



UNIVERSIDAD DE TALCA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA DE AGRONOMÍA

**“EVALUACIÓN DE TRES CEPAS NATIVAS DE *TRICHODERMA*  
SPP. EN EL CONTROL DE ENFERMEDADES FUNGOSAS DE  
POST-COSECHA EN ZAPALLO DE GUARDA”.**

**MEMORIA DE TÍTULO**

**PABLO ANDRÉS CORNEJO ABARCA.**

**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 ENFERMEDADES FUNGOSAS DE  
POST-COSECHA EN ZAPALLO DE GUARDA”.**

**Por**

**PABLO ANDRÉS CORNEJO ABARCA.**

**Presentada a la Universidad de Talca  
como parte de los requisitos para optar al título de  
INGENIERO AGRÓNOMO.**

**TALCA – CHILE**

**2005**

**APROBACIÓN:**

---

**Profesor Guía: Ing. Agr. M. Sc. Dr. Claudio Sandoval B.**  
**Profesor Escuela de Agronomía**  
**Universidad de Talca.**

---

**Profesor Informante: Ing. Agr. M. Sc. Ph. D. Mauricio Lolas C.**  
**Profesor Escuela de Agronomía**  
**Universidad de Talca.**

**Fecha de Presentación de Defensa de Memoria: 7 de Enero de 2005.**

**A mis padres, a Yuly y a Marcos.**

## **AGRADECIMIENTOS.**

A mis padres por el cariño y el amor que me han brindado a lo largo de mi vida. Sin su apoyo no hubiera podido lograr este objetivo.

A mi hermana Yuly, por su apoyo incondicional durante todos estos años y a su esposo Marcos, por ser más que un amigo, un hermano.

A mis amigos, Fabián, Jorge, Angelo, Wladimir, Rodrigo, Jaime, Marcelo, Claudia, Tatiana, por su compañía y apoyo en los momentos difíciles de la carrera.

Finalmente, quiero agradecer al profesor guía don Claudio Sandoval, por su comprensión y ayuda para sacar adelante esta memoria.

## RESUMEN

Se realizaron dos ensayos con el objetivo de evaluar la capacidad de *Trichoderma* spp. en el control de enfermedades fungosas de post-cosecha en zapallo de guarda, durante el primer y segundo semestre del año 2004. Se consideraron dos etapas en ambos ensayos, siendo la primera la evaluación semanal de incidencia, área de avance de la pudrición y porcentaje de eliminación de zapallos. En la segunda, se determinaron los hongos asociados a estas pudriciones de post-cosecha. Los ensayos fueron dirigidos en un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 2x2 con tres repeticiones, donde la unidad experimental correspondió a 10 zapallos.

En la primera parte de la investigación se obtuvo que la interacción de los dos factores evaluados (*Trichoderma* y sanidad de los zapallos) no fue significativa en ambos ensayos para ninguno de los tres parámetros medidos. Con esto se determinó que *Trichoderma* no es efectivo en el control de las enfermedades de post-cosecha para las condiciones de estudio.

La segunda parte del ensayo se llevó a cabo en el laboratorio de fitopatología de la Universidad de Talca, para lo cual se recolectaron trozos de tejido desde la zona de avance de la pudrición de zapallos provenientes de ambos ensayos. Estos trozos fueron limpiados con agua destilada estéril y etanol al 75% y sembrados en placas petri, utilizando como medio de cultivo agar papa dextrosa, incubándolos a una temperatura de 27° C. Como resultado se obtuvo que los hongos prevalentes son: *Alternaria* spp., *Fusarium* spp. y *Botrytis* spp. y en menor grado *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. y *Rhizoctonia* spp.

**Palabras claves:** *Trichoderma* spp., enfermedades fungosas de post-cosecha en zapallo de guarda

## ABSTRACT.

Two experiments were carried out during 2004 to evaluate the capacity of *Trichoderma* spp. in the control of fungal diseases in storage squash. Two different kind of evaluation were considered in both experiments: the first a weekly evaluation of the incidence, the increase in the rottenness and the percentage fruits eliminated. In the second one, the fungus associated with the post harvest rottenness were identified. The experiments were arranged in a completely random design by chance, with a factorial arrangement of the treatments 2x2 with three replications. Each experimental unit was conformed by to ten fruits.

The results obtained in the first part of the experiment showed not interaction between the two evaluated factors (*Trichoderma* and sanity of the fruits) for all the measured parameters. From this we can conclude that *Trichoderma* is not effective in the control of post harvest diseases for the conditions of this study.

The second part of experiment was carried out in the laboratory of Phytopathology at University of Talca. For this tissue pieces from the border of the rotten area, were collected. These were cleaned with sterile water and ethanol 75% and incubated in Petri plates, with Potato dextrose agar, at 27° C. as a result, the prevailing fungus were growing in the media: *Alternaria* spp., *Fusarium* spp. and *Botrytis* spp., and in less frequency grade *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. and *Rhizoctonia* spp.

## ÍNDICE

	Páginas.
<b>1. INTRODUCCIÓN.</b> .....	1
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.</b> .....	3
2.1 Antecedentes generales. ....	3
2.2 Característica del cultivo.....	3
2.2.1 Descripción de la planta.....	3
2.2.2 Especies de cucúrbitas. ....	4
2.2.3 Aspectos agronómicos.....	5
2.3 Enfermedades que afectan al zapallo.....	6
2.3.1 Enfermedades del zapallo en postcosecha. ....	7
2.4 Control biológico. ....	8
2.4.1 <i>Trichoderma</i> spp .....	9
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.</b> .....	11
3.1 Ubicación del ensayo.....	11
3.2 Material vegetal.....	11
3.3 Obtención del biocontrolador. ....	11
3.4 Aplicación del biocontrolador. ....	12
3.5 Diseño experimental y tratamiento. ....	12
3.6 Evaluaciones.....	13
3.7 Análisis de resultados. ....	14
3.8 Aislamiento del agente causal. ....	14
<b>4. RESULTADOS.</b> .....	16
4.1.Efecto de las aplicaciones de <i>Trichoderma</i> spp. en el control de .....	16
enfermedades fungosas de post-cosecha en zapallos de guarda.	
4.1.1 Análisis de la severidad. ....	16
4.1.2 Análisis de la incidencia.....	19
4.1.3 Cuantificación de las pérdidas. ....	21
4.1.4 Patógenos asociados a las pudriciones. ....	24
<b>5. DISCUSIÓN.</b> .....	25
<b>6. CONCLUSIÓN.</b> .....	27
<b>7. LITERATURA CITADA.</b> .....	28

## ÍNDICE DE CUADROS

	Páginas.
<b>Cuadro 3.1</b> Tratamientos de evaluados en el control de enfermedades fungosas de post-cosecha en zapallos de guarda. ...	<b>13.</b>
<b>Cuadro 4.1</b> Hongos asociados a pudriciones de post-cosecha en Zapallo de guarda aislados de dos ensayos. ....	<b>24.</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS.

	Páginas.
<b>Figura 4.1</b> Incremento en el área con pudrición en zapallos sanos y enfermos con y sin aplicación de <i>Trichoderma</i> , para nueve fechas distintas en post-cosecha en un invernadero.....	<b>18</b>
<b>Figura 4.2</b> Incremento en el área con pudrición en zapallos sanos y enfermos con y sin aplicación de <i>Trichoderma</i> , para nueve fechas distintas en post-cosecha en una bodega.....	<b>18</b>
<b>Figura 4.3</b> Incidencia de pudriciones de post-cosecha en zapallos sanos y enfermos con y sin aplicación de <i>Trichoderma</i> , para nueve fechas distintas de evaluaciones en un invernadero .....	<b>20</b>
<b>Figura 4.4</b> Incidencia de pudriciones de post-cosecha en zapallos sanos y enfermos con y sin aplicación de <i>Trichoderma</i> , para nueve fechas distintas de evaluaciones en una bodega .....	<b>20</b>
<b>Figura 4.5</b> Porcentajes de eliminación de zapallos en cuatro tratamientos correspondientes a frutos sanos y enfermos con y sin aplicación de <i>Trichoderma</i> . Evaluaciones realizadas en nueve fechas distintas en post-cosecha en un invernadero .....	<b>23</b>
<b>Figura 4.6</b> Porcentajes de eliminación de zapallos en cuatro tratamientos correspondientes a frutos sanos y enfermos con y sin aplicación de <i>Trichoderma</i> . Evaluaciones realizadas en nueve fechas distintas en post-cosecha en una bodega .....	<b>23</b>

## INTRODUCCIÓN.

Las cucurbitáceas han servido de alimento desde épocas remotas hasta la actualidad y algunas se han empleado como utensilios. Al llegar los españoles a América encontraron que especies de esta familia figuraban entre los cultivos importantes, siendo precedidas sólo por el maíz y los frejoles. Actualmente forman parte de la dieta en todo los niveles económicos (Casseres, 1980).

A través de lo siglos se ha acumulado mucha información y también un poco de confusión sobre los orígenes de las cucurbitáceas. Las cuatro especies: *Cucurbita maxima*, *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* y *Cucurbita mixta*, tienen un origen americano.

En Chile, el cultivo de zapallos para guarda es principalmente para consumo interno, cuya superficie de siembra fluctúa todas las temporadas, debido a que la rentabilidad no es constante. En los últimos años, ésta se ha ubicado en torno a las 4000 hectáreas.

Como todo cultivo, las cucurbitáceas presentan numerosas enfermedades, tanto en el campo como en post-cosecha, las cuales pueden causar importantes pérdidas. Por esta razón es necesario considerar dentro del manejo, las medidas de control para reducir su incidencia. En el caso particular del zapallo de guarda, las pudriciones de post-cosecha constituyen una de las principales patologías, dado fundamentalmente por prácticas de cosecha inadecuadas y almacenaje deficiente. Como control preventivo de esta pudrición se recomienda realizar un correcto curado de los frutos, almacenar en bodegas limpias en las que se mantenga una temperatura de 10 a 15° C y una humedad relativa de 70 a 80% (Latorre, 1997).

También se ha demostrado que es posible reducir la incidencia de algunos de los hongos causantes a través de la aplicación de Benomilo.

Hongos del género *Trichoderma* spp. han demostrado ser eficientes controladores de enfermedades fungosas, habiéndose comprobado su eficacia contra una amplia gama de hongos fitopatógenos tales como *Armillaria mellea*, *Fusarium* sp, *Phytophthora* spp, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium* spp, *Aspergillus niger*, entre otros (Cook y Baker, 1989).

Considerando los agentes causales de pudrición de post-cosecha en zapallo de guarda, la aplicación del agente biocontrolador *Trichoderma* spp., podría reducir la incidencia y severidad de estos patógenos en el almacenaje. De acuerdo a lo anterior, en la presente memoria se ha planteado como objetivo general:

- Evaluar el hongo *Trichoderma* spp. como agente biocontrolador de hongos causantes de pudriciones de post-cosecha en zapallo.

Por otra parte, como objetivos específicos se señalan:

- Determinar niveles de incidencia y severidad de pudriciones de post-cosecha en zapallos tratados con *Trichoderma* spp. en pre y post infección.
- Analizar la viabilidad de utilizar *Trichoderma* spp como alternativa de control de enfermedades de post-cosecha en zapallo.
- Determinar cuales son los hongos prevalentes en pudriciones de post-cosecha en zapallo almacenado en la localidad de Pelarco, VII Región.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

### 2.1 Antecedentes Generales.

El zapallo pertenece al género *Cucurbita*, que es conocido por sus especies cultivadas, las cuales son reconocidas como “calabazas” en los países de habla hispana. Sus frutos inmaduros y maduros y sus semillas tienen gran importancia alimenticia en el mundo. Además existen regiones de Latinoamérica en las cuales las flores y algunas partes vegetativas, también son apreciadas como verduras (Lira, 1995).

### 2.2 Características del Cultivo.

**2.2.1 Descripción de la Planta:** Las especies silvestres y cultivadas de *Cucurbita*, son plantas monoicas, rastreras, trepadoras o subarborescentes en algunos casos. Sus flores son gamopétalas con corolas tubular campanuladas, muy vistosas, de color amarillo pálido a amarillo-anaranjado brillante. Se presentan flores masculinas y femeninas, las cuales poseen diferentes características:

- Las flores masculinas o estaminadas poseen los estambres estructurados a manera de una columna, en donde los filamentos son libres o más o menos coherentes y las anteras se hayan soldadas formando una estructura cilíndrica.
- Las flores femeninas o pistiladas, tienen un ovario ínfero con numerosos óvulos en posición horizontal, los estilos están fusionados casi en toda su longitud o sólo son libres en el ápice; los estigmas son grandes, carnosos y más o menos hendidos o lobulados y se observan ligeras modificaciones en cuanto a la estructura del perianto respecto de las estaminadas, principalmente correspondientes a diferencias de tamaño de alguna o algunas de sus partes.

Los frutos son del tipo pepo y en las plantas cultivadas se producen en una gran diversidad de formas, tamaños, colores y tipos de superficies. Al contrario de lo observado en plantas silvestres, en éstos son relativamente uniformes en cuanto a su forma. La raíz es ramificada, es decir, la raíz principal, que alcanza gran desarrollo respecto al resto, se ramifica

en raíces secundarias y éstas a su vez vuelven a subdividirse.

### 2.2.2. Especies de Cucurbitas:

**a) *Cucurbita maxima*:** Es una de las especies cultivadas más diversas del género. Su variación incluye numerosas razas o variedades locales y abundantes cultivares comerciales comestibles. Presenta hábitos rastreros y sub-arbustivos donde las dimensiones, formas y coloraciones en algunos de sus frutos y semillas son únicas (Lira, 1995).

Sus tallos son engrosados, sulcados, frecuentemente enraizados en sus nudos. Sus hojas presentan peciolo robustos, siendo vellosas, de lámina de consistencia firmemente coriácea. Sus flores estaminadas se desarrollan sobre pedicelos delgados, corola de color amarillo anaranjado densamente pubescente. Las flores pistiladas presentan pedicelos más cortos y engrosados, ovario ovoide a elíptico, densamente pubescente (Lira, 1995).

**b) *Cucurbita pepo*:** Corresponde a otra de las especies cultivadas del género. Son plantas rastreras, trepadoras o algunas veces de hábitos sub-arbustivos, anuales, de raíces fibrosas, tallos angulosos, surcados, hojas sobre peciolo de 20 a 30 cm. de largo, de láminas de consistencia herbácea (Lira, 1995).

Las hojas pueden presentar o no manchas blancas a lo largo o en la intersección de las venas en la superficie adaxial. Las flores estaminadas, se ubican sobre pedicelos de 6 a 25 cm. de largo, receptáculo campanulado de 9 a 12 cm. de largo y de 6 a 15 cm. de ancho, ligeramente contraído por debajo de los sépalos. Las flores pistiladas poseen pedicelos robustos, surcados, de 2 a 5 cm. de largo, ovario de muy diversas formas (globoso, ovoide), fruto de tamaño muy variable y usualmente conservando la forma del ovario (Lira, 1995).

**c) *Cucurbita moschata*:** Corresponde a una planta herbácea, comúnmente rastrera a trepadora anual. Sus partes vegetativas son densamente pubescentes a vellosas; con tricomas cortos y largos uniseriados, septados y no septados, raíces fibrosas, tallos rígidos, ligeramente

angulosos apareciendo surcados al secar. Hojas sobre pecíolos de 30 o más cm. de largo, con márgenes cerrados, superficie adaxial, frecuentemente con manchas blancas en la intersección de las venas. Flores estaminadas sobre pedicelos robustos de 16 a 18 cm. de largo. Receptáculo anchamente campanulado, corola amarilla a anaranjada en el ápice. Flores pistiladas sobre pedicelos engrosados, angulosos, pubescentes, ovarios de muy diversas formas, pubescentes y glabrescente con la edad, receptáculo muy reducido. Frutos de tamaño muy variable y muy diversas formas aunque generalmente mantienen la forma del ovario (Lira, 1995).

**2.2.3 Aspectos Agronómicos:** El modo de propagación de las especies de cucurbitas es mediante la siembra de las semillas. De aquí que la selección de los materiales destinados a plantarse es de gran importancia para el éxito de las cosechas subsecuentes y evidentemente contribuye al mantenimiento y la ampliación de la diversidad genética (Giaconi, 1988).

Requieren de clima caluroso y abundante agua. *Cucurbita máxima* para lograr su desarrollo, necesita de veranos largos y ausencia de heladas ya que es susceptible a éstas. En cuanto a suelo se obtienen los mejores resultados cuando éste es rico en nutrientes, profundo, bien aireado y bien drenado. Si bien es exigente en cuanto a la capacidad de retención de agua por parte del suelo, condiciones de mal drenaje favorecen el desarrollo de podredumbres en los frutos, por lo que es necesario que los suelos no acumulen agua (Giaconi, 1988).

El terreno donde se produce el cultivo de zapallo puede ser abonado con estiércol en forma moderada. El Fósforo y el Potasio constituyen nutrientes fundamentales en este cultivo e influyen sobre el contenido de azúcar del fruto. En cuanto a micro-elementos, el zapallo es sensible a la escasez de Boro.

La siembra se realiza en forma directa trazando surcos simples, orientadas en lo posible de poniente a oriente. El trazado de éstos se hace a 4 - 5 m. de distancia y de 2 a 3 mt. sobre la hilera, en cada casillero se colocan unas 4 semillas. La época de siembra va desde septiembre a octubre empleándose una dosis de semillas de 3 a 4 kilos por hectárea aproximadamente.

Los riegos se dan por infiltración, los primeros a través del surco de siembra, previo a ésta y luego se abren surcos en la entre-hilera los que se van desplazando a medida que la planta adquiere desarrollo. Esto debe hacerse en forma gradual y oportuna, como en todas las cucurbitáceas con el propósito de evitar condiciones de estrés hídrico (Giacconi, 1988).

### **2.3. Enfermedades que afectan al zapallo.**

Son numerosas las enfermedades que atacan al zapallo de guarda tanto en el potrero como en la bodega. Los patógenos asociables a estas patologías son hongos, virus y bacterias, en orden de importancia.

Entre las enfermedades causadas por hongos podemos nombrar el Oídio, que es causado por un hongo ectoparásito del grupo de los Ascomycetes, llamado *Erysiphe cichoracearum*. También son importantes las pudriciones radicales producidas por hongos del género *Phytophthora spp.* En cuanto a enfermedades causadas por virus se pueden mencionar mosaicos producidos por *Cucumber mosaic virus* - CMV, *Squash mosaic virus* - SqMV y *Watermelon mosaic virus* - WMV.

Finalmente, la mancha angular constituye una patología de importancia económica causada por la bacteria *Pseudomonas syringae pv. lachrymans*

**2.3.1 Enfermedades del Zapallo en Post-cosecha:** Son varias las enfermedades que se presentan en el almacenamiento del zapallo de guarda y que pueden provocar grandes pérdidas, entre las cuales podemos mencionar:

**a) Picada negra del fruto:** causada por el hongo *Alternaria alternata*, que se presenta de preferencia en los meses fríos del invierno chileno, asociada con heladas. Ésta ocasiona en frutos: manchas secas, localizadas, de 3 a 6 cm. de diámetro, de forma más o menos circular y de color verde oliva a negruzco. Bajo la mancha se forma una depresión, con pudrición seca corchosa de 1 a 1,5 cm. de profundidad (Giacconi, 1988).

**b) Pudrición blanca húmeda:** producidas por el hongo *Rhizopus nigricans*, el que ocasiona en el fruto el desarrollo de una pudrición acuosa, masiva, con reblandecimiento de pulpa, cuyo color toma una tonalidad café tenue. Sobre las zonas afectadas se forma una masa blanquecina con cabezuelas pequeñas, color blanco- ceroso al comienzo y negras después, que son los esporangios del hongo. Se presenta en otoño e invierno y el avance de la pudrición en los frutos es muy rápido. Es un hongo muy abundante en bodegas y sitios de comercialización. Su establecimiento y pudrición se acelera en presencia de heridas (Giaconi, 1988).

**c) Picada rosada:** producida por el hongo *Fusarium moniliforme*, se manifiesta a través del desarrollo inicial de una pudrición sobre la que se desarrolla un micelio blanco. Luego ésta toma un carácter semi-húmedo y una coloración de tinte rosado, que abarca también la pulpa. Es una pudrición profundizante al comienzo y de tipo masivo al final. Como los anteriores hongos fitopatógenos ingresa preferentemente al fruto a través de heridas. Sin embargo en condiciones de excesiva humedad, con presencia de agua libre, puede penetrar directamente. La infección del fruto puede producirse tanto en el campo como en la bodega, al igual que durante el transporte (Giaconi, 1988).

**d) Pudrición negra:** ocasionado por el hongo *Aspergillus wentii*, también de tipo seco, pero localizada y de efecto relativamente superficial. La pulpa afectada cambia de un color amarillo intenso normal a un amarillo pálido blanquecino. Sobre la pulpa se deposita un polvillo de color café oscuro, casi negro que corresponde a las esporas del hongo. El patógeno crece pegado a la cáscara, debido a su crecimiento rastrero (Giaconi, 1988).

**e) Pudrición verde:** causada por el hongo *Penicillium chrysogenum*, la que se caracteriza por el desarrollo de un micelio de coloración verde gris sobre el tejido afectado. Generalmente ataca asociado con otras pudriciones, o cuando hay heridas abiertas en los frutos. Es de menor importancia que las anteriores, si bien es bastante frecuente en bodegas que presentan malas condiciones de almacenaje.

#### **2.4. Control Biológico.**

Una alternativa que tuvo sus inicios alrededor de 1920 (Nelson, 1989), y que ha llamado la atención de los investigadores durante los últimos 20 años, es el control biológico. Utilizando microorganismos se pueden controlar patologías en cultivos de interés económico. Es una alternativa ecológicamente más conveniente sin los problemas de contaminación y de residuos químicos de los métodos de control tradicionales. Más aún, estos agentes biológicos son selectivos y no dañan los cultivos tratados.

Consiste en el control de plagas y enfermedades por medio de la utilización de otros agentes biológicos tales como hongos, bacterias, levaduras, entre otros. Estos biocontroladores actúan, ya sea por parasitismo del patógeno y muerte de éste (principalmente en insectos y nemátodos); competencia por recursos, principalmente alimenticios como es el caso de algunas levaduras; acción tóxica directa o producción de antibióticos (*Trichoderma* spp.) y también por acción tóxica indirecta ( etileno).

El objetivo del control biológico es estimular la colonización de la superficie de las plantas, por antagonistas saprófitos capaces de multiplicarse y disminuir el inóculo de los patógenos (Blakeman y Fokkema, 1982; citados por Sánchez *et al.*, 1998). Por esta razón, el biocontrol de patógenos incluye frecuentemente la aplicación de microorganismos benéficos a la planta, así como todas las labores que estimulen las poblaciones antagonistas residentes (Papavizas, 1985).

Un controlador biológico eficaz debe ser activo, bajo las mismas condiciones ambientales del patógeno, ser compatible con otros agentes biocontroladores y además, ser capaz de colonizar el sector de la planta o el sustrato apropiado (Lecuona, 1996).

En general, debe considerarse que el control biológico no se adapta a todos los patógenos presentes en los cultivos, sino que se ha tenido más éxito en el control de patógenos del sistema radical, con estructuras de resistencia, (como *Rhizoctonia* spp.,

*Sclerotinia* spp. y *Fusarium* spp.) y algunos nemátodos fitoparásitos como Heterodera, Globodera y Meloidogyne.

**2.4.1. *Trichoderma* spp:** El género *Trichoderma* incluye una serie de especies biocontroladoras de fitopatógenos del suelo y de la parte foliar, que producen enzimas capaces de degradar una amplia gama de materiales complejos, naturales o xenobióticos. Además algunos son productos de una gama de metabolitos secundarios, entre ellos, una variedad de antibióticos (Ghizalberti y Silvasithampan, 1991; Papavizas, 1985). En general, los hongos pertenecientes a este género tienen requerimientos nutricionales mínimos, y crecen rápidamente con abundante esporulación (Eveleigh, 1985; Nelson, 1989; Harman y Lumsden, 1990).

**a) Morfología y Taxonomía:** Este género pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, siendo un hongo imperfecto que carece de estructuras de reproducción sexual. Se encuentra ubicado en la clase Hyphomycetes, orden Hyphales y sus esporas asexuales, las cuales se forman sobre las hifas o en su interior, se encuentran expuestas libremente a la atmósfera (Agrios, 1996). Las colonias que forman son de crecimiento rápido, de micelio compacto, blanco a verde; comúnmente forma clamidiosporas intercaladas, las cuales son globosas a elipsoidales (Rifai, 1969. citado por Cook, 1989).

**b) Ciclo de vida:** El organismo crece y se ramifica desarrollando típicas hifas fungales de 5 a 10  $\mu\text{m}$  de diámetro. La esporulación asexual ocurre en conidias unicelulares (3 a 5  $\mu\text{m}$  de diámetro), usualmente de color verde los que son liberados en grandes cantidades. Se forman clamidiosporas de descanso unicelulares, pero pueden fusionarse entre dos o más.

**c) Efecto sobre el crecimiento de las plantas:** Durante muchos años ha sido conocida la habilidad de estos hongos para incrementar la tasa de crecimiento y desarrollo de las plantas, en especial de su sistema radicular, si bien todavía no se conocen con certeza los mecanismos involucrados en este efecto así, se han descrito cepas del hongo que contribuyen al crecimiento, en cuanto a profundidad de las raíces en cultivos como maíz y algunos pastos, haciendo que estos sean más resistentes a la sequía. Otro estudio indica que las raíces de las

plantas de maíz colonizadas por *Trichoderma* T22 requieren un 40% menos de fertilizantes nitrogenados en relación a las raíces que no se encuentran colonizadas (Saninet, 2004).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS.**

#### **3.1. Ubicación del ensayo.**

Se realizaron dos ensayos, ambos en la localidad de “La Cunilla” perteneciente a la comuna de Pelarco, entre los meses de mayo y julio de 2004. Se consideraron dos etapas, siendo la primera, la evaluación de *Trichoderma* como controlador de los agentes responsables de pudriciones de post-cosecha y la segunda, el aislamiento de los agentes causales para su posterior identificación y con esto determinar los hongos asociados a esta patología.

Un primer ensayo se realizó en un invernadero para el almacenaje de zapallos. La segunda evaluación tuvo lugar en una bodega perteneciente a don Alejandro Labra, cuya estructura es de adobe, con piso de tierra.

#### **3.2. Material Vegetal.**

En ambos ensayos se utilizaron zapallos tipo camote. Se seleccionaron frutos sanos, enfermos, dependiendo del tratamiento.

#### **3.3. Obtención del Biocontrolador.**

Para la aplicación se utilizó una mezcla de cepas nativas de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma virens* y *Trichoderma parceanamosun* en concentración de  $10^9$  conidias/ml, que fueron facilitadas por el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad de Talca. Éstos fueron aislados, identificados y evaluados durante tres años de estudio, a través de un

proyecto de investigación desarrollado por esta casa de estudios superiores con financiamiento FIA (C38-1-A-072)

El biocontrolador, dependiendo del tratamiento, fue aplicado sobre frutos sanos o enfermos.

### **3.4. Aplicación del Biocontrolador.**

La aplicación de la mezcla de tres cepas de *Trichoderma* se realizó con una bomba manual de espalda. Por cada litro de agua se aplicaron 5 ml. del biocontrolador en concentración de  $10^9$  conidias/ ml.

En cada aplicación se empleó un volumen aproximado de 2,5 litros por ensayo, con el cual se logró un adecuado mojamiento de los frutos. Se efectuaron dos aplicaciones en ambos ensayos, distanciadas siete días unas de otras.

### **3.5. Diseño Experimental y Tratamientos.**

En ambos ensayos, correspondientes a cada agricultor, se utilizó un diseño completamente al azar con tres repeticiones. Los tratamientos se ordenaron en un arreglo factorial 2 x 2, siendo el primer factor el estado sanitario del fruto y el segundo factor, la aplicación o no del controlador biológico. La unidad experimental estuvo compuesta por diez zapallos.

Los tratamientos a evaluar en ambas bodegas se resumen en el cuadro 3.1

Cuadro 3.1 Tratamientos evaluados en el control de enfermedades fungosas de post-cosecha en zapallos de guarda.

Tratamiento.	Estado Sanitario del Fruto.	
1	Frutos sanos.	Con aplicación de <i>Trichoderma</i> .
2	Frutos enfermos.	Con aplicación de <i>Trichoderma</i> .
3	Frutos sanos.	Sin aplicación de <i>Trichoderma</i> .
4	Frutos enfermos.	Sin aplicación de <i>Trichoderma</i> .

### 3.6. Evaluaciones.

Previo a la primera aplicación de *Trichoderma*, se realizó una evaluación preliminar de los frutos enfermos en la que se midió el radio de las lesiones causadas por el patógeno, con el fin de calcular el área de fruto afectado.

Posteriormente, en forma semanal para cada unidad experimental se determinó la incidencia, utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Incidencia ( I )} = (\text{Número de frutos afectados} / \text{total de frutos}) \times 100.$$

De igual manera, en cada fruto, a través de la medición del radio de cada lesión se calculó el área de pudrición. Estas mediciones se prolongaron hasta la octava semana post aplicación. En la medida que el período de almacenaje fue avanzando se fueron descartando aquellos frutos en que el área afectada superaba el 40% del total.

Con los datos obtenidos se calculó el aumento semanal en cuanto a área afectada y la cuantificación de pérdidas de frutos.

### **3.7. Análisis de resultados**

Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza (ANDEVA) mediante el programa Statgraphiscs Plus. No se realizó separación de medias, debido a que el ANDEVA no arrojó diferencias significativas en la interacción de los factores. Con respecto a *Trichoderma* tampoco fue significativo, sólo sanidad fue altamente significativo en todas las mediciones.

La incidencia de pudrición y cuantificación de pérdidas, expresada en porcentaje, fue analizada con los datos previamente transformados a valores angulares según la función  $\arcsen(\%)^{1/2}$ , de manera de asegurar la homogeneidad de las varianzas

### **3.8. Aislamiento del agente causal**

Con el fin de identificar los patógenos asociados a las distintas pudriciones desarrolladas en ambos ensayos, se procedió a su aislación, lo que se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología de la Universidad de Talca.

Con este fin, se tomó tejido desde la zona de avance de la pudrición, donde el hongo se encuentra más activo (Agrios, 1991). Éste fue lavado cuidadosamente con abundante agua destilada estéril, con el fin de eliminar restos de suelo y partículas que pudieran llevar algún tipo de contaminante. Posteriormente, la muestra se desinfectó superficialmente con etanol 75% por un segundo, cortándose en trozos de aproximadamente 0,5 cm., los cuales fueron sembrados en cada placa petri, conteniendo como medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA). Éstos se encubaron en una cámara a una temperatura de 27°C para favorecer el crecimiento del patógeno.

Una vez que la colonia del hongo logró su desarrollo, se procedió a identificarlo, utilizando para ello un microscopio óptico. Con este fin, a partir de las colonias obtenidas se

realizaron preparaciones, colocando parte del micelio desarrollado en un portaobjeto con agua destilada. La identificación se realizó en base a la morfología del micelio y de las esporas desarrolladas.

Las aislaciones se realizaron desde frutos que presentaban síntomas y signos de pudrición diferentes. Se consideró muestras provenientes de ambos agricultores.

## 4. RESULTADOS.

### 4.1 Efecto de las aplicaciones de *Trichoderma* spp. en el control de enfermedades fungosas de post-cosecha en zapallos de guarda.

#### 4.1.1 Análisis de la severidad.

La severidad de las pudriciones de post-cosecha fue evaluada semanalmente en nueve oportunidades. Se realizaron dos ensayos diferentes; el primero, en un invernadero y el segundo, en una bodega tradicional. Los resultados observados bajo ambas condiciones se presentan en las figuras 4.1 y 4.2 respectivamente.

La interacción entre ambos factores (estado sanitario del zapallo al momento de la aplicación y empleo o no del biocontrolador) no fue significativa en ambos ensayos. Con respecto a *Trichoderma* spp. tampoco fue significativo, sólo sanidad fue altamente significativo en todas las mediciones.

Durante las primeras cinco evaluaciones del ensayo, realizado en el invernadero, los tratamientos de zapallo enfermo con aplicación de *Trichoderma* y enfermo sin aplicación de *Trichoderma* tuvieron una tendencia similar en cuanto al incremento del área de pudrición. Por el contrario, en las mediciones restantes se observó una mayor área de pudrición en el tratamiento correspondiente a zapallos enfermos con *Trichoderma*, alcanzando al final del ensayo un valor de casi del doble con respecto a frutos enfermos sin aplicación de *Trichoderma*.

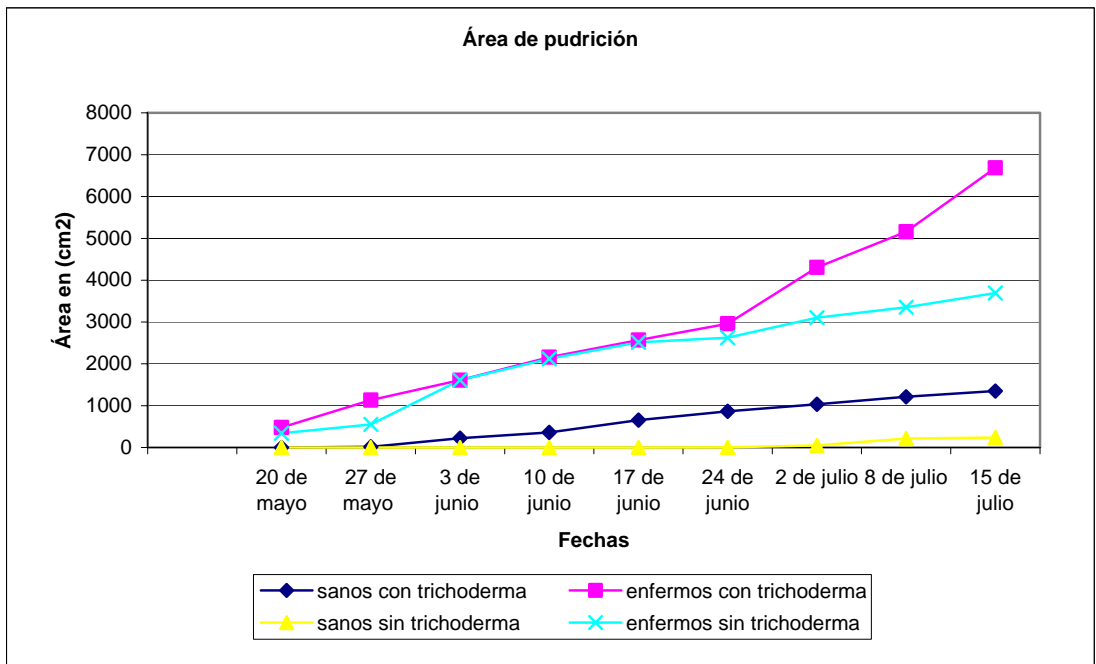
Respecto a los tratamientos de zapallos sanos sin y con aplicación de *Trichoderma*, se observa que durante las primeras cinco evaluaciones, en el primero no se observó

avance del área de pudrición. Por el contrario, en frutos sanos con aplicación de *Trichoderma* la superficie afectada aumentó y al final de las mediciones alcanzó 1.349 cm<sup>2</sup>. Sin embargo, el análisis estadístico no arrojó diferencias significativas en ninguno de los tratamientos.

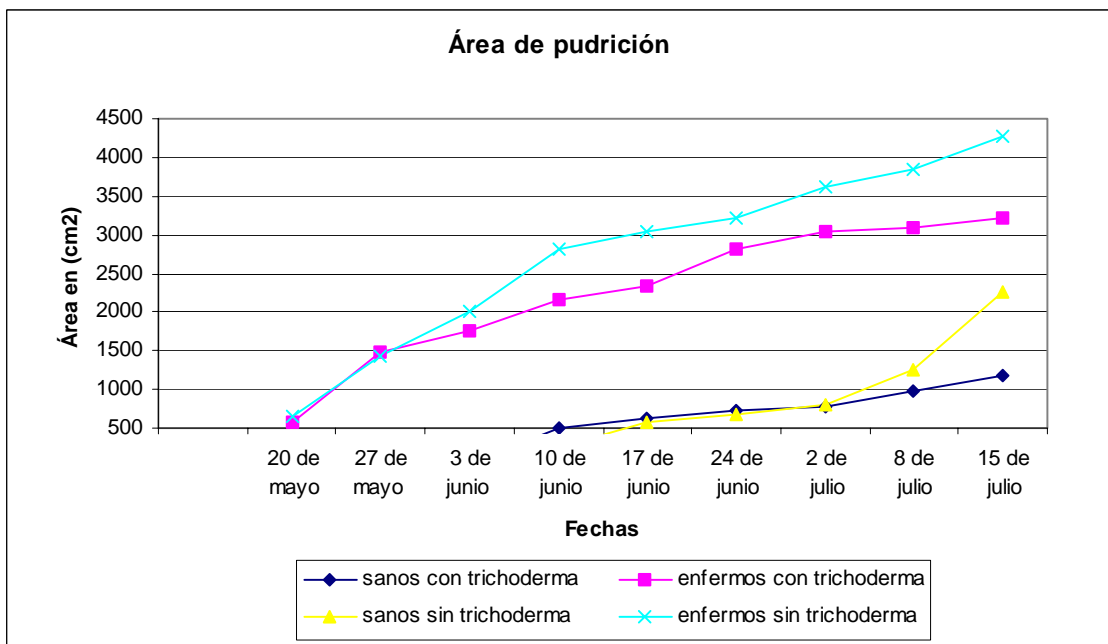
En el segundo ensayo, se puede apreciar que en las dos primeras evaluaciones, frutos enfermos con aplicación y sin aplicación de *Trichoderma* presentaron un área de pudrición similar.

En las siguientes evaluaciones, este último tratamiento presentó una mayor área de avance de la zona de pudrición, alcanzando a la novena semana los 4.262 cm<sup>2</sup>.

Al analizar, los tratamientos correspondientes a zapallos sanos con y sin aplicación de *Trichoderma*, se observa que tienen una tendencia similar hasta la séptima medición, con excepción de la cuarta evaluación, en la que se aprecia una mayor área de pudrición en frutos sanos con aplicación *Trichoderma*. Observando las dos últimas evaluaciones, se puede evidenciar que zapallos sanos no tratados con el biocontrolador presentaron un mayor avance del área de pudrición, sin embargo, nuevamente los datos obtenidos para los distintos tratamientos no difieren estadísticamente, es decir, la interacción no fue significativa, ni la aplicación de *Trichoderma*, sólo sanidad fue significativa.



**Figura 4.1** Incremento en el área con pudrición en zapallos sanos y enfermos con y sin aplicación de *Trichoderma*, para nueve fechas distintas en post-cosecha en un invernadero.



**Figura 4.2** Incremento en el área con pudrición en zapallos sanos y enfermos con y sin aplicación de *Trichoderma*, para nueve fechas distintas en post-cosecha en una bodega.

#### 4.1.2 Análisis de la incidencia.

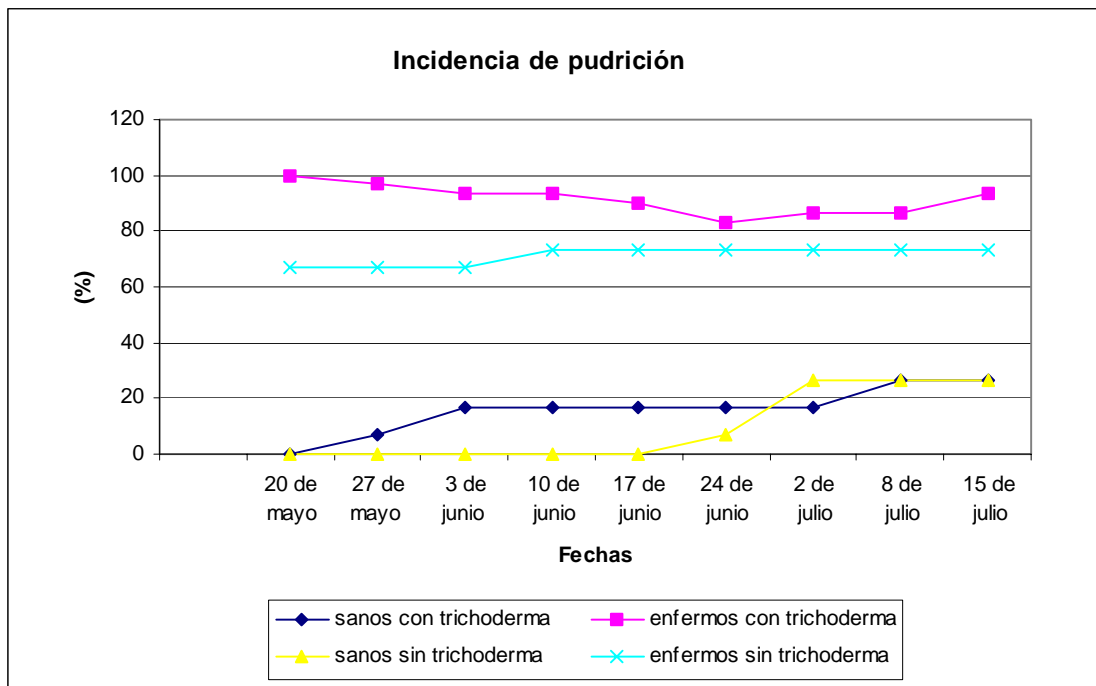
La incidencia de las pudriciones fue evaluada semanalmente en nueve oportunidades. Se realizaron dos ensayos diferentes, el primero en un invernadero y el segundo, en una bodega. Los resultados observados bajo ambas condiciones se presentan en las figuras 4.3 y 4.4, respectivamente.

La interacción entre ambos factores (estado sanitario del zapallo al momento de la aplicación y empleo o no del biocontrolador) no fue significativa en ambos ensayos. Respecto a *Trichoderma*, tampoco fue significativo, sólo el estado sanitario fue altamente significativo.

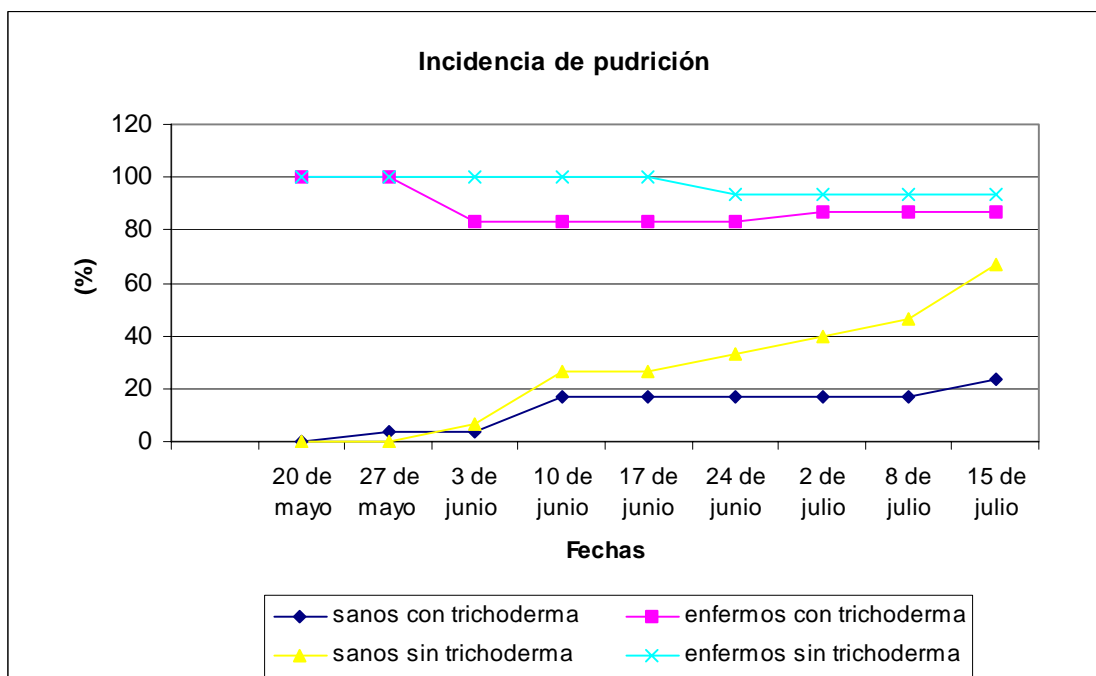
En el ensayo realizado en un invernadero se observa que los frutos enfermos con aplicación de *Trichoderma* presentan una mayor incidencia en todas las mediciones, alcanzando asta un 93.34 % el 15 de julio, los zapallos enfermos sin aplicación de *Trichoderma* alcanzaron una incidencia del 73.33 %. Finalmente, frutos sanos con y sin aplicación de *Trichoderma* mostraron siempre un menor porcentaje de zapallos con pudrición.

Sin embargo, al igual que para severidad y a pesar de las diferencias, los valores obtenidos para los distintos tratamientos no difirieron estadísticamente entre la interacción y *Trichoderma*, pero si para sanidad.

Con respecto al segundo ensayo realizado en una bodega, nuevamente al someter los resultados obtenidos para los distintos tratamientos a un análisis estadístico no se observan diferencias estadísticas entre ellos, es decir, entre la interacción y el factor *Trichoderma*, pero si para sanidad.



**Figura 4.3** Incidencia de pudriciones de post-cosecha en zapallos sanos y enfermos con y sin aplicación de *Trichoderma*, para nueve fechas distintas de evaluaciones en invernadero.



**Figura 4.4** Incidencia de pudriciones de post-cosecha en zapallos sanos y enfermos con y sin aplicación de *Trichoderma*, para nueve fechas distintas de evaluaciones una bodega.

#### 4.1.3 Cuantificación de las pérdidas.

El nivel de pérdidas fue evaluado semanalmente en nueve oportunidades. Se realizaron dos ensayos diferentes, el primero en un invernadero y el segundo en una bodega tradicional. Los resultados observados bajo ambas condiciones se presentan en las figuras 4.5 y 4.6, respectivamente.

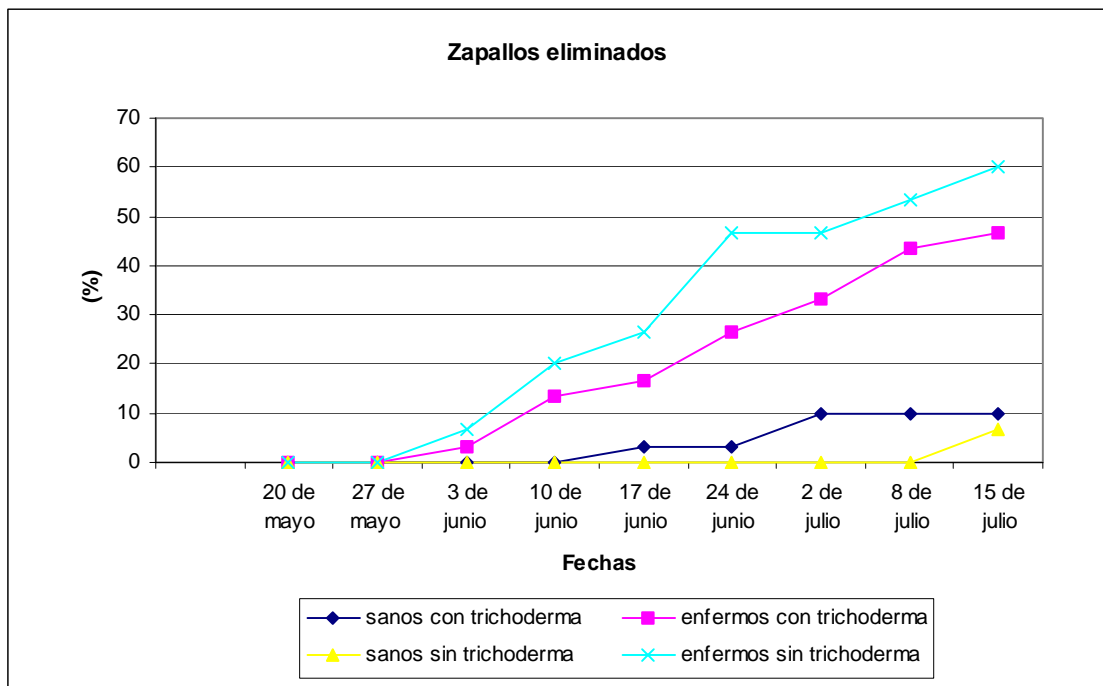
Nuevamente la interacción y el factor *Trichoderma* no fueron significativos, solamente sanidad fue altamente significativo en todas las mediciones. Al analizar el primer ensayo, se puede apreciar que el tratamiento correspondiente a zapallos con pudrición sin aplicación de *Trichoderma*, mantuvo niveles de pérdida superiores durante todo el ensayo al compararlo con el tratamiento correspondiente a frutos enfermos con aplicación del biocontrolador.

Observando los dos tratamientos restantes, se aprecia que en el tratamiento frutos sanos sin aplicación de *Trichoderma*, se eliminaron zapallos sólo en la última medición. Por el contrario, en el tratamiento de zapallos sanos tratados con el biocontrolador se desecharon zapallos desde la quinta medición, alcanzándose en la última semana de muestreo un 10% de frutos eliminados. Sin embargo, a pesar de estas diferencias, los porcentajes de pérdidas obtenidos no difieren estadísticamente, no existiendo diferencia entre los tratamientos.

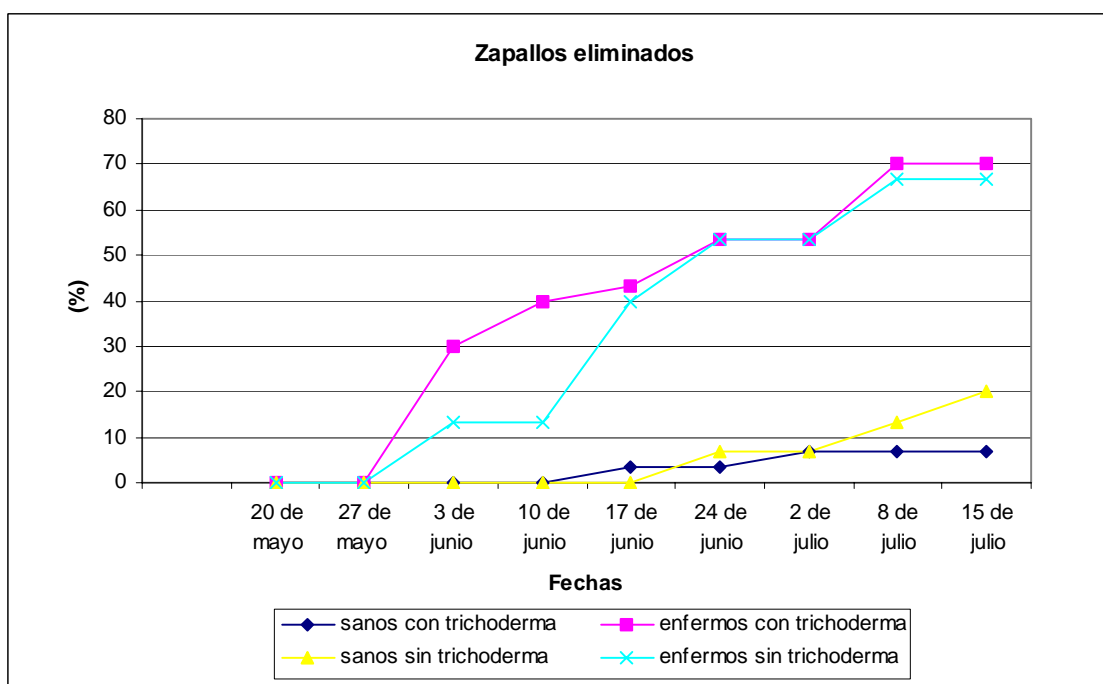
Examinando los datos obtenidos en el segundo ensayo, se puede señalar que el tratamiento frutos enfermos con aplicación de *Trichoderma*, tuvo tendencia a presentar una mayor eliminación de zapallos con respecto al tratamiento frutos enfermos sin aplicación del biocontrolador. Ambos, en cuatro mediciones, presentan el mismo porcentaje de eliminación, correspondiente a las fechas 20 y 27 de mayo con un 0% y el 24 de junio y 2 de julio con un 53.3% de eliminación. Finalmente en la última semana de medición

presentaron un porcentaje similar de pérdidas.

Al analizar los tratamientos correspondientes a zapallos sanos con y sin aplicación de *Trichoderma*, se puede observar que al final del ensayo se obtuvo una mayor eliminación de zapallos en el segundo, alcanzando un 20% de pérdidas con respecto al 6.6% observado en el primero. Independiente de los datos obtenidos, el análisis estadístico no arrojó diferencias entre la interacción y el factor *Trichoderma*, pero sí para sanidad.



**Figura 4.5** Porcentajes de eliminación de zapallos en cuatro tratamientos correspondientes a frutos sanos y enfermos con y sin aplicación de *Trichoderma*. Evaluaciones realizadas en nueve fechas distintas en post-cosecha en un invernadero.



**Figura 4.6** Porcentajes de eliminación de zapallos en cuatro tratamientos correspondientes a frutos sanos y enfermos con y sin aplicación de *Trichoderma*. Evaluaciones realizadas en nueve fechas distintas en post-cosecha en una bodega.

#### 4.1.4 Patógenos asociados a las pudriciones.

Las enfermedades son una fuente importante de pérdidas en post-cosecha, particularmente en combinación con el daño físico y el estrés por frío. Una larga lista de bacterias y hongos causan pérdidas durante la transportación y el almacenamiento. *Alternaria alternata*, *Colletotrichum* spp., exudado algodonoso por *Pythium*, pudrición blanda por *Rhizopus*, son enfermedades comunes en las cucurbitáceas (Postharvest Technology, 2004).

En base a lo anterior, en un estudio de hongos implicados en la pudrición de zapallo tipo Camote almacenado en bodegas, se utilizaron criterios morfológicos para su identificación. En base a estos criterios, se aislaron los siguientes hongos fitopatógenos: *Rhizopus nigricans.*, *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus wentii* y *Penicillium chrysogenum*. En el estudio se constató la influencia de la temperatura y la humedad relativa sobre el desarrollo de estos hongos (INIA, 2004).

Los hongos asociados a pudriciones de post-cosecha en zapallos de guarda en la localidad de Pelarco se mencionan en el cuadro 4.1.

Cuadro 4.1 Hongos asociados a pudriciones de post-cosecha en zapallos de guarda aislados de ambos ensayos.

- 
- *Alternaria* sp.
  - *Fusarium* sp.
  - *Botrytis* sp.
  - *Penicillium* sp.
  - *Aspergillus* sp.
  - *Rhizoctonia* sp.
-

## 5. DISCUSIÓN.

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad biocontroladora de *Trichoderma* spp. sobre agentes de pudrición en zapallos de guarda, en dos bodegas distintas. Una corresponde a un invernadero y el otro, a una bodega tradicional. *Trichoderma* spp no fue capaz de prevenir en preinfección ni reducir la severidad en postinfección de las pudriciones en ambos ensayos, lo cual se contrapone con diversos estudios realizados en Chile que muestran que es posible el control de enfermedades fungosas mediante el uso de antagonistas, los cuales son aplicados en forma directa sobre el cultivo. Ésto pudo deberse a la presencia de bacterias patógenas en los ensayos, lo cual no fue evaluado.

La aplicación de *Trichoderma* fue de 5 ml. por litro. De acuerdo a estudios, la inhibición es mayor a medida que aumenta la concentración de inóculo del agente biocontrolador (Elad *et al.*, 1980; Hong *et al.*, 1998 y Trutmann 1990). Por esta razón, para ensayos posteriores se recomendaría usar una mayor concentración del biocontrolador por litro de agua y así aumentar la cantidad de inóculo aplicado, como una forma de verificar si este factor afectó la eficiencia de *Trichoderma* como agente controlador

Otro factor que pudo incidir en los resultados obtenidos es que la aplicación fue realizada demasiado tarde. La cosecha fue efectuada en marzo, abril y la aplicación fue el 20 de mayo. Cabe señalar que los zapallos se guardaron mojados al ser cosechados después de una lluvia, condiciones que habrían favorecido el desarrollo y la acción de los hongos causantes de pudriciones de post-cosecha. De acuerdo a estudios realizados por Hong *et al.*, (1998) en *Trichoderma*, y teniendo en cuenta lo mencionado por Cook y Baker (1989), el período entre el establecimiento del patógeno y su esporulación es el más vulnerable para ser desplazado por el antagonista. También indican que el aplicar inóculos de un agente biocontrolador cuando los propágulos del patógeno se encuentran en vías de

formación o antes que sean diseminados, se logrará un mayor control de ellos. Lo anterior se debe a que el antagonista alcanzará una alta concentración de inóculos cuando el patógeno logre una alta densidad, presentando de esta manera el primero ventajas comparativas sobre el segundo. Así resumiendo, con el fin de mejorar la eficiencia de las aplicaciones de *Trichoderma*, se deben realizar otros manejos adicionales. Entre estos, es fundamental limpiar la bodega al finalizar la temporada, con el propósito de reducir las fuentes de inóculos de los agentes patógenos asociados a pudriciones de post-cosecha. También es importante favorecer la ventilación dentro de la bodega, prevenir daños mecánicos de los zapallos, y no cosecharlos mojados. Para nuevos ensayos se podría aplicar *Trichoderma* en más de una oportunidad desde varios días antes de la cosecha a nivel de campo, con el fin de reducir la cantidad de inóculo presente de los patógenos, lo que deberá ser complementado con aplicaciones luego de la cosecha, con esto, se podrá asegurar el establecimiento del biocontrolador en los frutos cosechados.

Una de las medidas preventivas para reducir la pérdida de zapallos es revisar periódicamente la sanidad de ellos en la bodega, ya que al infectarse uno y éste tener contacto con zapallos sanos, provoca la pudrición de éstos.

## 5. CONCLUSIONES.

Para las condiciones de ambos ensayos, *Trichoderma*. no es efectivo en el control de enfermedades de post-cosecha en zapallos de guarda.

El análisis estadístico muestra que la aplicación de *Trichoderma* y la interacción entre los dos factores evaluados en el ensayo (*Trichoderma* y sanidad) no es significativo.

Los patógenos prevalentes en los dos ensayos fueron *Alternaria* sp., *Fusarium* sp. y *Botrytis* sp. y en menor grado, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., y *Rhizoctonia* sp.

## 6. LITERATURA CITADA.

- Agrios, G. 1996. Fitopatología. Noriega editores, Madrid. 2° edición. 530p.
- Casseres, E. 1980. Producción de Hortalizas. Instituto Interamericano de Cs. Agrarias. San José de Costa Rica.
- Cook, R.J. and Baker, K.F. 1989. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. American Phythopathological Society. 2° edition. Minnesota USA, 539 p.
- Elad, y., Chet, I. Y Katan, J. 1980. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70: 119-121 pp.
- Eveleigh, D. E. 1985. *Trichoderma*: En: Biology of Industrial Microorganisms. A. Demain, M. Solomon (eds). 1°. De. The Benjamin/ Cummings Publ. Co. Inc. Menlo Park. California, pp. 487-509.
- Ghisalberti, E.L. y Silvasithampam, K. 1991. Antifungal Antibiotics Produced by *Trichoderma* spp. *Soil Biology Biochemistry* 23:1011-1020.
- Giaconi, V. 1988. Cultivo de Hortalizas. Editorial Universitaria. Sexta edición.
- Harman, G.E. y Lumsden. 1990. Development Tactics for Biocontrol Agents in Plant Pathology. *New Directions in Biological Control. Agricultural Pests and Diseases*, pp. 779-792.
- Hong, C. y Michailides, T. 1998. Effects of Wounding, inoculum density, and Biological control Agents on Postharvest Brown Rot of Stone Fruits. *Plant Disease* 82: 1210-1216.
- INIA, 2004. Biblioteca Central de Investigaciones Agropecuarias (en línea). Disponible en <http://alerce.inia.cl>. Visitado el 10 de noviembre de 2004.
- Latorre, G. 1997. Enfermedades de las Plantas Cultivadas, 4° Edición. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago. 628p.
- Lecuona, R. E. 1996. Microorganismos Patógenos Empleados en el Control Microbiano de Insectos Plaga. Roberto E. Lecuona Editor. Argentina. 338p.
- Lira, R. 1995. Cucurbitáceas Latinoamericanas de Importancia Económica. Instituto de Biología, México.

- Nelson, E. B. 1989. Current Limits to Biological Control of Fungal Phytopathogens. En: Handbook Appl. Mycol. Vol I. Soil and Plants. Arora, D.K.; Rai, R.; Mukerji, K.G .& Knudsen, N.G. New York, pp. 327-355.
- Papavizas, G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, Ecology, and Potential for Biocontrol. Annual Review of Phytopathology 23:23-54.
- Postharvest Technology 2004. Recomendaciones para Mantener la Calidad Post-cosecha (en línea). Disponible en: <http://rics.ucdavis.edu/postharvest2/Produce/ProduceFacts/Español/Calabacita.shtml>. Consultado el 10 de noviembre 2004.
- Sánchez, V.; Bustamente, E. and Shattock, R. Selección de Antagonistas para el Control Biológico de Phytophthora Infestans en Tomate. Manejo Integrado de Plagas. 1998. Costa Rica.
- Saninet 2004. *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatun* (en línea) Disponible en <http://www.iicasaninet.net/pub/sanveg/biocontrol/patogenos/trichoderma.html> Consultado el 13 de agosto. 2004.
- Trutmann, P. Y Keane, P. 1990. *Trichoderma koningii* as a biological control agent for *Sclerotinia sclerotiorum* in southern Australia. Soil Biol. Biochem. 22 (1): 43-50.