



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

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOCONTROLADORA DE DOS  
CEPAS NATIVAS DE *TRICHODERMA* SPP. SOBRE AISLADOS DE  
HONGOS BASIDIOMYCETES ASOCIADOS A MUERTE DE BRAZOS  
EN KIWI**

**MEMORIA DE TITULO**

**CLAUDIO ANDRES HUMERES VALENZUELA**

**TALCA – CHILE**

**2004**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA DE AGRONOMIA**

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOCONTROLADORA DE  
DOS CEPAS NATIVAS DE *TRICHODERMA* SPP. SOBRE  
AISLADOS DE HONGOS BASIDIOMYCETES ASOCIADOS A  
MUERTE DE BRAZOS EN KIWI**

Por

**CLAUDIO ANDRES HUMERES VALENZUELA**

**MEMORIA DE TITULO**

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

**INGENIERO AGRÓNOMO**

**Talca, 2004**

## **Hoja de aprobación**

---

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

---

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

**Fecha de presentación de Tesis: 23 de Abril 2004**

## **Agradecimientos**

En primer lugar deseo dar las gracias a mi familia por su comprensión y apoyo incondicional en todos los momentos de mi vida.

También agradecer a mi profesor guía e informante don Mauricio Lolas y Claudio Sandoval por sus sugerencias y consejos para llevar a feliz termino este trabajo.

A todos mis amigos con los cuales compartí gratos momentos y me brindaron su ayuda para no desistir en aquellos periodos complicados en mi paso por esta Universidad y que estuvieron hasta el final a mi lado, a todos ellos sinceramente muchas gracias.

## RESUMEN

El efecto inhibitorio de *Trichoderma* spp. Cepas nativas Trailes y Queule sobre el crecimiento de 8 aislados de hongos Basidiomycota colectados desde madera de plantas de kiwi , fue evaluado *in vitro*. Ambos hongos (biocontrolador y Basidiomycota) fueron enfrentados en placas petri, en donde ambos fueron sembrados como trozos de micelio circulares de 5 mm de diámetro proveniente de cultivos puros. Se realizaron dos ensayos a temperaturas de 25 y 4°C los cuáles fueron detenidos cuando se observó alrededor de un 50 % de crecimiento de las placas testigo del patógeno u ocurriera contacto entre los hongos ubicados en cultivos duales. A 25 °C el análisis estadístico arrojó que la interacción *Trichoderma* spp. - Basidiomycota resultó ser altamente significativa ( $p < 0,001$ ), obteniéndose porcentajes de inhibición de los hongos Basidiomycota que fluctuaron entre 85,9 y 25,1 %. La cepa de *Trichoderma* sp. utilizada tuvo un efecto inhibitorio similar, siendo ambas cepas igualmente efectivas. El análisis de varianza del ensayo a 4 °C para la interacción *Trichoderma* spp. – Basidio reflejó ser no significativo ( $p = 0,70$ ) en el porcentaje de inhibición del fitopatógeno. También, la cepa de *Trichoderma* sp. utilizada tuvo un efecto inhibitorio similar a esta temperatura de incubación. El tipo de aislado Basidiomycota tuvo un efecto altamente significativo ( $p = 0.00$ ) presentando porcentajes de inhibición que oscilaron entre 49,1 y 20,2 %. Aunque en ambos ensayos se logró establecer la capacidad biocontroladora de *Trichoderma* spp. sobre los aislados fitopatógenos , se obtuvo que a una temperatura de 25 °C se alcanzó un mayor crecimiento de *Trichoderma* spp. y un mayor porcentaje de inhibición del patógeno en comparación con el ensayo a 4 °C , postulándose que a esta temperatura actuaría un mecanismo de micoparasitismo. Por otra parte, a 4°C se observó un crecimiento casi nulo de *Trichoderma* spp. operando un mecanismo de inhibición de liberación de sustancias inhibitoras que difunden a través del agar.

## ABSTRACT

The inhibitory effect of the *Trichoderma* spp. native strains "Trailes" and "Queule" on eight isolates of Basidiomycota fungi collected from kiwi. Plants, was evaluated *in vitro*. Agar pieces, containing the biocontroller and the pathogenic fungi, were placed in petri dishes, each one at one side of the plate. These were kept at two different temperatures (25 and 4 °C) until the pathogenic fungi covered 50% of the surface of the petri dish or both (the biocontroller and the basidiomycota isolate) get in contact. The statistical analysis of the essay performed at 25 °C showed differences ( $p= 0,001$ ) for the interaction *Trichoderma* spp – basidiomycota isolate. with inhibition percentages of 85,9 and 25,1% Both strains, "Queule" and "Trailes" were effective as biocontroller. On the other hand, at 4 °C. No statistical differences were found for the interaction *Trichoderma* spp. And basidiomycota isolate ( $p=0,70$ ). The inhibition percentages ranged between 49,1 and 20,2% even though at both temperatures *Trichoderma* spp resulted as a good biocontroller of the different basidiomycota isolates, at 25 °C *Trichoderma* spp presented a higher growing rate and a better behavior as a biocontroller which could be explained by a mycoparasitism mechanism at the high temperature. At 4 °C the control effect would be related with a release of inhibitory substances by *Trichoderma* spp.

## ÍNDICE DE MATERIAS

	<b>Página</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISION BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>3</b>
2.1 Antecedentes del cultivo	3
2.1.2 Descripción de la planta	3
2.1.3 Variedades	3
2.1.4 Aspectos agronómicos	4
2.2 Enfermedades del kiwi	5
2.2.1 Plateado en kiwi	5
2.2.2 Estrategias de control de la enfermedad	6
2.3 Control biológico de la enfermedad	7
2.4 <i>Trichoderma</i> spp	8
2.4.1 Morfología y taxonomía	8
2.4.2 Control de hongos fitopatógenos con <i>Trichoderma</i> spp.	8
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>11</b>
3.1 Ubicación del ensayo	10
3.2 Recolección de muestras	10
3.3 Metodología de aislamiento de hongo fitopatógenos desde basidiocarpos	10
3.4 Inhibición del crecimiento del micelio	12
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>14</b>
4.1 Recolección de muestras	14
4.2 Evaluación de la capacidad biocontroladora de <i>Trichoderma</i> spp. sobre hongos Basidiomycetes colectados de plantas de Kiwi	18
4.3 Identificación taxonómica de los aislados Basidiomycota encontrados en madera con sintomatología de “muerte de brazos y plantas de Kiwi”	26

4.4 Discusión Final	27
<b>V. CONCLUSIONES</b>	<b>29</b>
<b>VI. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>30</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Página</b>
<b>Capítulo III</b>	
3.1 Tratamientos <i>in vitro</i> utilizados para determinar la capacidad antagonista de <i>Trichoderma</i> spp (T) sobre aislados de hongos basidiomycetes en kiwi (B).	<b>13</b>
<b>Capítulo IV</b>	
4.1 Caracterización de los basidiocarpos presentes en madera de kiwi y total de muestras recolectadas en cada lugar visitado por zona de producción.	<b>15</b>
4.2 Inhibición del crecimiento de aislados de hongos basidiomycetes colectados desde plantas de kiwi, en cultivos duales incubados <i>in vitro</i> por 5 días a 25 °C.	<b>20</b>
4.3 Inhibición del crecimiento de aislados de hongos fitopatógenos colectados desde plantas de kiwi, en cultivos duales incubados <i>in vitro</i> por 30 días a 3 °C.	<b>23</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Capítulo II</b>	
2.1 Planta de kiwi con hojas senescentes atacada por "plateado"	6
2.2 Morfología de <i>Trichoderma</i> spp.	9
2.3 Micoparasitismo de <i>Pythium</i> por parte de una cepa de <i>Trichoderma</i> spp. sobre la superficie de una semilla de arveja	10
<b>Capítulo III</b>	
3.1 Cultivo dual <i>in vitro</i> de los hongos <i>Trichoderma</i> spp y aislados de hongos fitopatógenos	13
<b>Capítulo IV</b>	
4.1 Basidiocarpo colectado en terreno que corresponde a aislados B1,B2 y B3	16
4.2 Basidiocarpo colectado en terreno que corresponde a aislados B4, B6 y B8	16
4.3 Basidiocarpo colectado en terreno que corresponde a aislados B5 y B7	17
4.4 Basidiocarpo colectado en terreno sin obtención de aislados	17
4.5 Basidiocarpo colectado en terreno sin obtención de aislados	18
4.6 Efectividad biocontroladora de <i>Trichoderma</i> spp. sobre aislados de hongos Basidiomycetes colectados de plantas de kiwi ( T <sup>o</sup> de incubación de 25 °C).	20
4.7 <i>Trichoderma parceanamosum</i> cepa nativa Trailles con el aislado basidiomycete B2, incubadas a una T <sup>o</sup> de 25 <sup>o</sup> C.	21
4.8 Placas testigos del crecimiento final de <i>Trichoderma</i> spp transcurridos 10 días de incubación a 25 <sup>o</sup> C.	21
4.9 Placas testigos del crecimiento final de aislados de Basidiomycetes transcurridos 10 días de incubación a 25 °C.	22

4.10 Inhibición del crecimiento de aislados fitopatógenos frente a cepas de <i>Trichoderm</i>	22
4.11 Cultivo dual de <i>Trichoderma</i> spp (lado izquierdo de la placa) con el aislado Basidiomycete B2, durante 30 días a de 4 °C de temperatura.	25
4.12 Cultivo dual de <i>Trichoderma</i> spp con el aislado Basidiomycete B2 y B3, incubada durante 10 días a una temperatura de 4 °C.	25
	<b>Página</b>
4.13 Placas testigos del crecimiento de <i>Trichoderma</i> spp. transcurridos 10 días de incubación a 4 °C.	25

## I. INTRODUCCIÓN

El kiwi cuyo nombre científico es *Actinidia deliciosa* (anteriormente denominada *Actinidia chinensis*) pertenece a la familia Actinidiaceae. Originario de China, fue introducido en nuestro país en el año 1974 (Rosenberg, 1988), realizándose las primeras plantaciones comerciales en el año 1978 (Kulczewski, 1988).

Considerado a comienzos de los años 80 como un fruto exótico, el kiwi ha tenido uno de los desarrollos más rápidos vistos en la producción, comercialización y aceptación de una fruta en el mundo. Su producción mundial aumentó de 200.000 toneladas en 1985 a cerca de un millón en la actualidad. Chile es el tercer mayor productor a nivel mundial con 145.000 toneladas tras Italia y Nueva Zelanda, con una superficie de aproximadamente 8.000 hectáreas que se distribuyen desde la tercera a la décima región (Fernández, 1988).

La introducción de nuevas especies de plantas y su cultivo en nuevas zonas geográficas involucra por una parte el riesgo potencial de introducir nuevas plagas y enfermedades, y por otra el que plagas o enfermedades, existentes en la nueva región geográfica afecten esta nueva especie (Latorre, 1992). En este aspecto el kiwi no es la excepción, y en especial sus frutos se han visto afectados por diferentes bacteriosis y micosis. Sin embargo debido a condiciones climáticas, manejo agronómico y factores de la planta, ninguna de las enfermedades ha logrado tener la severidad necesaria para comprometer el desarrollo del cultivo; por lo tanto el control de éstas no se ha transformado en una limitante económica importante (Latorre, 1992).

El “plateado” o “mal del plomo” es una enfermedad provocada por el hongo basidiomicete *Chondrostereum purpureum* (= *Stereum purpureum*), de presencia mundial y que se encuentra ampliamente distribuida en nuestro país, presentándose con mayor intensidad entre la V y VII

regiones. El hongo ataca y afecta la madera de numerosos huéspedes, especialmente árboles frutales de hoja caduca. Durante la primavera de 1990, plantas adultas de kiwi expresaron síntomas característicos de esta enfermedad tales como cambios en la coloración, marchitez y deformación de las hojas, retraso en la brotación y coloración café en la madera de las ramas, que comprometían la planta tanto a nivel externo como interno (Alvarez, 1991). Posteriormente, Calderón (2002) pudo asociar distintos aislados de hongos Basidiomycetes a muerte de brazos en plantas adultas de kiwi, estableciéndose que además de la enfermedad “plateado”, existen otras expresiones de daño causado por estos agentes patógenos. Desde esa fecha en adelante, la incidencia y severidad de este síndrome ha aumentado drásticamente en las zonas productoras, siendo insuficientes los métodos de control descritos por la literatura tanto chilena como extranjera (M. Kulczewski, mencionado por Calderon, 2002).

Considerando lo anterior, el presente proyecto de memoria tiene como objetivo general, evaluar la posibilidad de controlar hongos basidiomycetes involucrados en “muerte de brazos” en kiwi localizados en tres sectores de la VII región, mediante el uso de aislados nativos del hongo *Trichoderma* spp. Por otra parte como objetivo específico se plantea comparar la acción biocontroladora *in vitro* de *Trichoderma parceanamosum* cepa nativa Trailles y *T. harzianum* cepa nativa Queule sobre los aislados antes mencionados.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Antecedentes del cultivo

El kiwi es una planta de clima subtropical, de hoja caduca, que requiere un periodo de frío invernal para salir del receso. Posee un hábito de crecimiento trepador, semejante a una enredadera que se debe apoyar necesariamente en alguna estructura de conducción para su desarrollo (CORFO, 1989).

#### 2.1.2 Descripción de la planta

Desde el punto de vista reproductivo, el kiwi es una planta dioica, donde existen plantas machos y plantas hembras. Las flores nacen en racimos de 2 a 3 unidades en las axilas de las hojas ubicadas en los 6 a 8 nudos basales del brote en crecimiento. La inducción floral ocurre durante el verano, pero la diferenciación de estas flores sólo se observa entre salidas de invierno y días antes de floración. El fruto es una baya de forma elipsoidal, cuya piel es de color pardo, cubierta de vellosidades. La pulpa es de color verde esmeralda con una gran cantidad de semillas dispuestas en forma radial (CORFO, 1989).

#### 2.1.3 Variedades

Por tratarse de una planta dioica, es necesario considerar en el huerto tanto variedades femeninas (que producen la fruta), como masculinas (que producen el polen indispensable para obtener cuajas abundantes y de buen calibre). Entre las variedades hembras la única cultivada en Chile y que constituye sobre el 90% de la producción mundial es Hayward, debido a su mayor calibre de fruta y buena conservación en almacenaje y transporte. Las variedades machos plantadas son Matua y Tomuri que han producido cuajas cercana al 100% de las flores y con buen calibre a la cosecha (Kulczewski, 1988).

#### **2.1.4 Aspectos agronómicos**

El mercado del kiwi se caracteriza por un alto grado de competencia internacional, exigiendo altos parámetros de calidad con respecto al calibre, contenido de azúcar y color del fruto. Estos, están determinados a la cosecha por el genotipo, manejo del huerto y factores climáticos, y después de esta por los tratamientos que afectan la fenología del fruto. Con respecto al manejo de huerto es fundamental realizar labores culturales adecuadas en cuanto a poda, polinización, nutrición y uso de biorreguladores que permitan la obtención de altos rendimientos y calidades óptimas (Costa, 1994).

El sistema de conducción es uno de los aspectos más importantes para determinar la productividad y calidad de un cultivo de kiwi, entendiéndose por esto la poda que será necesaria realizar a lo largo de la vida de la planta y la forma en que se guiará el crecimiento de esta (CORFO, 1989). Así debe realizarse una poda formativa en invierno para guiar la estructura de la planta (tronco y dos brazos laterales) y una poda de producción que se realiza tanto en verano como en invierno con el objetivo de proveer a la planta de una estructura racional de ramas productivas, que permita una buena distribución de cargadores, un eficiente uso del espacio y una buena exposición a la luz (Godoy y Arpaia, 2002).

La plantación de kiwi necesita de un alambrado y una postación para soportar las vigorosas plantas por muchos años. La postación debe hacerse en el primer año de plantación. Los primeros sistemas consistían en cercas de varios alambres similares a la espaldera. Luego se desarrolló un sistema en pérgola, o cerca de un sólo alambre. Posteriormente, buscando mayor control de las plantas, comenzó la práctica del "T-bar" (terminación en T sobre los postes) para dar mayor estabilidad a las plantas. Estas estructuras llevan un alambre en el centro y otro en cada extremo de la cruceta (uniendo las T), y sobre ellos crece la planta. En huertos de la VII región se ha encontrado que en condiciones óptimas en pérgolas se pueden llegar a producir 55 t/ha y 40-45 t en barra T, sin embargo normalmente estos huertos producen 30-40 t/ha (Rosenberg, 1988).

## 2.2 Enfermedades del kiwi

A través del tiempo el kiwi se ha comportado como un frutal comparativamente más sano que los demás, ya que ha sido poco atacado por plagas y enfermedades. Sin embargo, se han detectado ciertos problemas fitosanitarios como nemátodos (*Meloidogyne* spp.), que restringen el crecimiento de plantas nuevas (Kulczewski, 1988). También se han identificado enfermedades fúngicas como pudrición de raíces causada por *Phytophthora* spp.; pudrición gris en frutos cuyo agente causal es *Botrytis cinerea*; y pudrición carbonosa de raíces ocasionada por el hongo *Macrophomina phaseolina* (Latorre, 1992).

### 2.2.1 Plateado en kiwi

Las plantas de kiwi atacadas por el plateado, presentan síntomas que pueden comprometer desde cargador hasta brazos completos (Figura 2.1). En primavera, la enfermedad se manifiesta por un retraso en la brotación, follaje escaso, (debido a la defoliación prematura) y coloración gris metálica en las hojas. Avanzada la estación, las hojas alcanzan un menor tamaño, muestran sectores necróticos en su lámina y una deformación (acucharamiento) que termina con el secado y caída de estas. La coloración café producida por la enfermedad puede llegar hasta el xilema del tronco principal, comprometiendo a la planta en su totalidad (Álvarez, 1991).

En 1991, Álvarez et al., determinaron que el organismo descrito como agente causal de la enfermedad denominada "plateado del kiwi" correspondía al hongo basidiomycete *Chondrostereum purpureum*. Este constituye un patógeno muy polífago que se disemina a través del viento o por medio de plantas contaminadas en forma incipiente. A nivel mundial, se presenta en zonas de clima templado, sin embargo es más severa en regiones con inviernos suaves y húmedos (Percy, 1996).

**Figura 2.1** Planta de kiwi con hojas senescentes atacada por “plateado”.



### **2.2.2 Estrategias de control de la enfermedad**

Para el control de la enfermedad, existen manejos con preventivos y curativos. Para prevenir la enfermedad es necesario evitar la poda en días con alta humedad relativa, lluvias o lloviznas ya que las heridas de poda efectuadas sobre la madera son la principal entrada del patógeno mediante sus esporas diseminadas por la lluvia. Así, se deberán cubrir los cortes en madera de dos o más años con pastas fungicidas.

Con el propósito de disminuir las fuentes de inóculo, se debe destruir la madera afectada eliminada en poda y los cuerpos frutales del hongo presentes en álamos, sauces y eucaliptus o los formados en los postes cercanos.

Como medidas curativas en primavera, las plantas deberían examinarse cuidadosamente con el propósito de detectar hojas que muestren “plateado”. Adicionalmente debe detectarse aquella madera que muestre tinción café oscura, la que tiene que extirparse y quemarse (Alvarez, 1991).

### 2.3 Control biológico de enfermedades

El control biológico se refiere, por un lado, al fenómeno natural que consiste en la regulación del número de plantas y animales por medio de enemigos naturales (parásitos, predadores y patógenos), y por otro lado a la manipulación de esos agentes naturales por el hombre para reducir las pérdidas en agricultura, forestación o productos comerciales (Zerba, 1994).

Uno de los organismos biocontroladores más exitosos para el control de enfermedades por patógenos del suelo ha sido el hongo micoparásito *Trichoderma* spp. hace 72 años Weindling (1932), vislumbró el potencial para el uso de *Trichoderma* como agente de control biológico. Este investigador, el primero en demostrar que había actividad *micoparasítica* de hongos de este género hacia patógenos como *Rhizoctonia solani*. Varias especies de *Trichoderma* spp han sido probadas como agentes de biocontrol. Entre ellas *T. harzianum* *T. viride* y *T. virens*. Han sido las más efectivas en controlar diversas especies de hongos fitopatógenos de suelo que son de importancia agrícola y económica.

Los tratamientos con *Trichoderma* spp. deben ser combinados con otras prácticas agrícolas para el control de los hongos fitopatógenos, surgiendo lo que se conoce como manejo integral de pestes. Ahmad y Baker (1987) produjeron mutantes de *T. harzianum* tolerantes a Benomyl que pueden ser usados en el campo con dosis subletales de este fungicida. También se puede combinar el uso de *T. harzianum* con dosis bajas de bromuro de metilo, captan, pentacloronitrobenceno (PCNB) o con solarización. Asimismo, las limitaciones de una sola cepa para crecer en distintas condiciones de temperatura, pH, tipo de suelo, etc. condujeron a la práctica de mezclar distintas cepas de *Trichoderma* spp. para conseguir un biocontrol adecuado en una amplia variedad de situaciones.

## **2.4 *Trichoderma* spp.**

Persoon en 1974 propuso el género *Trichoderma* con cuatro especies, de las cuales solo una, *T. viridae*, pertenece ahora al género. Anteriormente en el año 1926, Abbott consideró que había cuatro especies en el género, lo cuál fue aceptado por Gilman en 1957. Rifai en 1969 revisó el género *Trichoderma* para incluir nueve especies más, y esto ha sido hasta ahora generalmente aceptado (Cook y Baker, 1989). Sin embargo, muchos aislados encontrados en el suelo no se ajustan exactamente a alguna de las nueve especies (Chet, 1987).

### **2.4.1 Morfología y taxonomía**

*Trichoderma* pertenece a un género de hongos saprófitos, siendo habitantes comunes del suelo y reconocidos por sus esporas verdes.

Pertenece a la subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes, familia Moniliaceae. Posee conidióforos erectos o arrastrados, altamente ramificados, más o menos cónicos, débil o fuertemente verticilados. Las fiálides tienen apariencia de un juego de bolos en racimos o separadas, desde las cuales son sostenidas las conidias no septadas, subglobosas a elipsoidales y viscosas, a menudo reunidas en forma de pelota a la entrada de éstas (Figura 2.2). Comúnmente forma clamidosporas, intercaladas o raramente terminales, las cuales son globosas a elipsoidales, hialinas y de pared suave. Las colonias en cultivo usualmente son de rápido crecimiento, flocosas, suaves, blancas a verdes (Rifai, 1969, citado por Cook y Baker, 1989).

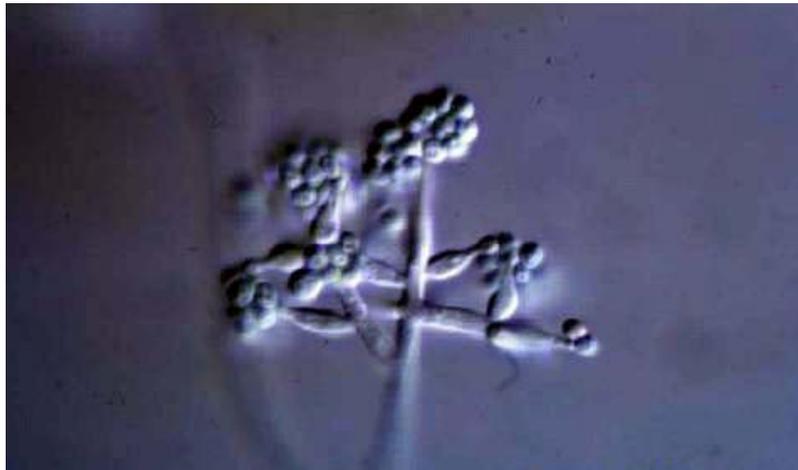
### **2.4.2 Control de hongos fitopatógenos con *Trichoderma* spp.**

El género *Trichoderma* ha sido evaluado por muchos investigadores por su eficacia en el biocontrol de hongos patógenos de plantas (Beagle y Papavizas, 1985). Desde 1930 se conocen las capacidades micoparásitas de *Trichoderma* spp., y desde entonces se ha investigado su uso

como controlador de enfermedades fungosas (Cook y Baker, 1989), convirtiéndose en el hongo antagonista más estudiado, con publicaciones que demuestran su efecto contra patógenos como *Armillaria mellea*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium* sp., *Verticillium dahliae* y *Gliocladium* sp., entre otros (Wainwright, 1992).

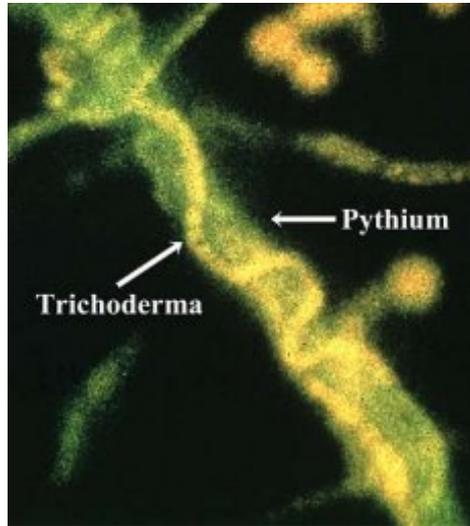
El método de control de *Trichoderma* contra hongos fitopatógenos es principalmente a través de competencia y predación. Los micelios rodean a las hifas del hongo presa, produciendo un estrangulamiento, seguido de una penetración que termina por desintegrar a las mismas. Posterior a esto, el micoparásito se alimenta de este sustrato (Figura 2.3). Es sabido que algunas razas de *Trichoderma* producen antibióticos que actúan sobre *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* produciendo una degradación de sus hifas (Cook y Baker, 1989).

**Figura 2.2** Morfología *Trichoderma* spp.



Fuente [www.doctorfungus.org/thefungi](http://www.doctorfungus.org/thefungi)

**Figura 2.3** Micoparasitismo de *Pythium* por parte de una cepa de *Trichoderma* sobre la superficie de una semilla de arveja. La cepa de *Trichoderma* fue coloreada con un tinte anaranjado fluorescente, mientras que *Pythium* fue coloreado con un tinte verde.



Fuente [www.iicasaninet.net](http://www.iicasaninet.net)

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Ubicación del ensayo**

El ensayo se realizó en el Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias, ubicado en las dependencias de la Universidad de Talca.

#### **3.2 Recolección de muestras**

Durante el mes de Agosto de 2003, se realizó una recolección de plantas en 3 huertos de kiwi ubicados en la localidad de Curicó, Molina y Talca en la séptima región. Las plantas fueron seleccionadas de acuerdo a la presencia de signos (basidiocarpos) presentes en ellas, originándose desde los sectores de ésta con sintomatología de muerte de brazos. Tanto madera afectada como basidiocarpos presentes fueron colectados y llevados rápidamente al Laboratorio de Fitopatología para su procesamiento.

#### **3.3 Metodología de aislamiento de hongo fitopatógenos desde madera infectada y de basidiocarpos**

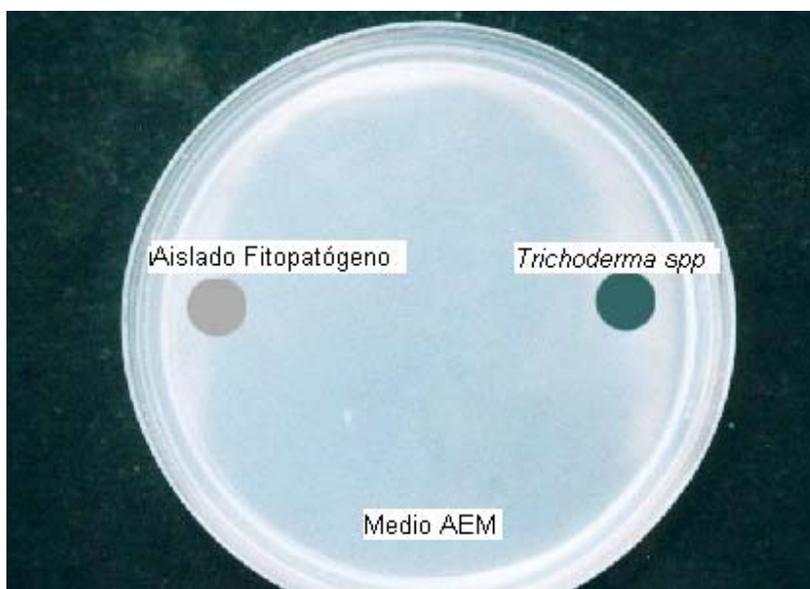
Para aislar el hongo, trozos de madera de la zona de origen del basidiocarpo, fueron separados y lavados abundantemente con agua destilada estéril para retirar posibles restos de polvo. Luego, estos trozos fueron desinfectados superficialmente con alcohol al 75% por un minuto, y nuevamente enjuagados con abundante agua destilada estéril. Posteriormente, trocitos de este tejido desinfectado fueron sembrados asépticamente en placas Petri que contenían agar-extracto de malta (AEM, 2%). Las placas fueron incubadas a 25°C por 15 días, y posteriormente trozos de micelio de los crecimientos fungosos obtenidos fueron replicados nuevamente en placas Petri con

AEM al 2% e incubados a 25°C por 15 días para la obtención de cultivos puros. Posteriormente éstos fueron mantenidos a una temperatura de 4 °C hasta ser analizados. La determinación de hongos Basidiomycota fue realizada de acuerdo a caracteres morfológicos, principalmente a través de la presencia de fíbulas o conexiones laterales entre dos células de la hifa dicariótica de estos hongos (Lazo, 2001)

### **3.4 Inhibición del crecimiento del micelio**

A fin de evaluar la actividad antagónica de cepas biocontroladoras de *Trichoderma* spp. en los aislados puros obtenidos, se realizó una siembra conjunta de ambos hongos ubicados uno frente al otro en bordes opuestos (cultivos duales) de la misma placa Petri, (Figura 3.1). Como medio de cultivo, se utilizó AEM y como testigos se utilizó la siembra única del aislado Basidiomycete y de *Trichoderma* spp, en uno de los bordes de la placa Petri con AEM. Las cepas nativas del hongo *Trichoderma* spp. utilizadas fueron: *T. harzianum* cepa Queule y *T. parceanamosum* cepa Trailles. Se realizaron dos ensayos a diferentes temperaturas de incubación, 4 y 25 °C, los cuales fueron dispuestos en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2x8, (2 cepas de *Trichoderma* spp y 8 aislados Basidiomycetes) (Cuadro 3.1). Cada tratamiento constó con 5 repeticiones y la inhibición observada fue medida en cm y comparada con el crecimiento del testigo. Con los resultados obtenidos, se calcularon las medias y su desviación estándar de la inhibición lograda para cada combinación *Trichoderma* spp. / Basidiomycete. Del mismo modo, los datos de inhibición, fueron sometidos a un análisis de varianza (ANDEVA) y en caso de existir diferencias significativas, las medias fueron diferenciadas con el test Tukey (HSD) ( $P \leq 0.05$ ).

**Figura 3.1** Cultivo dual *in vitro* de los hongos *Trichoderma* spp y aislados de hongos fitopatógenos.



**Cuadro 3.1** Tratamientos *in vitro* utilizados para determinar la capacidad antagonista de *Trichoderma* spp (T) sobre aislados de hongos basidiomycetes en kiwi (B).

Tratamientos	
T1B1	Cepa Trailles ( <i>Trichoderma parcenamosum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 1
T1B2	Cepa Trailles ( <i>Trichoderma parcenamosum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 2
T1B3	Cepa Trailles ( <i>Trichoderma parcenamosum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 3
T1B4	Cepa Trailles ( <i>Trichoderma parcenamosum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 4
T1B5	Cepa Trailles ( <i>Trichoderma parcenamosum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 5
T1B6	Cepa Trailles ( <i>Trichoderma parcenamosum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 6
T1B7	Cepa Trailles ( <i>Trichoderma parcenamosum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 7
T1B8	Cepa Trailles ( <i>Trichoderma parcenamosum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 8
T2B1	Cepa Queule ( <i>Trichoderma harzianum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 1
T2B2	Cepa Queule ( <i>Trichoderma harzianum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 2
T2B3	Cepa Queule ( <i>Trichoderma harzianum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 3
T2B4	Cepa Queule ( <i>Trichoderma harzianum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 4
T2B5	Cepa Queule ( <i>Trichoderma harzianum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 5
T2B6	Cepa Queule ( <i>Trichoderma harzianum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 6
T2B7	Cepa Queule ( <i>Trichoderma harzianum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 7
T2B8	Cepa Queule ( <i>Trichoderma harzianum</i> ) v/s aislado Basidiomycete 8

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Recolección de muestras

Durante la visita a cada uno de los huertos prospectados, se detectaron plantas con estructuras micóticas de reproducción (basidiocarpos) sobre ramas o brazos principales. Estas estructuras presentaban diferencias morfológicas entre sí, por lo tanto en base a esta diferenciación se colectó un total de 19 muestras de basidiocarpos, los que fueron agrupados según características relevantes. En prospecciones anteriores, Calderón (2002), observó estas mismas formaciones sobre ramas o brazos, que presentaban síntomas de marchitez y necrosis de la lámina foliar, así como muerte generalizada de brazos y plantas (Cuadro 4.1).

Los basidiocarpos colectados son presentados en las Figuras 4.1 a 4.5, correspondiendo cada una a un hongo Basidiomycete diferente. Una propuesta de identificación no corroborada es presentada en una sección siguiente, utilizando las claves propuestas por The National Audobon Society (2001) y Lazo (2001). Con los aislados fungosos obtenidos se procedió a realizar los estudios de antagonismo con los hongos biocontroladores nativos *Trichoderma harzianum* y *T. parceanamosum*.

**Cuadro 4.1.** Caracterización de los basidiocarpos presentes en madera de kiwi y total de muestras recolectadas en cada lugar visitado por zona de producción.

Tipo de basidiocarpo	Zona	Huerto	N° de muestras colectadas	Rotulación aislados obtenidos
Basidiocarpo resupinado, poroso de color grisáceo, con márgenes blanco grisáceos y de extremos secos ennegrecidos, creciendo encima de la madera. Basidiosporas de 4-6 x 3 µm (tamaño promedio de 200 basidiosporas); hialinas, unicelulares.	Curicó	La Montaña (Teno)	5	B1
	Molina	La Favorita	1	B2
	Talca	Los Alpes (San Clemente)	1	B3
Basidiocarpo resupinado-repisa poroso (tubos largos rojizo) lignificado, coloración pardo-rojizo, con bordes irregulares. No se consiguió recolectar las basidiosporas desde el carpóforo.	Curicó	La Montaña (Teno)	3	B4 B6
	Molina	La Favorita	3	B8
Basidiocarpo poroso (tubos cortos) parcialmente lignificado, extensivo, de superficie afelpada plana, coloración parda-rojiza clara, con crecimiento resupinado. No se consiguió recolectar las basidiosporas desde el carpóforo.	Curicó	La Montaña (Teno)	2	B5
	Talca	Los Alpes (San Clemente)	2	B7
Basidiocarpo blanco veloso, con forma de concha, con margen lobulado. Basidiosporas 4-5 x 1-1,5 µm (tamaño promedio de 200 basidiosporas); hialinas, cilíndricas. No fue posible obtener micelio de los cultivos practicados.	Curicó	La Montaña (Teno)	1	--
Basidiocarpo color púrpura, resupinado, aterciopelado veloso, con basidiosporas de 6-8 x 2,5-3 µm (tamaño promedio de 200 basidiosporas); hialinas. No fue posible obtener micelio de los cultivos practicados	Curicó	La Montaña (Teno)	1	--



**Figura 4.1** Basidiocarpio resupinado, poroso de color grisáceo, con márgenes blanco grisáceos y de extremos secos ennegrecidos, creciendo encima de la madera. Estructura correspondería a aislados B1, B2 y B3.



**Figura 4.2** Basidiocarpio resupinado-repisa poroso (tubos largos rojizo) lignificado, coloración pardo-rojizo, con bordes irregulares. Estructura correspondería a aislados B4, B6 y B8.



**Figura 4.3** Basidiocarpo poroso (tubos cortos) parcialmente lignificado, extensivo, de superficie afelpada plana, coloración parda-rojiza clara, con crecimiento resupinado. Estructura correspondería a aislados B5 y B7.



**Figura 4.4** Basidiocarpo blanco veloso, con forma de concha, con margen lobulado. No fue posible aislar micelio de este carpóforo.



**Figura 4.5** Basidiocarpo color púrpura, resupinado, aterciopelado velloso, con basidiosporas de 6-8 x 2,5-3  $\mu\text{m}$  (tamaño promedio de 200 basidioesporas); hialinas. No fue posible aislar micelio de este carpóforo.

#### **4.2 Evaluación de la capacidad biocontroladora de *Trichoderma parceanamosum* cepa nativa Trailes y *T. harzianum* cepa nativa Queule sobre hongos Basidiomycetes colectados de plantas de Kiwi**

##### **Ensayo a 25°C**

Luego de 5 días de incubación en cultivos duales, ambas cepas nativas de *T. parceanamosum* y *T. harzianum* lograron un 45,9 y 43,9% de inhibición, respectivamente, del crecimiento de los aislados Basidiomycetes colectados desde las plantas enfermas de kiwi (Cuadro 4.2). Para ambas cepas del biocontrolador, el análisis de varianza reveló que no existirían diferencias significativas ( $P=0,143$ ) para los porcentajes de inhibición del crecimiento alcanzado.

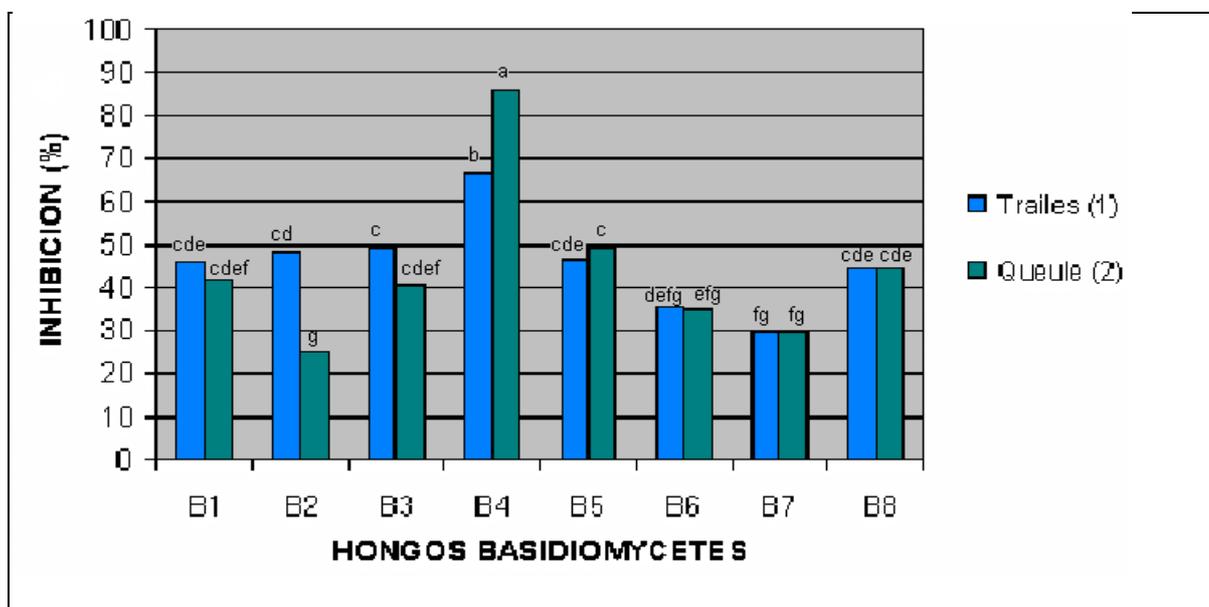
La inhibición del crecimiento de los hongos Basidiomycetes enfrentados a ambas cepas de *Trichoderma* spp. resultó altamente significativa ( $P < 0,001$ ) con valores que fluctuaron entre 29,6 y 76,3%, alcanzado por los aislados B4 y B7 (Cuadro 4.2 ).

Lo anterior, demuestra la capacidad antagonista de ambas cepas de *Trichoderma* spp. sobre los distintos aislados colectados. Considerando el efecto conjunto de ambas cepas de *Trichoderma* spp. y los distintos aislados de Basidiomycetes, la interacción obtenida fue altamente significativa ( $P < 0,001$ ). De lo anterior, se desprende que algún aislado Basidiomycete fue grandemente inhibido en su crecimiento por un aislado del biocontrolador, sin embargo al mismo tiempo fue pobremente inhibido por el otro aislado de *Trichoderma*. Este fue el caso del aislado Basidiomycete B2, el cual fue inhibido en casi un 50% de su crecimiento por la cepa Trailes de *T. parceanamosum* y sólo un 25% con la cepa Queule de *T. harzianum*. Por otra parte, el aislado B4 fue inhibido en casi un 90% por la cepa Queule y solo un 67% por la cepa Trailes (Figura 4.6). Lo anterior nos indicaría una actividad selectiva de las cepas de *Trichoderma* en el biocontrol de hongos. Según lo observado por Lo *et al.* (1998) en siembras duales de *Trichoderma* spp y *Rhizoctonia solana*, se registrarían dos tipos de interacciones, las cuales pueden ser tipificadas como reacción tipo 1 y reacción tipo 2. En la reacción tipo 1, las hifas del fitopatógeno se aprecian dañadas y con un menor crecimiento en la proximidad de las hifas de *Trichoderma* spp., indicando la acción de toxinas y/o enzimas extracelulares; a antibióticos solubles en agua o antibióticos volátiles liberados por el agente biocontrolador. La reacción Tipo 2 consistiría en el enrollamiento de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia*, y la utilización de las hifas del hongo como sustrato. En este ensayo no fue posible verificar el tipo de reacción involucrada en la inhibición del crecimiento de los aislados Basidiomycetes, sin embargo se observó en todos los casos una detención del crecimiento del hongo Basidiomycete y una posterior colonización del hongo *Trichoderma* en toda la superficie de la placa (Figura 4.7, 4.8 y 4.9). Pareciera que existiría liberación de ciertos compuestos inhibitorios y posteriormente la utilización del micelio de los hongos Basidiomycete como sustrato al igual que el medio de cultivo de la placa Petri.

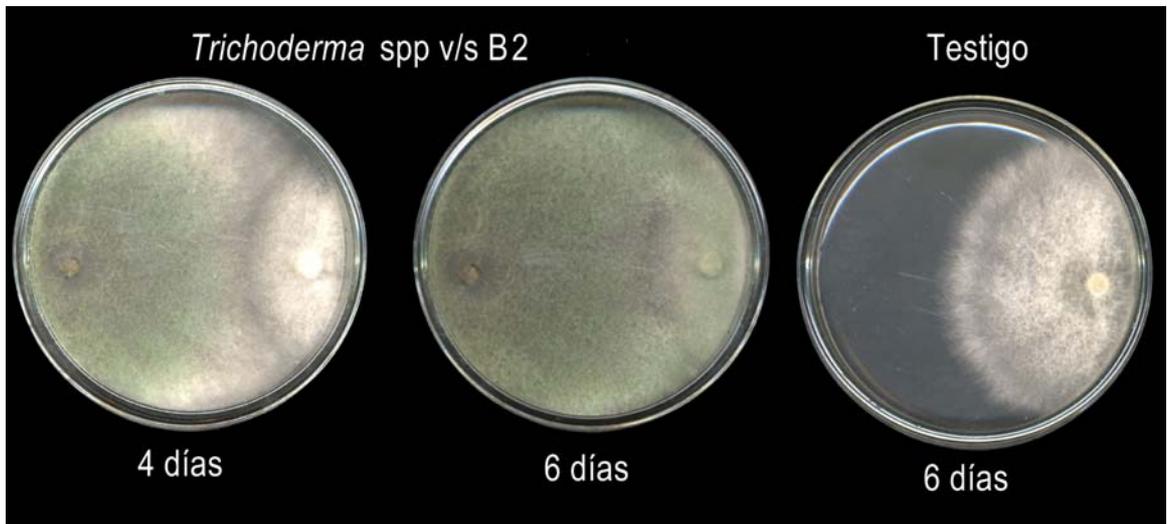
**Cuadro 4.2** Inhibición del crecimiento de aislados de hongos basidiomycetes colectados desde plantas de kiwi, en cultivos duales incubados *in vitro* por 5 días a 25 °C.

	Inhibición del crecimiento (%) <sup>1</sup>
<b>Aislados Basidiomycetes (B)</b>	
B1	44,2
B2	36,8
B3	44,9
B4	76,3
B5	47,8
B6	35,3
B7	29,6
B8	44,5
<b>Significancia</b>	**2
<b>Trichoderma spp. (T)</b>	
Trailles (1)	45,9
Queule (2)	43,9
<b>Significancia</b>	n.s <sup>2</sup>
<b>Interacción (B x T)</b>	
<b>Significancia</b>	**

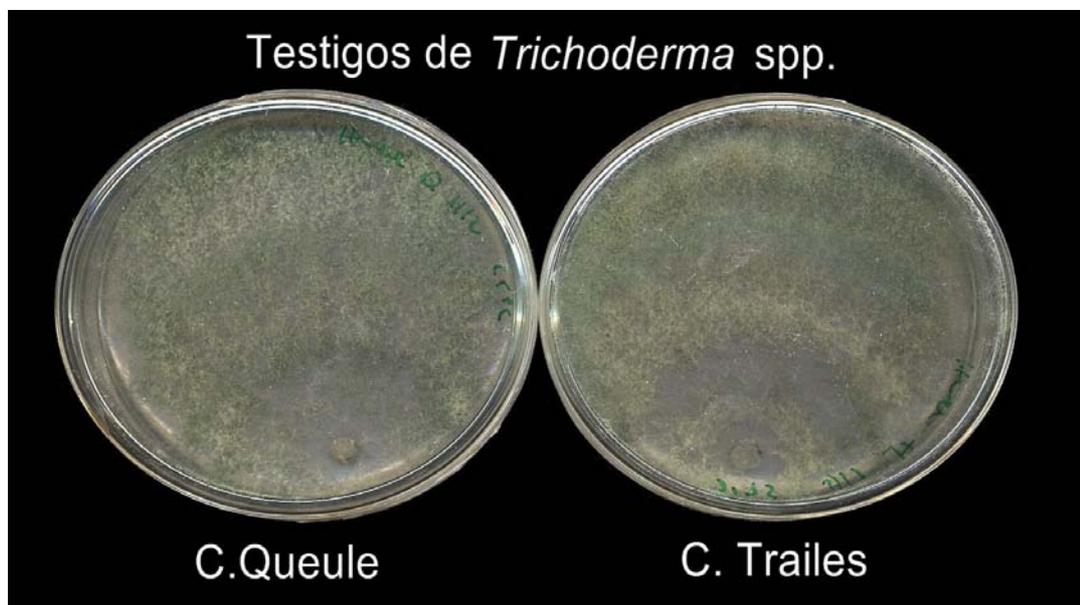
<sup>1</sup> Porcentaje de inhibición con respecto a los testigos de aislados de basidiomycetes, el cual creció en las mismas condiciones de incubación pero sin la presencia del hongo biocontrolador.  
<sup>2</sup> p<0.01 n.s. No Significativo (p > 0.05).



**Figura 4.6** Efectividad biocontroladora de *Trichoderma parceanamosum* cepa nativa Trailles y *Trichoderma harzianum* cepa nativa Queule sobre aislados de hongos Basidiomycetes colectados de plantas de Kiwi ( T° de incubación de 25 °C).



**Figura 4.7** Al centro e izquierda de la imagen se observa el cultivo dual de *Trichoderma Parceanamosum* cepa nativa Trailles (lado izquierdo de la placa) con el aislado de basidiomycete n° 2 (lado derecho de la placa); a la derecha, placa testigo sin el biocontrolador, incubadas a una T° de 25° C.



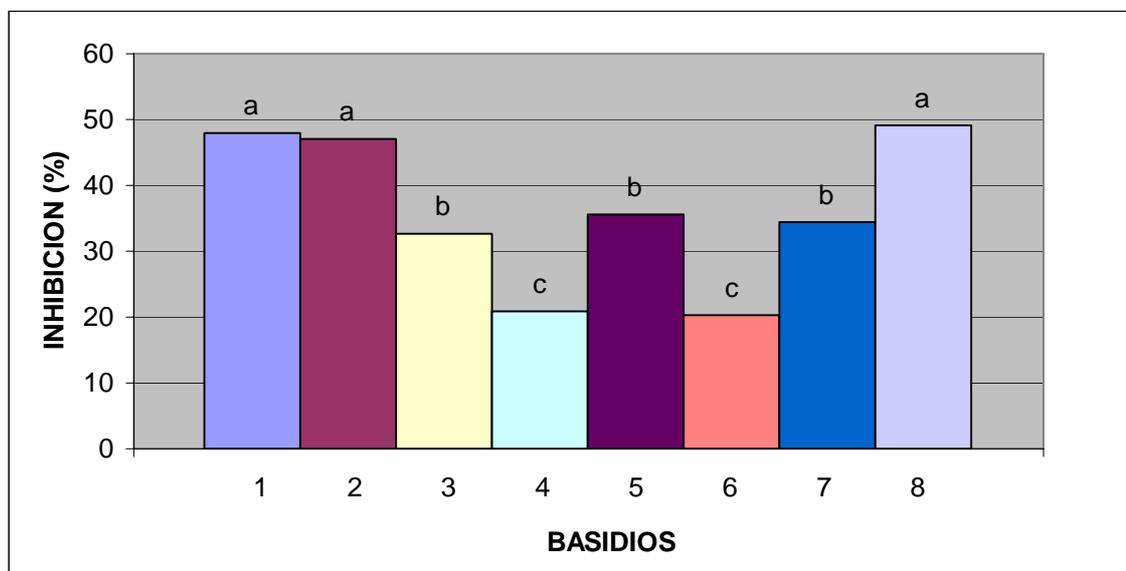
**Figura 4.8** Placas testigos del crecimiento final de *Trichoderma* spp transcurridos 10 días de incubación a 25° C.



**Figura 4.9** Placas testigos del crecimiento final de aislados de Basidiomycetes transcurridos 10 días de incubación a 25 °C.

#### Ensayo a 4° C

La Figura 4.10 muestra el porcentaje de inhibición de los ocho aislados de hongos fitopatógenos ejercido por las dos cepas de *Trichoderma* spp. en estudio. A 4° C, el tipo de aislado fitopatógeno presentó influencias altamente significativas ( $P < 0,001$ ) sobre el porcentaje de inhibición ejercido por ambas cepas de *Trichoderma* sp. Esta inhibición fluctuó entre 49,1 y 20,2% para los aislados B8 y B6, respectivamente (Cuadro 4.3).



**Figura 4.10** Inhibición del crecimiento de aislados fitopatógenos frente a cepas de *Trichoderma* spp., comparadas con tratamientos testigos (cultivos individuales) de hongos Basidiomycetes incubados a 4 °C. Las evaluaciones fueron hechas hasta que las placas testigos alcanzaron alrededor de un 50 % de cubrimiento de la placa o se observara contacto físico entre hifas del biocontrolador y fitopatógeno en los cultivos duales.

La inhibición otorgada por ambas cepas nativas de *Trichoderma* spp. no presentó diferencias significativas ( $P = 0,20$ ), alcanzando valores cercanos a 37 % para la cepa Trailes y de 35 % para la cepa Queule.

La interacción entre los aislados de los hongos fitopatógenos y las cepas nativas de *Trichoderma* spp, no fue significativo ( $P = 0.70$ ). A pesar de existir una clara inhibición del crecimiento de los aislados fitopatógenos por parte de las cepas de *Trichoderma* spp., en términos generales éstos no presentaron mayor crecimiento micelial a 4 °C (Figura 4.11, 4.12 y 4.13).

**Cuadro 4.3** Inhibición del crecimiento de aislados de hongos fitopatógenos colectados desde plantas de kiwi, en cultivos duales incubados *in vitro* por 30 días a 4 °C.

	Inhibición del crecimiento (%) <sup>1</sup>
<b>Aislados Basidiomycetes (B)</b>	
B1	47,8
B2	47
B3	32,6
B4	20,8
B5	35,6
B6	20,2
B7	34,5
B8	49,1
<b>Significancia</b>	**2
<b><i>Trichoderma</i> spp. (T)</b>	
Trailes (1)	36,8
Queule (2)	35,1
<b>Significancia</b>	n.s <sup>2</sup>
<b>Interacción (B × T)</b>	
<b>Significancia</b>	n.s <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Porcentaje de inhibición con respecto a los testigos de aislados fitopatógenos, el cual creció en las mismas condiciones de incubación pero sin la presencia del hongo biocontrolador.

<sup>2</sup> \*\*  $P < 0.01$  n.s. No Significativo.

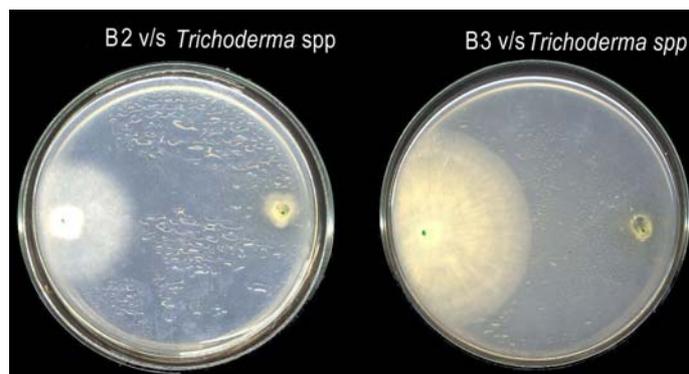
Investigaciones realizadas por Jalil *et al.* (1997) sobre las temperaturas de crecimiento de *Trichoderma* spp. señalan que la temperatura de activación del crecimiento micelial de *T. harzianum* fue de 8 a 10 °C y su temperatura óptima de crecimiento de 25 a 28 °C, alcanzando un máximo de 35 °C. Estos datos señalan la alta capacidad de *Trichoderma* spp de tolerar un amplio

rango de temperaturas. Autores como McBeath y Adelman (1991) aislaron una cepa en los suelos de Alaska, y a pesar de ser un aislamiento de climas fríos, registrando crecimiento aún a los 4 °C, toleró una temperatura máxima para su desarrollo de 33 °C. Sin embargo, el hecho de que logre crecer a una temperatura diferente a la imperante del sitio donde fue aislado, no es garantía que exprese su antagonismo hacia un patógeno determinado. Acevedo y Arcia (1988) demostraron que aislamientos de zonas frías no son eficientes biocontroladores en zonas cálidas y viceversa. Así mismo, en trabajos realizados por Rodríguez y Arcia (1993), se refleja que no necesariamente las temperaturas óptimas para el crecimiento (25 a 30 °C), son las temperaturas óptimas para expresar su antagonismo, ya que esas mismas cepas de *Trichoderma* mostraron una habilidad antagónica prácticamente nula a 30 °C. Las cepas nativas Trailes y Queule de *Trichoderma* spp. de este estudio, lograron un mínimo o nulo crecimiento, sin embargo, aunque menor que a los 25 °C, existió una clara inhibición del crecimiento de los aislados fitopatógenos a 4 °C.

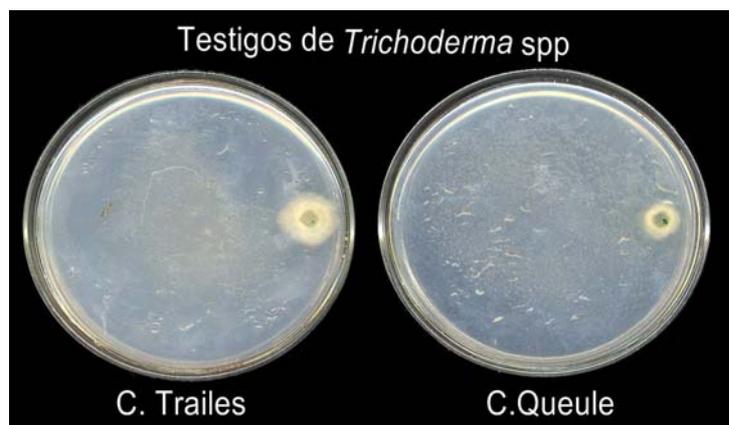
A diferencia de Harman *et al.* (1981), quienes sugieren que el micoparasitismo es el principal mecanismo de acción de *Trichoderma* spp., otros autores como McAllister *et al.* (1994) indican que en la relación antagónica *Trichoderma* spp - *Glomus mossae*, a pesar de estar las hifas en contacto, no se observa el enrollamiento, afirmando que no es el micoparasitismo el mecanismo de acción sino la producción de antibióticos péptidos. Así mismo Henis *et al.* (1983) al describir la acción de *Trichoderma* sobre esclerocios de *Sclerotium rolfsii* resaltan que la capacidad de penetración es importante pero no la única propiedad requerida por *Trichoderma* para ser un eficiente biocontrolador, ya que algunos esclerocios que fueron penetrados mantuvieron su firmeza y no fueron degradados en su interior. García y Zambrano (1991) evaluaron el tipo de antagonismo de tres aislamientos de *Trichoderma* ante *Macrophomina phaseolina* y concluyeron que la antibiosis parece ser el mecanismo de acción en esta relación, pero que hace falta continuar investigando sobre los posibles antibióticos producidos. A 4°C, las cepas nativas Trailes y Queule de *Trichoderma* spp. de este estudio, podrían presentar este mecanismo de control, produciéndose compuestos inhibitorios que difunden a través del agar y que restringirían el crecimiento de los aislados fitopatógenos.



**Figura 4.11** Cultivo dual de *Trichoderma* spp (lado izquierdo de la placa) con el aislado Basidiomycete 2 (lado derecho de la placa) y la placa testigo sin el biocontrolador, incubadas durante 30 días a de 4 °C de temperatura.



**Figura 4.12** Cultivo dual de *Trichoderma* spp (lado derecho de la placa) con el aislado Basidiomycete 2 y 3 (lado izquierdo de la placa), incubadas durante 10 días a una temperatura de 4 °C.



**Figura 4.13** Placas testigos del crecimiento de *Trichoderma* spp. transcurridos 10 días de incubación a 4 °C.

### **4.3 Identificación taxonómica de los aislados Basidiomycota encontrados en madera con sintomatología de “muerte de brazos y plantas de Kiwi”**

En base a las características morfológicas de las muestras colectadas y utilizando las claves sugeridas por Lazo (2001) y la National Audubon Society (2001), se sugiere que los basidiocarpos encontrados podrían pertenecer a los siguientes géneros:

**B1, B2 Y B3:** *Bjerkandera adusta* (Willd.: Fr.) Karst. En nuestro país este hongo basidiomycota ha sido encontrado afectando a plantas de frambueso, provocando marchitez, muerte de cañas y pudrición blanca en la parte basal de la mismas y de la raíz principal, provocando la muerte de la planta (Montealegre, 1994). Así también, utiliza como hospederos tanto a árboles nativos como introducidos, ya sea se encuentren vivos o muertos que se ubiquen en la zona central de nuestro país, principalmente *Eucaliptus globulus*. En otras regiones del mundo este hongo esta ampliamente diseminado en áreas templadas del hemisferio norte. Es capaz de metabolizar enzimas oxidativas que degradan la lignina causando pudrición blanca “white rot” en las especies que parasita. Además se ha observado su capacidad de secretar metabolitos secundarios clorados, que causarían degradación de la madera de las plantas que infecta. (<http://www.geocities.com/collegpark/lounge/3110/genera/bjerkandera.htm>, consultado el 1 de abril 2004).

**B5 y B7:** Estos basidiocarpos no pudieron ser identificados en base a la literatura consultada.

**B4, B6 y B8:** *Phellinus* spp. A este grupo de hongos Basidiomycotina se le ha visto afectando especies frutales, tales como almendro, durazneros y nectarino, ciruelas, damascos y cerezos en una amplia zona de distribución a nivel mundial (Adaskaveg y Ogawa, 1990). En todos los casos, se observó una muerte progresiva de las plantas afectadas y la presencia de basidiocarpos, similares a los encontrados en este estudio en madera de Kiwi.

**B9:** *Schizophyllum commune* Fr.:Fr. Hongo Basidiomycotina, que utiliza como hospederos a una amplia gama de especies vegetales, principalmente especies forestales. Distribuyéndose ampliamente a nivel mundial (<http://botit.botany.wisc.edu/tomsfungi/feb2000.html>. Consultado el 1 de abril de 2004). Este hongo interviene en los procesos degradativos de la madera, caracterizándose por ser un agente micótico involucrado en la pudrición blanca de la madera de árboles forestales y frutícolas. En muchos casos, se le ha visto asociado a otros hongos de este grupo causando muertes súbitas en árboles frutales. Es así como, Berghdal y French (1985) lo vieron asociado a *Irpex lacteus* y *Trametes versicolor* causando esta muerte violenta de manzanos de 3 años de edad en Minnesota, E.E.U.U.

**B10:** *Chondrostereum purpureum*. (Pers.:Fr) Pouzar. Este hongo Basidiomycota, tiene una amplia distribución a nivel mundial, afectando a una amplia gama de especies vegetales tales como nectarinos, durazneros, almendros, ciruelos y damascos, causándoles la enfermedad conocida como Plateado. Otros huéspedes de menor importancia son el manzano y el cerezo. Los basidiocarpos generalmente se encuentran sobre madera muerta presentando 1- 2,5 milímetros de grosor con una línea negra visible en la sección transversal ([http://www.pfc.forestry.ca/diseases/CTD/Group/Sap/sap1\\_e.html](http://www.pfc.forestry.ca/diseases/CTD/Group/Sap/sap1_e.html). Consultado el 1 de abril del 2004). En nuestro país la enfermedad fue asociada por primera vez a plantas de kiwi por Alvarez (1991), quien observó síntomas característicos de esta enfermedad tales como cambios en la coloración (plateado), marchitez y deformación de las hojas, retraso en la brotación y coloración café en la madera de las ramas, que comprometían la planta tanto a nivel externo como interno.

#### **4.4 Discusión Final**

Según los antecedentes hasta la fecha registrados, el hongo *Chondrostereum purpureum*, causante de la enfermedad "Plateado del duraznero" (Alvarez *et al* , 1991), sería el principal causante de la enfermedad "Plateado" en plantas de kiwi, originando los problemas

descritos en la sección II. Sin embargo en la investigación realizada por Calderón (2002) se postula la asociación de hongos del grupo Basidiomycotina con una sintomatología de “muerte de brazos y plantas”, que ha ido aumentando con el paso de los años en los huertos de kiwi de la VII región. Pareciera que estos hongos son capaces de causar sintomatologías similares y en muchas situaciones se les ha visto asociado entre ellos, utilizando el mismo sustrato (Adaskaveg y Ogawa, 1990). La mayoría de este grupo de hongos Basidiomycotina son capaces de secretar toxinas y enzimas oxidasas capaces de ser movilizadas por la corriente transpiratoria a otros sectores de la planta (Kendrick, 1992). Por lo tanto, la sintomatología de plateado puede ser confundida entre hongos de este grupo.

A pesar de los numerosos estudios existentes tanto para el control de *Chondrostereum purpureum* en nuestro país (Pinto de Torres *et al.*, 1994) y de los otros hongos encontrados (Agrios, 1997), pareciera que aún no se han desarrollado medidas eficaces para detener el avance de estas enfermedades. En kiwi se están realizando trabajos de extirpación de brazos afectados, rebajando hasta aquel sector de la madera sin decoloración por causa del hongo. De esta forma, se privilegia la reubicación de cargadores que luego se transformarían en brazos, reemplazando ya los extirpados. Por lo tanto en la actualidad existe una suerte de convivencia con la enfermedad, debido a que no existen medidas de control de esta.

En base a lo anterior, la presente investigación postularía la posibilidad de usar *Trichoderma* spp. cepas nativas Trailes y Queule, dentro de un plan de manejo fitosanitario como agentes biocontroladores de los hongos Basidiomycotina que están afectando las plantas de kiwi en esta Región.

## V. CONCLUSIONES

Las prospecciones realizadas en huertos de kiwi en la zona de Curico, Molina y Talca, establecieron la presencia de un complejo de hongos basidiomycetes (*Bjerkandera adusta*, *Phellinus* spp, *Chyzoephyllum commune*, *Chodrostereum purpureum*), los cuales corroboraron las observaciones realizadas por Calderon en el 2002.

Las cepas nativas Trailes y Queule de *Trichoderma* spp., presentaron capacidad biocontroladora *in vitro* sobre aislados de hongos fitopatógenos colectados desde plantas de kiwi (*Actinidia deliciosa*) tanto a temperaturas de incubación de 25 como a 4 °C. Esta inhibición fluctuó entre 25,1 y 85,9 % del crecimiento a 25 °C y entre 20,2 y 49,1% para 4 °C.

A 25 °C, las cepas de *Trichoderma* spp. lograron enfrentar el crecimiento de los aislados fitopatógenos e incluso crecer por encima del mismo, cubriéndolo finalmente en su totalidad. Lo anterior sugeriría la acción de un mecanismo de micoparasitismo y la existencia de cierta especificidad en la relación biocontrolador – fitopatógeno.

A 4 °C, hubo un mínimo crecimiento de *Trichoderma* spp., siendo la norma general que este fuera nulo. Sin embargo, la presencia de inhibición del crecimiento de los aislados fitopatógenos sugeriría que a esta temperatura operaría un mecanismo de producción de antibióticos, los cuales difundirían a través del agar.

## VI. BIBLIOGRAFÍA

**Acevedo, R.; Arcia, A. 1988.** Control Biológico de *Sclerotium cepivorum* por *Trichoderma* sp. *In vitro*. (Resumen). Fitopatol. Venez. 1(1):34.

**Adaskaveg, J. and Ogawa, J. 1990.** Wood Decay Pathology of Fruit and Nut trees in California. Plant Disease 74 (5): 341-352.

**Agrios, G. 1997.** Plant Pathology, IV Ed. Academic Press, San Diego, 635 pp

**Ahmad, J. and Baker, R. (1987).** *Phytopathology, Trichoderma* spp. 77, 358.

**Alvarez, M. Elorriaga, A. Pinilla, B. 1991.** Determinación de plateado en kiwi. Revista Frutícola 12: 10-12.

**Beagle, J. and Papavizas, G. 1985.** Survival and Proliferation of Propagules of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens* in soil and plant rhizospheres. Phytopathology 75:729-732.

**Bergdah, D.R. and French, D.W. 1985.** Association of wood decay fungi with decline and mortality of apple trees in Minnesota. Plant Disease 69: 887- 890.

**Calderon, franco. 2002.** Asociación de diferentes agentes micóticos a la muerte de brazos y plantas de kiwi cultivadas en la VII región. Tesis de grado. Talca, Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía.

**Chet, I. 1987.** Innovative approaches to plant disease control. John Wiley and Sons, New York. 372 p.

**Cook, R. and Baker, K. 1989.** The nature of practice of Biological Control of Plant Pathogens. Second Edition. USA. 539p.

**CORFO, 1989.** Kiwis, situación actual y perspectivas. Santiago, Chile. 77p.

**Fernández, R. 1988.** Producción de kiwi, Situación de kiwi en Chile y perspectivas futuras. Ediciones Universidad Católica de Chile. 469 p.

**García, R. y Zambrano, C. 1991.** Evaluación del tipo de Antagonismo de *Trichoderma harzianum* ante *Macrophomina phaseolina* "In vitro". (Resumen). XII Congreso Venezolano de Fitopatología, Maturín, Estado Monagas - Venezuela.

**Godoy, C. y Arpaia, R.** El kiwi (en línea) 2002. Disponible en <http://www.intabalarce.org/divulgtec/Cultivos/ManejoCult/kiwi.htm>. Consultado 28 de junio de 2003.

**Harman, G., Chet, I. and Baker, R.** 1981. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seed as a biocontrol agent. *Phytopathology* 71:569-572.

**Henis, Y., Adams, P., Lewis, J. and Papavizas, G.** 1983. Penetration of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 73(12):1043-1046

**Jalil, C.; Apablaza, G.; Norero, A.** 1997. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento micelial de *Trichoderma harzianum* T-39 y la relación interbiótica con *Botrytis cinerea* procedente de tomate (on line). Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago. Disponible en: [http://alerce.inia.cl/sochifit/V1.html#Articulo\\_42](http://alerce.inia.cl/sochifit/V1.html#Articulo_42). Consultado 10 marzo.2004.

**Kendrick, B.** 1992. The fifth Kingdom. 2 Ed. Focus Information Group, Newbury post. 406 p.

**Kulczewski, M.** 1988. Análisis del comportamiento del Kiwi en Chile. *Revista Frutícola* 9(1):3-10.

**Latorre, B** 1992. Enfermedades de las plantas cultivadas. 3<sup>er</sup> Edición. Ediciones Universidad Católica de Chile. 628 p.

**Lazo, W.** 2001. Hongos de Chile, Atlas Micológico. Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile. Santiago, Chile. 231 p.

**Lo, C., Nelson, E., Hayes, C. and Harman, G.** 1998. Ecological studies of transformed *Trichoderma harzianum* strain in the rhizosphere and on the phylloplane of creeping bentgrass. *Phytopathology* (on -line). Disponible en <http://www.geocities.com/ecologiauz/trichoderma7.htm>

**McAllister, C., García-Romero, I., Godeas, A. and Ocampo, J.** 1994. Interactions between *Trichoderma koningii*, *Fusarium solani* and *Glomus mosseae*: Effects on plant growth, arbuscular mycorrhizas and the saprophyte inoculants. *Soil Biology & Biochemistry* 26(10):1363-1367.

**McBeath, J. and Adelman, M.** 1991. Taxonomy of a new *Trichoderma* found in Alaska. *Abstract. Phytopathology* 81(10):1151.

**Montealegre, J.** 1994. *Bjerkandera adusta*, a New Pathogen of red Raspberries in Chile, *Fitopatología* 29(8): 211 – 213.

**National Audubon Society.** 2001. Field Guide to Mushrooms. Chanticleer, Inc., New York. 926 p.

**Rodríguez, I. y Arcia, A.** 1993. Caracterización fisiológica (temperatura, pH y luz) de 12 aislamientos de *Trichoderma* spp., *In vitro*. (Resumen). *Fitopatol. Venezol.* 6(2):53.

**Rodríguez, I. y Arcia, A. 1993.** Efecto de doce aislamientos de *Trichoderma* spp., sobre el número, tiempo de formación y porcentaje de parasitismo de esclerocios de *Sclerotium rolfsii*, en cuatro temperaturas diferentes. (Resumen). Fitopatol. Venezol. 6(2):54

**Rosenberg, G. 1988.** Producción de kiwi, problemática del cultivo de kiwi en Chile. Ediciones Universidad Católica de Chile. 469 p.

**Wainwright, M. 1992.** An introduction to fungal Biotechnology. Department of Molecular Biology and Biotechnology University of Sheffield. 200p.

**Weindling, R. (1932).** "*Trichoderma lignorum* as a parasite of other fungi", *Phytopathology* **22**: 837

**Zerba, M.** Control biológico (en línea) 1994.  
<http://www.cricyt.edu.ar/enciclopedia/terminos/ContrBiol.htm>. Consultado 4 julio de 2003.