

Efectividad *in vitro* de 18 cepas nativas *Trichoderma* spp en el control de *Rhizoctonia solani*, patógeno de suelo, en cultivos protegidos

Socorro García¹, Graciela Godoy² y Colmar Serra ²

Abstract

In the Dominican Republic, 70% of greenhouse structures are involved in the production of bell pepper (*Capsicum annuum* L.). This specie is affected by *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici* and *Athelia rolfsii*. Most producers control these pathogens with synthetic chemical pesticides. This can result in the emergence of resistances, environmental pollution and residues of pesticides at harvest. The present study evaluated the effectiveness of a native and two commercial strains of *Trichoderma* spp., compared with organic and synthetic commercial fungicides over *R. solani*. The study was conducted at the Mata Larga Experimental Station of the Idiaf, at San Francisco de Macorís. For the experiment, it was used a plant pathogen isolated from diseased pepper plants growing in greenhouse and 18 isolated native strains of *Trichoderma* spp., which were previously identified by amplification and sequencing of the ITS rDNA region. The isolates were faced in dual cultures in Petri dishes for eight days. It was used a completely randomized experimental design (CRD) with 25 treatments and four replication. Radial mycelial growth (CMR) in millimeters were measured and the level of suppression of the pathogen at 24, 48, 72, 96, 168 and 192 hours were evaluated. All native strains of *Trichoderma* spp. were effective *in vitro* against the plant pathogen as they showed moderate to high levels of antagonism.

Keywords: Biological control, pathogen, antagonism, dual culture, suppression rates.

Resumen

En la República Dominicana, el 70 % de las estructuras de invernaderos son dedicadas a la producción del cultivo de ají morrón (*Capsicum annuum* L.). El mismo es afectado por los hongos patógenos de suelos *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Athelia rolfsii* y *Phytophthora capsici*. La mayoría de los productores tratan de controlar estos fitopatógenos con plaguicidas químico-sintéticos. Esto puede producir la aparición de resistencias, contaminación ambiental y presencia de residuos en las cosechas. El presente estudio evaluó la efectividad de cepas nativas y dos comerciales de *Trichoderma* spp. comparado con fungicidas comerciales orgánicos y químico sintéticos sobre *R. solani*. El estudio se realizó en la Estación Experimental Mata Larga del Idiaf, San Francisco de Macorís. Se utilizaron 18 aislados de cepas nativas de *Trichoderma* spp.; las mismas fueron previamente identificadas por amplificación y secuenciación de la región ITS rADN y un fitopatógeno aislado de plantas enfermas del cultivo de ají de invernadero. Los aislados se enfrentaron en cultivo dual durante ocho días en platos Petri. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar (DCA) con 25 tratamientos y cuatro repeticiones. Se midió el crecimiento micelial radial (CMR) en milímetros y se evaluó el nivel de supresión del patógeno a las 24, 48, 72, 96, 168 y 192 horas. Todas las cepas nativas de *Trichoderma* spp. resultaron efectivas *in vitro* contra *R. solani*, ya que mostraron niveles antagonismo desde moderado hasta alto.

Palabras clave: Control biológico, patógeno, antagonismo, cultivo dual, grado de supresión.

INTRODUCCIÓN

El ají es una de las principales hortalizas de importancia económica en el mundo y se utiliza principalmente como condimento. En la República Dominicana, el ají es sembrado tanto a nivel de campo como en estructura bajo ambiente protegido (invernaderos), especialmente el ají morrón, *Capsicum annuum* L. (CEI-RD 2010).

En la República Dominicana el 70 % de las estructuras para la producción agrícola bajo ambiente protegido (invernaderos) son dedicadas a la producción de este cultivo (Promefrin 2011). El cultivo es afectado por

microorganismos fitopatógenos como *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. (1881), *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn (1858), *Athelia rolfsii* (Curzi) C.C. Tu & Kimbr. (1978) y *Phytophthora capsici* Leonian (1922), entre otros. Hubert (2008) reportó en agua de riego y sustratos utilizados en invernaderos de San José de Ocoa la presencia de los géneros *Fusarium* (100 %), *Phytophthora* (50 %) y *Rhizoctonia* (41.5 %).

¹ Lcda. M.Sc., Tesis de maestría en Manejo Integrado de Plagas, Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD), socorrogarcia@hotmail.com

² Asesores de Tesis, Maestría en MIP, UASD, Investigadores Titulares, Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (Idiaf), colmar.serra@gmx.net; ggodoykitty@gmail.com

La mayoría de los productores controlan estos fitopatógenos con fungicidas químico-sintéticos. El abuso de estos productos conlleva a un aumento del riesgo de aparición de resistencia, contaminación ambiental y presencia de residuos en las cosechas. A esto se suma que los mercados de alimentos son cada día más exigentes de productos libres de plaguicidas sintéticos (García *et al.* 2006).

Los problemas de alta incidencia de enfermedades radiculares causados por hongos fitopatógenos de suelos, generalmente conllevan a un manejo químico intensivo. Este método resulta ser desventajoso para el productor tanto en el ámbito económico como ecológico, debido al aumento de los costos de producción y los daños al medio ambiente (Reyes *et al.* 2008).

El control biológico con hongos fitopatógenos puede evitar el rechazo en los mercados internacionales por contaminación con residuos de plaguicidas químico-sintéticos. Además, se disminuyen los costos de producción (García *et al.* 2006). En el control microbiológico se cuenta con hongos del género *Trichoderma*. Estos hongos han sido utilizados de manera eficaz en el manejo de enfermedades causadas por diferentes fitopatógenos de suelo en laboratorios, invernaderos y campos en diversos cultivos (Harman 2006, Samuels 2004 y Stefanova 2007).

Biopreparados de *Trichoderma* spp. redujeron significativamente el mal del talluelo (damping-off) causado por *Phytophthora* spp., *R. solani*, *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. (1923), *A. rolfsii* y *Fusarium* spp. *in vitro*, en condiciones semicontroladas y en campo (Stefanova y Sandoval 1995). *T. harzianum* Rifai, (1969) (cepa A34) mostró buena efectividad en el control de enfermedades causadas por *Phytophthora parasitica*, *P. capsici* y *R. solani* en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y ají (*C. annuum*) bajo condiciones de laboratorio y campo (Sandoval *et al.* 1995).

Hoyos *et al.* (2008) reportaron que todos los aislados de *Trichoderma* spp. provenientes de suelos de Colombia, a nivel *in vitro* demostraron un alto poder antagónico contra los hongos *A. rolfsii* y *R. solani*, mientras que, a nivel de invernadero solo cuatro de *T. asperellum* (Samuels 2004) y una de *T. longibrachiatum* Rifai, (1969) fueron efectivos contra *A. rolfsii* en semilleros de plántulas de frijol (> 90 % inhibición de la enfermedad) y dos de *T. asperellum* controlaron a *R. solani* en semilleros de plantas de algodón (58-61 % reducción de la enfermedad). Según Guigón y González (2003) cepas de *Trichoderma* spp. a nivel *in vitro* disminuyeron significativamente ($p \leq 0.01$) el desarrollo micelial de *P. capsici* en un 45% y 51 %.

La utilización de cepas nativas de *Trichoderma* spp. podría ser ventajosa sobre el uso de cepas introducidas. Cepas nativas son adaptadas a las condiciones locales

y a la vez, promoverían la creación de microempresas nacionales para la producción de biopreparados formulados. El objetivo de este estudio fue evaluar la efectividad de cepas nativas y dos comerciales de *Trichoderma* spp., comparado con fungicidas comerciales orgánicos y químico sintéticos para el control de *R. solani*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó durante el período del 5 al 13 de agosto, 2013, en el laboratorio de Protección Vegetal del Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (Idiaf), en Mata Larga, San Francisco de Macorís, provincia Duarte. Se utilizaron 18 cepas nativas de *Trichoderma* spp. y un patógeno (*R. solani*). Las cepas procedieron de aislamientos en suelos, sustratos y raíces en invernaderos de las provincias de La Vega, San José de Ocoa y Espaillat, Tabla 1.

Estas cepas fueron obtenidas bajo el proyecto, "Determinación de Alternativas Biológicas para el Control de Patógenos de Suelos en la Producción de Vegetales en Invernadero", con el apoyo del Consejo Nacional de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (Coniaf). Las cepas se conservan en el Laboratorio de Fitopatología de la Estación Experimental Mata Larga del Idiaf (García *et al.* 2015). Las mismas fueron identificadas previamente por amplificación y secuenciación de la región ITS rADN. García *et al.* (2015) presenta el análisis comparativo del genoma de los diferentes aislados de *Trichoderma* spp. usados en este estudio con las bases de datos disponibles en el GenBank.

Rhizoctonia solani fue aislado de plantas de ají con síntomas de marchitamiento, procedentes de invernaderos de la provincia Hermanas Mirabal. Se usaron dos productos comerciales a base de las especies de *Trichoderma*: *T. lignorum* (Mycobac® 10WP) y *T. harzianum* (PHC Plant Shield® 1.15 WP), un producto orgánico comercial (Biomaster®) conteniendo aceites vegetales: clavo (*Eugenia caryophyllus* (Spreng.), 6%), sésamo (*Sesamum indicum* L. 5%), romero (*Rosmarinus officinalis*, 3%), y tomillo (*Thymus vulgaris*, 3%). También se utilizó un fungicida químico-sintético cuyo ingrediente activo es azoxistrobina (Criba®25 EC).

Los aislados de *Trichoderma* spp. y el fitopatógeno se cultivaron por separados en medio PDA en placas de Petri de 86 mm de diámetro por cinco días en la oscuridad a 28 ± 2 °C. De los dos grupos de aislados, del patógeno de plantas y de los antagonistas se tomaron discos de micelio de 2 mm de diámetro del crecimiento exterior o más próximo al borde del plato de Petri y se colocaron en cultivo dual enfrentados, Figura 1. Así permanecieron por ocho días más a la misma temperatura (26-29 °C) dentro de la incubadora.

Tabla 1. Cepas nativas de *Trichoderma* spp., utilizadas en el ensayo.

Especie	Códigos del ensayo	Lugar de procedencia
<i>Trichoderma</i> sp. (no id.)	1D	San José de Ocoa
<i>T. asperellum</i>	1A	"
	2F	"
	6B	"
	7A	"
	10A	"
	11A	La Vega
	22C	Constanza
	25A	"
	27A	Villa Trina
	28A	"
	31C	"
	36A	Jarabacoa
37B	"	
<i>T. harzianum</i>	13A	La Vega
	16B	Jarabacoa
	19B	"
<i>T. longibrachiatum</i>	12A	La Vega

Fuente: García *et al.* 2015.

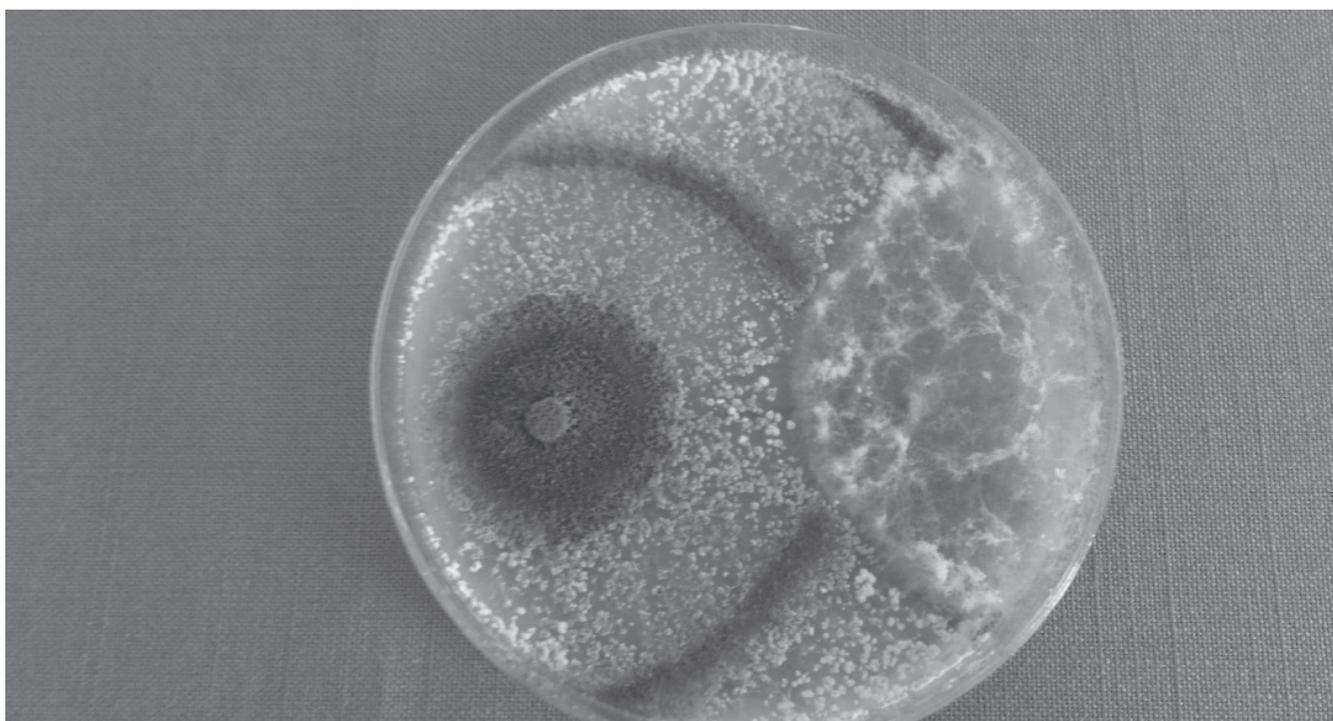


Figura 1. Cultivo dual: *Trichoderma* sp. versus *R. solani*

Los productos comerciales a base de *Trichoderma* spp. se cultivaron con diluciones seriadas 10² y 10³ en medio de cultivo PDA (papa, dextrosa, agar). Para esto se diluyó 1 gramo del producto en 9 ml de agua destilada estéril. Luego de su crecimiento se tomó un disco de 2 mm y se purificó para su posterior enfrentamiento con el fitopatógeno.

Para el tratamiento con el aceite orgánico se emplearon dos dosis, 0.2% y 0.4% v/v diluidas en el medio PDA. El aceite se aplicó al medio de cultivo cuando éste se encontraba a una temperatura entre 45-50 °C y luego se distribuyó en los platos de Petri, procediéndose a la siembra del hongo fitopatógeno.

El fungicida a base de azoxistrobina se utilizó en la dosis recomendadas por el fabricante de 0.15%, el cual se realizó de dos formas: la primera con el uso de papel filtro estéril y sumergiéndolo en una dilución del fungicida de 0.15 ml/100 ml de agua destilada estéril, luego se colocaba un disco del micelio de 2 mm de diámetro del fitopatógeno en frente del disco de papel filtro con el fungicida. La segunda realizando la dilución en el medio de cultivo con 0.15 ml del fungicida en 100 ml de PDA y se procedió a la colocación de disco de micelio de 2 mm de diámetro del fitopatógeno.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. Los tratamientos estuvieron formados por 18 cepas nativas de *Trichoderma* spp., dos cepas de *Trichoderma* spp. comerciales, dos dosis de los aceites orgánicos y un fungicida químico-sintético, Tabla 2. La unidad experimental estuvo formada por un plato Petri.

Se evaluó el crecimiento micelial radial (CMR) de ambos microorganismos en milímetros a las 24, 48, 72, 96, 168 y 192 horas. El CMR fue medido sobre la línea recta que une los centros de los dos discos, donde se determinó la longitud desde el borde del disco sembrado hasta el borde de la colonia en crecimiento, Figura 2. Se determinó el porcentaje del crecimiento micelial del patógeno inhibido por la presencia de *Trichoderma* spp. Para esto se utilizó una modificación de la fórmula de Abbott (1925) de mortalidad corregida: $(Cpt-CpT) \times 100/CpT$, donde: Cpt = crecimiento del patógeno en el testigo, CpT = crecimiento del patógeno enfrentado con *Trichoderma*. El antagonismo de los aislados de *Trichoderma* sobre el fitopatógeno se clasificó desde nulo a muy alto, según la escala cualitativa presentada en la Tabla 3. Esta es una escala arbitraria preparada por la autora (García *et al.* 2013).

Las variables estudiadas se analizaron con el programa estadístico Infostat®, versión 2009 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). Se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, y se realizaron análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis ($P \leq 0.05$) seguido de la comparación de rangos medios para comparar los promedios entre sí y análisis de contrastes comparando tratamientos agrupados según las características comunes como género, especies y tipo de fungicidas.

Tabla 2. Descripción de los 25 tratamientos

n	Tratamientos	Descripción
1	Testigo relativo de <i>R. solani</i>	El hongo patógeno cultivado frente a un disco de medio de cultivo (PDA).
20	<i>Trichoderma</i> spp. vs. <i>R. solani</i>	Cada una de las cepas de <i>Trichoderma</i> spp. (nativas y comerciales) enfrentadas por separado con cada el patógeno.
2	Aceites orgánicos vs. <i>R. solani</i>	El patógeno sembrado en medio de cultivo (PDA) más dos dosis de una mezcla de aceites orgánicos.
2	Fungicida químico-sintético vs. <i>R. solani</i>	El patógeno enfrentado por separado con el fungicida químico sintético en un disco de papel filtro y además sembrado en medio de cultivo (PDA) más una dosis del fungicida químico.

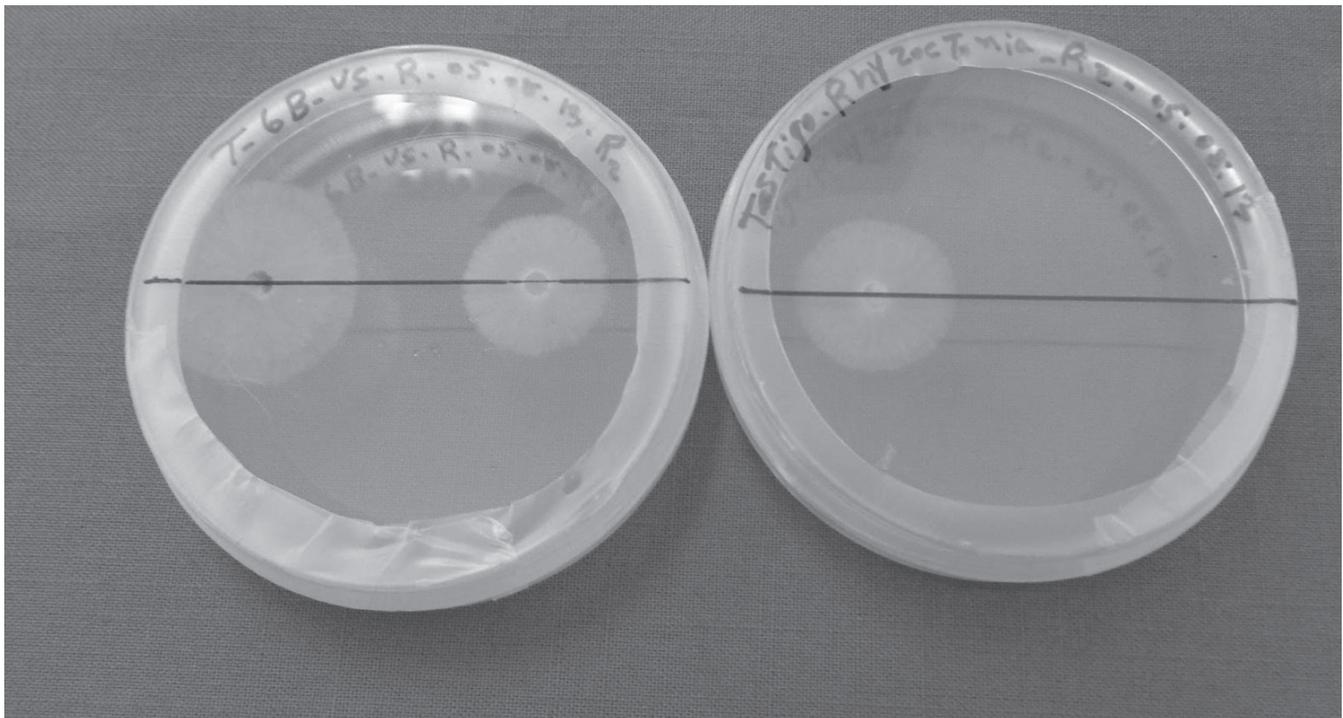


Figura 2. Crecimiento micelial radial

Tabla 3. Escala cualitativa para determinar la efectividad antagonista (antagonismo) de *Trichoderma* spp. sobre *R. solani* según la reducción del crecimiento micelial.

Grado	Antagonismo	Reducción del crecimiento micelial de <i>Trichoderma</i> spp., sobre <i>R. solani</i> (%)
	Nulo	≤ 0
1	Bajo	1-25
2	Moderado	26-66
3	Alto	67-85
4	Muy alto	≥ 86

Fuente: García *et al.* 2013

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el desarrollo micelial de las cepas de *Trichoderma* spp. vs. el fitopatógeno *R. solani*, los análisis estadísticos mostraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos en todos los periodos de evaluación, Tabla 4. A las 24 horas el tratamiento Th-16B fue el que presentó el mayor crecimiento micelial (14.0 mm), seguido de Ta-36A (13.8 mm) y Th-comercial (13.50 mm), mientras los que tuvieron menor crecimiento micelial fueron TI-comercial (2.0 mm) y I Th-13A (5.0 mm). A las 48 horas todos los tratamientos presentaron crecimiento micelial de 20 mm en adelante, el menor crecimiento lo mostró el TI-comercial (5.25 mm); el mayor lo presentó TI-12A (31.25 mm). En la última evaluación (192 horas) las cepas que proyectaron los mejores resultados fueron las Th-16B, Tx-1D, TI-12A, Ta-2F, Ta-37B, Ta-7A, Ta-1A y Ta-6B entre 60.0 y 62.8 mm, el menor creci-

miento lo mostró TI-comercial (11.25 mm) y el mayor el Th-16B (62.8 mm). Los demás tratamientos mostraron un crecimiento micelial entre 46.0 y 58.8 mm. (Tabla 4, Figura 3).

En la mayoría de los tiempos evaluados el análisis estadístico arrojó diferencias altamente significativas ($P \leq 0.0001$) para el desarrollo micelial de *R. solani*. El patógeno presentó los valores más altos del crecimiento micelial en los tratamientos testigo (línea negra) y azoxistobina en disco (línea morada *), en comparación con el desarrollo en los tratamientos con las cepas de *Trichoderma* spp. Estas cepas, excepto el producto biológico comercial de *T. lignorum* (TI-comercial), superaron la supresión del crecimiento micelial a los fungicidas comerciales (azoxistrobina en disco y los aceites en

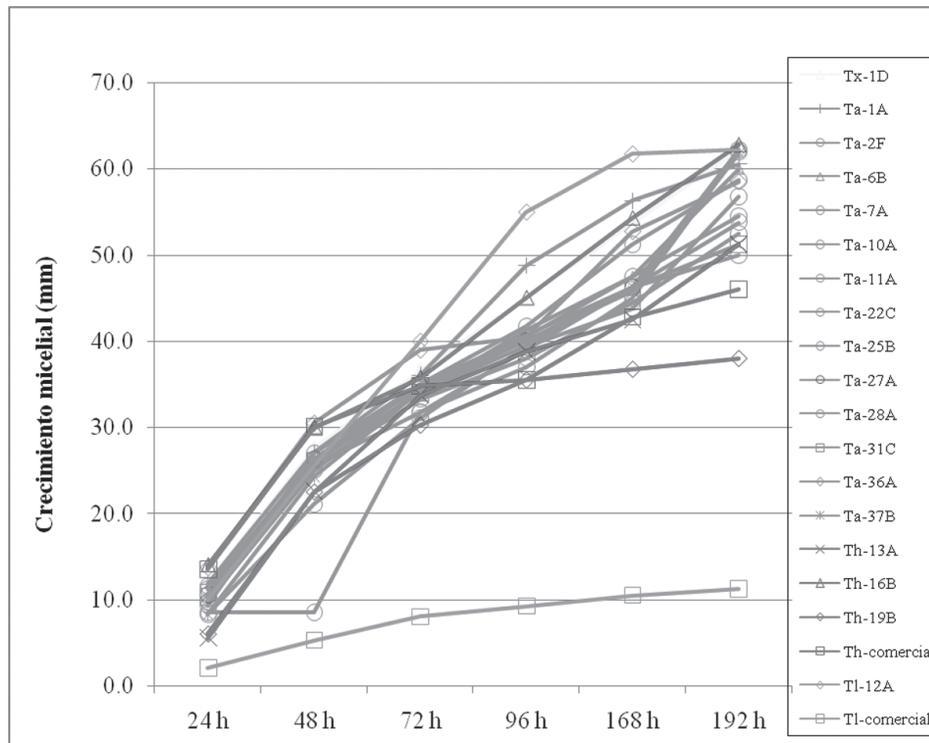


Figura 3. Crecimiento micelial in vitro de *Trichoderma* spp. enfrentado a *R. solani* en un periodo de 24 a 192 horas.

Tabla 4. Crecimiento micelial in vitro de las cepas antagonistas (*Trichoderma* spp.) en presencia de *Rhizoctonia solani* en un periodo 24 a 192 horas

Trat.	24 h		48 h		72 h		96 h		168 h		192 h	
Tx-1D	11.8	fgh	27.5	defg	36.5	def	45	def	53.5	efgh	62.3	d
Ta-1A	11.8	fgh	27.0	cdefg	36	def	48.8	ef	56.3	gh	60.5	cd
Ta-2F	8.5	abcde	24.3	abc	31.8	abc	37	abc	45	abcd	62	d
Ta-6B	10.5	defgh	26.3	bcde	34	bcd	41.3	cde	47.5	bcdefg	60	cd
Ta-7A	9.8	bcdef	25.0	abcd	34.5	bcd	40.8	cde	46.3	abc	62.3	d
Ta-10A	11.5	fgh	25.5	abcd	33.3	abcd	38	abc	44.5	bcdef	52.5	abc
Ta-11A	9.8	bcdef	25.5	abcd	31.8	abc	39	abc	46.3	cdefgh	50	abc
Ta-22C	9.3	abcdef	27.0	cdefg	35	cdef	41.8	cdef	51.3	ab	58.8	bcd
Ta-25B	8.3	abcd	21.0	ab	31	ab	39.3	abcd	43.8	abcde	56.8	bcd
Ta-27A	10.5	defgh	26.3	bcdef	34.8	bcde	40	bcd	46.3	bcdefg	53.8	abc
Ta-28A	11.3	efgh	26.3	bcdef	35	cdef	40.5	bcde	47.5	abcde	54.5	abc
Ta-31C	10.3	cdefg	26.0	bcde	34	bcd	39.5	abcd	46.3	defgh	51.3	abc
Ta-36A	13.8	gh	30.5	fg	39	ef	40.5	bcde	52.8	abcd	58.5	bcd
Ta-37B	8.3	abcde	24.3	abc	34.3	bcd	40	bcd	45.8	ab	61.8	d
Th-13A	5.5	ab	22.5	abc	33.8	bcde	38.8	bcd	42.5	ab	51.3	abc
Th-16B	14	h	30.0	efg	35.8	def	45	def	54.3	fgh	62.8	d
Th-19B	6.0	abc	22.5	bcde	30.3	bcde	35.5	bcd	36.8	ab	38	a
Th-comercial	13.5	gh	30.0	efg	34.8	bcd	35.5	ab	42.8	abc	46	ab
TI-12A	10	bcdef	31.3	g	40	f	55	f	61.8	h	62.3	d
TI-comercial	2.0	a	5.3	a	7.5	a	9.3	a	10.5	a	11.3	a
CV	10.82		10.77		9.93		9.43		9.03		7.28	
p=	0.0001***		0.0001***		0.0001***		0.0001***		0.0001***		0.0001***	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes Kruskal Wallis ($p \geq 0.05$)

ambas dosis). Se destaca que estos dos últimos tratamientos desde las 24 hasta las 96 horas inhibieron el crecimiento del patógeno, pero luego fueron superados por los demás tratamientos. Los tratamientos de *Trichoderma* spp. inhibieron eficientemente el crecimiento micelial de *R. solani* a partir del día 2 (48 horas). Figura 4.

En la Figura 5 están representados los porcentajes de supresión del crecimiento micelial de *R. solani* en presencia de los diferentes tratamientos en un periodo de 24 hasta 192 horas. La trayectoria de esta capacidad inhibitoria de crecimiento se puede notar a partir de las 48 horas en la mayoría de las cepas. Cabe destacar que las cepas de los antagonistas más los productos biológi-

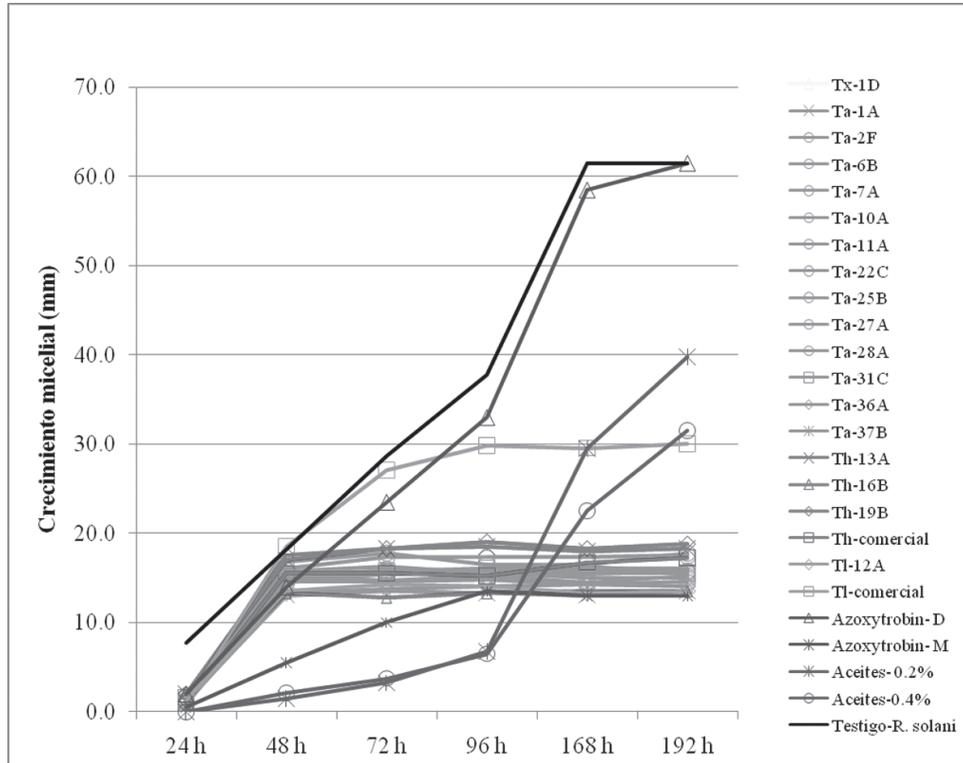


Figura 4. Crecimiento micelial in vitro de *R. solani* en presencia de los diferentes tratamientos en un periodo de 24 a 192 horas.

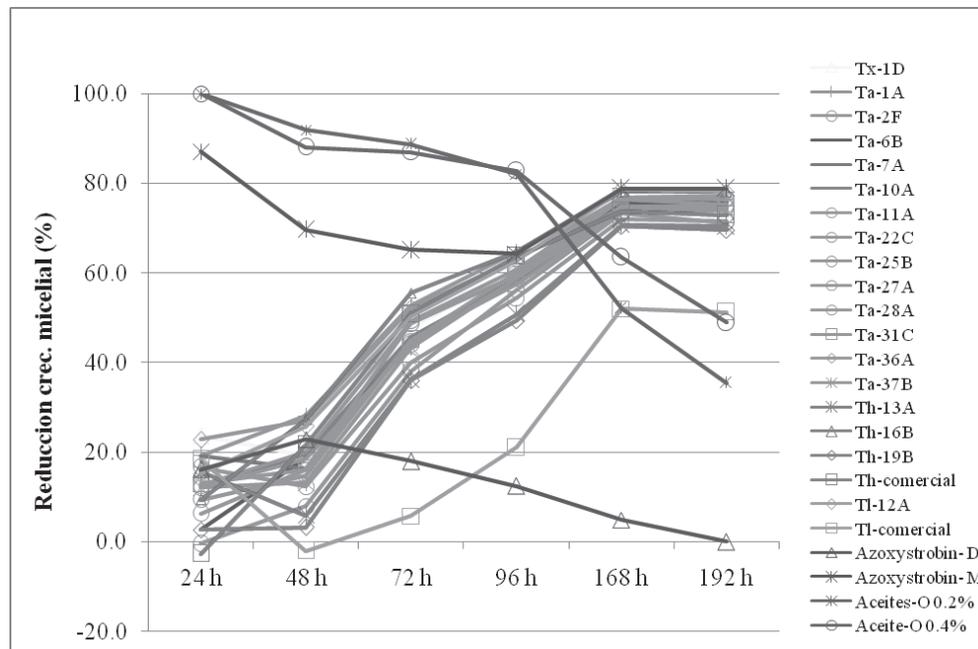


Figura 5. Porcentaje supresión crecimiento micelial de *R. solani* en presencia de los diferentes tratamientos en un periodo de 24 hasta 192 horas.

cos comerciales son más efectivas que el fungicida comercial en disco (azoxistrobina) ya que obtuvo un nivel nulo (-0.03 %), en cambio en medio de cultivo fue alto (78.8 %) y los aceites en ambas dosis fueron con niveles moderados (35.3 % y 48.8 %). En la última evaluación (192 horas) el 100 % (18) de las cepas registraron un nivel de antagonismo alto contra este fitopatógeno en plato de Petri. Así también resultó el producto biológico comercial a base de *T. harzianum* con un nivel alto (73.0 %), pero no así el de *T. lignorum* con un nivel moderado (51.2 %). Todas las cepas de *Trichoderma* spp. suprimieron el crecimiento micelial de *R. solani* observándose diferencias altamente significativas ($P \leq 0.0001$) en todos los periodos de evaluación, Tabla 6.

En este ensayo las cepas que mostraron el mayor porcentaje de inhibición fueron Ta-1A y TI-12A, ambas con 78.1 %; Th-16B (78.0 %), Ta-36A (77.2 %), pero se comportaron estadísticamente iguales a las cepas Tx-1D, Ta-6B, Ta-7A, Ta-10A, Ta-11A, Ta-22C, Ta-27A, Ta-28A, Ta-31C y Ta-37B, las cuales presentaron entre 74.4 y 76.4 %. En la Figura 6 se observa la inhibición de *T. asperellum*-1A sobre el *R. solani* en cultivo dual comparado con el testigo, y en la figura 7 nivel de antagonismo de todas las cepas frente a *R. solani*.

En el análisis de los contrastes #1, 2 y 3, representado en la tabla 7 hubo diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0.0001^{***}$) en las tres horas seleccionadas, resultando en el primer contraste el grupo mejor a las 192 horas él de los *Trichoderma* spp., en el segun-

Tabla 5. Porcentaje de supresión *in vitro* del crecimiento micelial de *R. solani* en presencia de los diferentes tratamientos en un periodo 24 a 192 horas

Tratam.	24 h		48 h		72 h		96 h		168 h		192 h	
Tx-1D	23.6	abcd	19.2	abc	47.8	cdefgh	60.3	cde	73.9	bcdefghi	75.6	defgh
Ta-1A	19.2	bcde	28.1	cde	52.6	efgh	64.7	ef	78.8	j	78	gh
Ta-2F	-0.4	ab	7.9	ab	38	abc	56.2	abcd	73.1	abcdefg	71.1	abcde
Ta-6B	2.6	abc	18.6	abc	45	abcdef	58.7	bcde	75.6	fghij	75.6	efgh
Ta-7A	19.2	abcde	16.3	abc	45.1	bcdef	58.2	abcde	74.3	fghij	74.7	defgh
Ta-10A	12	abc	19.5	bcd	45.7	bcdef	58.7	cde	74	cdefghi	74.4	bcdefgh
Ta-11A	12.5	abc	20	bcd	49.2	cdefg	60.7	cdef	76.8	ghij	76.4	fgh
Ta-22C	6.2	abc	16	abc	48.6	cdefgh	59.5	cde	76.4	fghij	75.2	defgh
Ta-25B	16.5	abcd	12.3	abc	40	abcd	54.3	abc	71.9	abcdef	71.5	abcde
Ta-27A	9.3	abc	14.7	abc	44.7	bcdef	60.1	cde	74.8	efghij	74.8	defgh
Ta-28A	12	abc	18.4	abc	43.9	abcdef	58.7	bcde	74.8	defghij	74.4	cdefgh
Ta-31C	12.9	abc	16	abc	45	bcdef	57.5	abcde	73.5	abcdefg	74.7	defgh
Ta-36A	22.7	cde	27	cde	52.1	fgh	62.9	def	76.8	fghij	77.2	fgh
Ta-37B	12	abc	13.1	abc	43.3	abcdef	58.7	bcde	74	cdefghi	74	bcdefg
Th-13A	15.6	abcd	5.8	ab	36	abc	50.7	abc	70.7	abcde	70.3	abcd
Th-16B	9.3	abc	27.3	cde	55.5	fgh	64.7	ef	78	hij	78	gh
Th-19B	2.6	abc	3.2	ab	36	abcde	49.3	abc	70.3	abcdefg	69.5	abcde
Th-comercial	-2.7	a	21.5	bcd	50.8	efgh	63.7	def	73.7	bcdefgh	73	abcdef
TI-12A	15.1	abcd	25.7	cde	50.3	defgh	62.8	def	78.4	ij	78	h
TI-comercial	18.3	abcde	-2	a	5.7	a	21	ab	52	ab	51.2	abc
Azoxistrobina-D	16	abcd	22.8	bcde	17.9	ab	12.3	a	4.8	a	0	a
Azoxistrobina-M	87	de	69.5	de	65	gh	64.2	ef	78.8	hij	78.8	fgh
Aceite-0.2%	100	e	91.8	e	88.6	h	81.9	f	52	abc	35.3	a
Aceite-0.4%	100	e	88	e	86.9	gh	82.7	f	63.4	abcd	48.8	ab
CV	61.69		39.80		13.15		8.32		3.85		4.16	
p=	0.0014***		0.0001***		0.0001***		0.0001***		0.0001***		0.0001***	

Medias con una letra común no son significativamente diferentes Kruskal Wallis ($p \leq 0.05$)

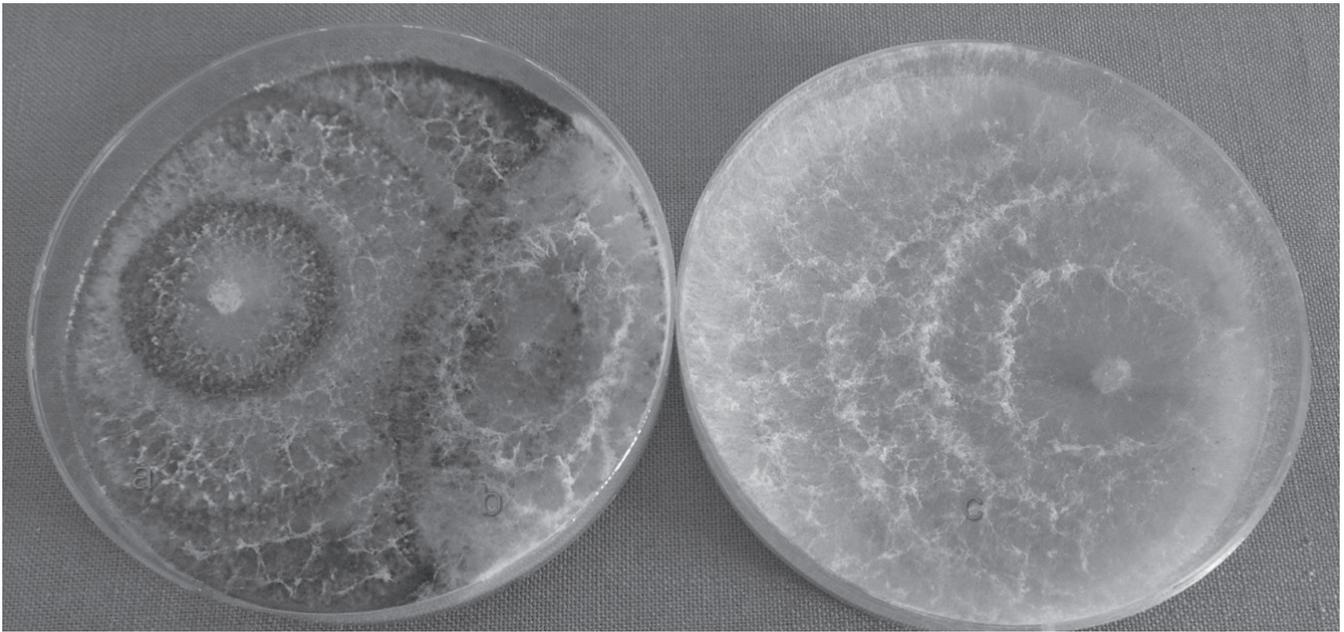


Figura 6. Cultivo dual entre *T. asperellum*-cepa 1A (a) y *R. solani* (b) y el Testigo = *R. solani* (c) a las 192 hora

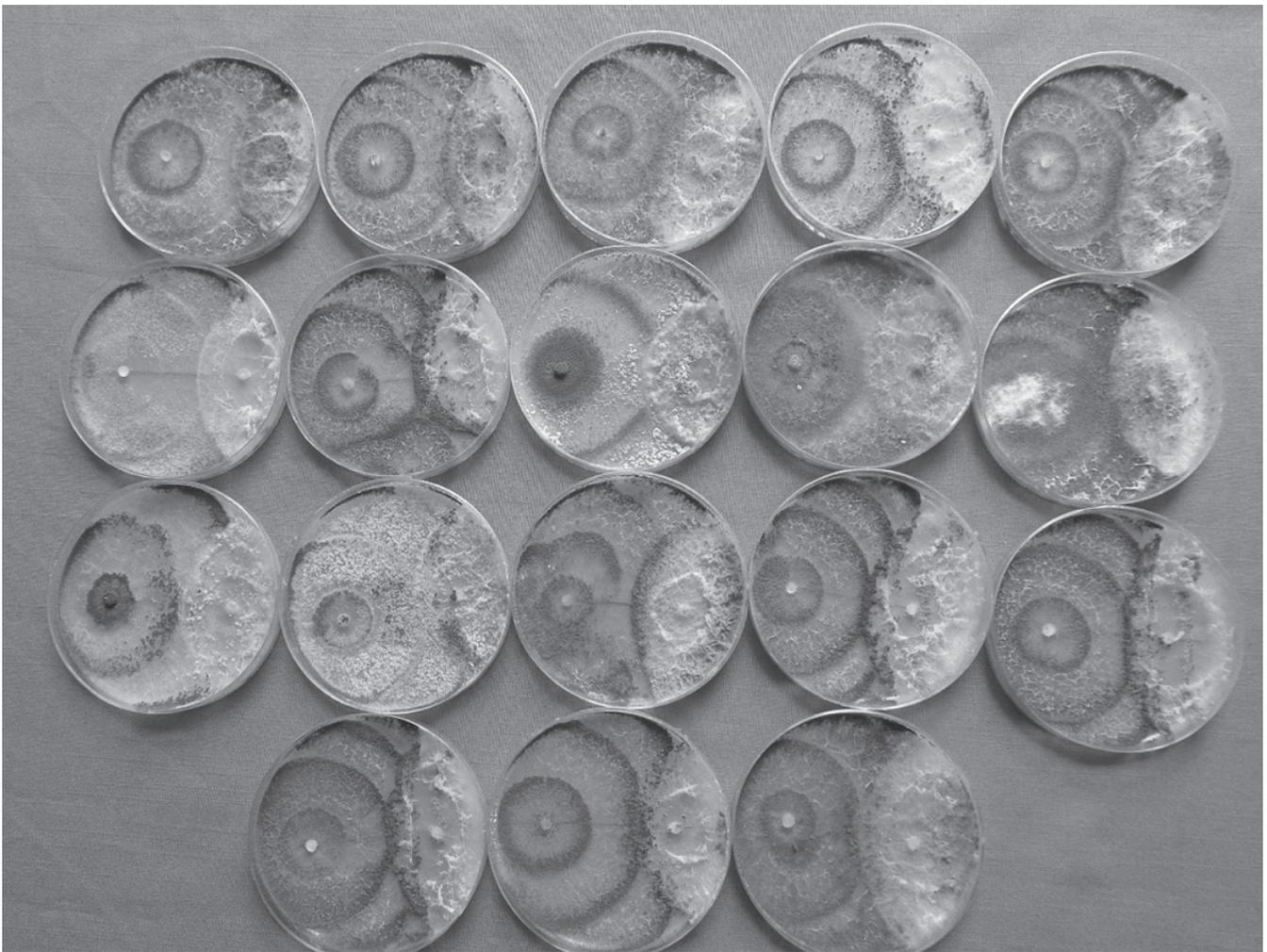


Figura 7. Nivel de supresión del crecimiento de las cepas de *Trichoderma* spp. (izq.) vs. *R. solani* (der.)

Tabla 7. Análisis de contrastes sobre el porcentaje de supresión del crecimiento micelial de *R. solani* en presencia de los diferentes tratamientos a las 48, 72 y 192 hora.

	Contrastes (Grupo 1 vs. Gr. 2)	Tratamientos (Grupo 1 vs. Gr. 2)	Significancia (p=)		
			48 h	72 h	192 h
1	<i>Trichoderma</i> spp. vs. Fungicidas comerciales Promedios%	T1-18, 24 vs. T21-23	<0.0001*** 17.2-83.2	<0.0001*** 45.8-80.2	<0.0001*** 74.6-54.3
2	<i>T. asperellum</i> vs. Fungicidas comerciales Promedios%	T1, 3-7, 12-18 vs. T21-23	<0.0001*** 17.6-83.2	<0.0001*** 45.7-80.2	<0.0001*** 74.9-54.3
3	<i>T. harzianum</i> vs. Fungicidas comerciales Promedios %	T9-11, 24 vs. T21-23	<0.0001*** 14.5-83.2	<0.0001*** 44.6-80.2	<0.0001*** 72.7-54.3
4	<i>T. asperellum</i> vs. <i>T. harzianum</i> Promedios%	T1, 3-7, 12-18 vs. T9-11, 24	0.2824ns 1 7.6-14.5	0.5517ns 45.7-44.6	0.0124* 74.9-72.7

P: nivel de probabilidad; ***= altamente significativo (P<0.001); ns= no significativo.

do los *T. asperellum* y en el tercero los *T. harzianum*. Sin embargo, en los tres contrastes, inicialmente a las 42 y 72 horas sus efectos de supresión fueron superados por los resultados medios del grupo 2 (fungicidas comerciales: azoxistrobina y a base de aceites vegetales). En el contraste # 4 solamente hubo diferencias estadísticas (P<0.05*) superando el efecto de los *T. asperellum* al de los *T. harzianum* a las 192.

Estos porcentajes de inhibición son mayores que los encontrados por Chávez (2006), que reportó antagonismo *in vitro* de 46.5 y 62.5 % contra *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp., respectivamente. Los mismos se relacionan con los obtenidos por Reyes *et al.* (2008) y Hoyos *et al.* (2008) quienes reportaron alto poder de supresión de cepas de *Trichoderma* spp. sobre fitopatógenos *in vitro*.

CONCLUSIONES

- Todas las cepas nativas de *Trichoderma* spp. resultaron efectivas *in vitro* contra el fitopatógeno *R. solani* ya que mostraron antagonismo con niveles de supresión altos.
- Las cepas nativas y comerciales de *Trichoderma* spp. mostraron mayores efectos antagonistas que los fungicidas comerciales orgánicos y químico-sintéticos sobre el fitopatógeno al finalizar el ensayo (192 horas).

- Las cepas nativas de *Trichoderma* spp. presentaron mayores efectos antagonistas sobre el fitopatógeno que las cepas comerciales de *T. harzianum* y *T. lignorum*.
- La cepa comercial de *T. harzianum* fue comparable a las cepas nativas, sin embargo, *T. lignorum* no fue eficiente debido posiblemente a un mal manejo durante el almacenamiento o comercialización.
- En los análisis de contrastes sobre el porcentaje de supresión del crecimiento micelial de *R. solani*, los grupos mejores respuestas fueron *Trichoderma* spp., *T. asperellum* y *T. harzianum* a las 192 horas.

RECOMENDACIONES

- Realizar experimentos probando la eficiencia de los aislados de *Trichoderma* frente al fitopatógeno *R. solani* a nivel de invernadero y campo.
- Evaluar las mismas y otras cepas nativas de *Trichoderma* spp., *in vitro* y bajo condiciones de ambiente protegido, para el control de hongos fitopatógenos de suelo.

LITERATURA CITADA

- Abbott, W. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Classic paper: Abbott's formula. Journal of the American Mosquito Control Association. 3(2):302-303.
- CEI-RD (Centro de Exportación e inversión de la República Dominicana). 2010. Perfil Económico Ajíes y Pimiento 2010. Gerencia de Investigación de Mercados. Sub-Gerencia de Estadísticas Dominicanas Exporta. 19 p.
- Chávez, M. 2006. Producción de *Trichoderma* sp. y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (*Dendrathera grandiflora*). Trabajo de grado de Microbiología Industrial. Universidad Javeriana. Bogotá. CO. 113 p.
- García, R.; Riera, R.; Zambrano, C.; Gutiérrez, L. 2006. Desarrollo de un fungicida biológico a base de una cepa de *Trichoderma harzianum* proveniente de la Región Andina Venezolana. Fitosanidad. 10(2): 115-121.
- García, S.; Moya, J.; Núñez, P.; Andújar, F.; Avilés, E. 2013. Efectividad *in vitro* de cepas de *Trichoderma* spp. en la supresión del crecimiento micelial fitopatogenos de suelos. 6to. Congreso SODIAF. Resúmenes. Juan Dolio, San Pedro de Macorís. DO. 18p.
- García, P.; Moya, J.; Avilés, E.; Andújar, F.; Núñez, P. 2015 (en imprenta). Efectividad de *Trichoderma* spp. sobre el crecimiento micelial de fitopatógenos de suelo en plato Petri. Sociedad Dominicana de Investigadores Agropecuarios y Forestales, Revista APF, 4(2).
- Guigón, C.; González, P. 2003. Selección de cepas nativas de *Trichoderma* spp. con actividad antagónica sobre *Phytophthora capsici* Leonian y promotoras de crecimiento en el cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología (enero-junio) 22(001): 117-124.
- Harman, G. 2006. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. Symposium The Nature Application of Biocontrol Microbes II: *Trichoderma* spp. 96 (2). The American Phytopathological Society Cornell University. Geneva, N.Y.
- Hoyos, L.; Chaparro, P.; Abramsky, M.; Chet, L.; Orduz, S. 2008. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. Agronomía Colombiana. 26 (3): 451-458.
- Hubert, R. 2008. Diagnóstico de manejo e identificación de microorganismos patógenos presentes en el cultivo de ají (*Capsicum annuum* L.) bajo invernadero en San José de Ocoa, República Dominicana. Tesis para optar por el título de Máster en Ciencias Manejo Integrado de Plagas. Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD). 70 p.
- Promefrin (Programa de Mercado Frigoríficos e Invernadero, DO). 2011. Datos estadísticos. Ministerio de Agricultura. Santo Domingo, DO.
- Reyes, Y.; Martínez, B.; Infante, D. 2008. Evaluación de la actividad antagónica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. Revista Protección Vegetal. 23 (2): 112-117.
- Sandoval, I.; Ofelia, M.; García D.; Mendoza, I. 1995. *Trichoderma harzianum* (Cepa A34): Un biopreparado de amplio espectro para micopatyologías del tomate y del pimiento. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), La Habana, CU. Boletín técnico 4. 38 p.
- Samuels, G. 2004. *Trichoderma*: a guide to identification and biology. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service. Systematic Botany and Mycology Laboratory. Beltsville, MD. 40 p.
- Stefanova, M.; Sandoval, I. 1995. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. Promisorias contra patógenos fúngicos. In: Efectividad de Biopreparados de *Trichoderma* spp. en el control de hongos fitopatógenos de suelo. Ed. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV), La Habana, CU. Boletín técnico 2. 22 p.
- Stefanova, N. 2007. Introducción y eficacia técnica del biocontrol de fitopatógenos con *Trichoderma* spp. en Cuba. Fitosanidad, 11. (3). P75-79. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, La Habana, CU.

