: 5-12.
- WILCOX, W. Y LATORRE, B. 1994. Pudrición radical del frambueso producida por Phytophthora en Chile. Aconex 44: 5-9.