



***“Evaluación de la capacidad biocontroladora de *Trichoderma sp.* en un cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum*) en la región semiárida de la provincia de Córdoba”***

**Autores:**

**Canonero, Lucio Jesús**

**Lattanzi, Federico**

**Molina, Marcos Martin**

**Pinotti, Lucas Santiago**

**Tutor:**

**Ing. Agr. Pérez, Alejandro Andrés**

**ÁREA DE CONSOLIDACIÓN**

**SISTEMAS AGRÍCOLAS DE PRODUCCIÓN EXTENSIVOS**

**AÑO 2018**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA**

# Resumen

En este trabajo se busca evaluar la capacidad biocontroladora de *Trichoderma* sp. en un cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum*) en la región semiárida de la provincia de Córdoba. Además, con diferentes formas de aplicación del mismo. *Trichoderma* spp es un agente biocontrolador fúngico y un estimulante vegetal el cual surge como una alternativa al uso de agroquímicos. Para el estudio se llevó a cabo un ensayo experimental con diseño en bloques, en macroparcelas con 3 surcos por tratamiento de 150 metros de longitud y testigos apareados. Los tratamientos consisten en: Semilla Chorreada con *Trichoderma* sp.; Semilla con Biopolímero; Semilla Testigo; Semilla con *Trichoderma* sp.; Semilla con Fungicida; Semilla con *Trichoderma* sp + Chorreado con *Trichoderma* sp. Durante el transcurso de la prueba se fueron evaluando distintos parámetros como porcentaje de germinación, altura de plántula, plantas por metro cuadrado, incidencia de enfermedades, rendimiento y calibre. Realizados en sucesivas visitas al campo, complementando todo esto con test a laboratorio. Del trabajo se concluyó que el encapsulado de *Trichoderma* en semillas con el biopolímero mejoró los parámetros fisiológicos de tamaño de plantas y rendimiento, posicionando al mismo de manera competitiva con respecto al tratamiento con fungicida.

## Introducción

La necesidad de realizar cambios en el paradigma productivo a comienzo del siglo, permitió desenfocar la atención sobre los cultivos tradicionales, logrando grandes avances en las investigaciones sobre especies alternativas que pudieran ser incorporados a los sistemas de rotación. Así, reapareció el cultivo de garbanzo, que había estado originalmente marginado a suelos menos productivos del país. (Karlin, M. 2003)

El garbanzo (*Cicer arietinum* L) es un cultivo anual de clima seco que se desarrolla en numerosas regiones del mundo, sobre todo en zonas áridas y semiáridas donde se han ido adaptando a condiciones adversas de clima y suelo. (Karlin, M. 2003)

En el trienio 2011/2013 se produjeron, en promedio, 12.2 millones de toneladas anuales de garbanzo en el mundo. La producción mundial creció 2,7% promedio anual en los últimos 20 años. (FAO, 2015)

En la actualidad, el consumo mundial del garbanzo se concentra básicamente en Asia, al igual que la producción. La participación de la legumbre en la dieta alimenticia ha sido

históricamente un rasgo común de muchos países que se encuentran sobre el mediterráneo. En los últimos 15 años los volúmenes de comercio mundial crecieron al 5,2% anual (Australia e India como los primeros exportadores). El principal destino del garbanzo argentino es la región del mar Mediterráneo, Italia, España, Portugal y por otro lado Turquía. (Garzón, M. 2015).

En nuestro país se utiliza el tipo comercial Kabul cuya plantación se realiza desde los 20° a los 33° Lat. S. La ventana de siembra comienza en abril y se prolonga hasta julio, dependiendo de los tipos varietales utilizados (Chañaritos S-156, Norteños Kiara UNC-FCA y Felipe UNC-FCA) (Saluzzo, J. 2010). El productor agropecuario argentino, incorporó el garbanzo en sus sistemas por varios motivos específicos, entre ellos, por ser una leguminosa fijadora de nitrógeno, por su bajo consumo de agua y por ser un producto requerido en el mercado internacional. En la campaña 2012-2013 se sembró en la provincia de Córdoba la máxima superficie de los últimos años (38000 has) en la siguiente se redujo drásticamente a la mitad (15000 has) y en la campaña 2014-2015 disminuyó (10542 has), esto debido a problemas de sanidad por *Ascochyta* sp., merma en el precio internacional del grano y falta de calidad del mismo por lluvias a cosechas. (Toledo, R. 2016)

Las enfermedades en garbanzo son la principal limitante en la producción a nivel mundial, estando muy ligadas al medio ambiente. Algunas son un problema persistente en la producción de garbanzo en áreas geográficas amplias, como *Ascochyta* sp. y *Fusarium* spp.

***Fusarium* spp. (*Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*)** en garbanzo fue reportado por primera vez en la India en el año 1918, desde allí se expandió por todos los continentes, provocando mermas entre un 10-15% en los rendimientos (70-100% en años severos). Esta enfermedad disminuye el peso del grano y puede presentarse en cualquier etapa del cultivo, manifestándose en manchas o extenderse por el lote. (Castillo, P. Navas. et. al. 2003)

Los síntomas pueden desarrollarse en cultivares muy susceptibles dentro de los 25 días de la siembra, pero generalmente son más visibles en floración. El marchitamiento temprano causa más pérdidas de rendimiento que el tardío. Las plántulas afectadas muestran flacidez de hojas individuales seguida de una decoloración verde opaca, desecación y colapso general. También se observan tallos engrosados y superbrotamiento. (Castillo, P. Navas. et. al. 2003) *F. oxysporum* por lo

general se presenta en raíz principal y *F. solani* en las raicillas. (A. Pérez. *conv. per.* 2018)

***Rhizoctonia solani*** es otra de las enfermedades que puede afectar a semillas, plántulas y raíces. Se puede desarrollar lesiones de raíz de color marrón rojizo a oscuro de epicótilos e hipocótilos en cualquier etapa del crecimiento. A diferencia de *Fusarium* spp que ataca a la plántula desde adentro (necrosis vascular), *Rhizoctonia solani* produce el ataque desde afuera hacia adentro. (Castillo, P. Navas. *et. al.* 2003)

En la etapa de plántulas la enfermedad puede comenzar con una decoloración marrón del hipocótilo, cerca de la línea del suelo se convierte en lesiones hundidas, cede el tallo y toma un aspecto de pudrición. Las plantas infectadas se atrofian y las hojas se vuelven amarillas comenzando por las hojas inferiores y progresando hacia arriba. A menudo se puede observar parches circulares y debido a la falta de robustez del sistema radicular pueden extraerse fácilmente del suelo.

El control de éstos patógenos de suelo y otros (*Pythium* spp, *Verticillium* spp, *Phytophthora* spp) es una tarea difícil, ya que se encuentran en un medio complejo y un tratamiento directo es limitado, por ello es necesario una serie de medidas a tener en cuenta. Lo más básico es partir de semillas con sanidad, luego seguir con un esquema de rotación y elección de cultivares con tolerancia y/o resistencia genética. Por otro lado el uso de curasemillas y funguicidas tienen gran éxito actualmente con resultados más que satisfactorios. Pero lo más interesante se está dando con los agentes biocontroladores de uso agropecuario y biopolímeros encapsulantes.

A nivel mundial, existe una marcada necesidad de disminuir el uso de agroquímicos convencionales o directamente evitarlos. Se conocen más de cien especies que funcionan como agentes biocontroladores de patógenos causales de enfermedades en especies vegetales de interés agrícola (Druzhinina *et al* 2008). *Trichoderma harzianum* es una de las más utilizadas debido a su eficiente control sobre una amplia gama de patógenos fúngicos vegetales, que incluye a *Botrytis* sp., *Colletotrichum* sp., *Alternaria solani*, *Pythium* sp., *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* spp. (Verma *et al.*, 2007). *Trichoderma* spp. es compatible con otros agentes de biocontrol y tiene la ventaja de soportar varios funguicidas químicos, insecticidas, bioestimulantes, algunos herbicidas de origen químico, y antibióticos producidos por otros microorganismos (Harman, 2004). Los requerimientos nutrimentales de estos hongos filamentosos son pocos, aunque su crecimiento es favorecido por la materia orgánica, y su humedad y temperatura óptimas de crecimiento se encuentran en un rango de 25 a 30 °C (Papavizas 1985). Esto le confiere una amplia plasticidad para ser utilizado en

diferentes sistemas productivos. Entre los mecanismos de biocontrol que poseen algunas especies de *Trichoderma*, se pueden mencionar: micoparasitismo, antibiosis, competencia, promoción del crecimiento vegetal e inducción de resistencia en las plantas hospedantes (Harman *et al.*, 2004). Durante el proceso de micoparasitismo las hifas de este hongo crecen hacia el patógeno, se adhieren a sus hifas, se enrollan en ellas y las penetran. La degradación de las paredes celulares del hongo patógeno se observa en los estados tardíos del proceso parasítico, lo que conduce a su debilitamiento casi total (Carsolio *et al.*, 1999). En la antibiosis, el hongo inhibe o destruye al otro organismo a través de la producción metabólica de pequeñas moléculas tóxicas y volátiles y de enzimas líticas (Baker y Griffin, 1995). En relación a los beneficios más directos que puede causar en las plantas, se ha comprobado que algunas especies de *Trichoderma* pueden aumentar la absorción y la concentración de algunos nutrientes (Cu, P, Fe, Mn y Na) en las raíces (Yedidia, *et al.*, 1999). Otras propiedades identificadas en *Trichoderma* a lo largo del proceso de interacción con la planta, son la generación de resistencia a diferentes tipos de estrés abióticos y cambios en el estado nutricional (Howel, 2003).

Ensayos de este tipo llevados a cabo en el año 2016, donde las condiciones climáticas favorecieron el ataque de patógenos, se observaron diferencias significativas con los tratamientos con *Trichoderma* spp. comparando con el testigo absoluto (Caballero, A. *et al.* 2016). Mientras que en el año 2013 el uso de *Trichoderma* spp. no marcó diferencias significativas respecto al testigo, dada por las condiciones poco propicias para el establecimiento de epifitias. No obstante a esto se pudo comprobar mediante análisis microbiológicos, la presencia de colonias de *Trichoderma* sp. en el suelo después de la cosecha, lo que indica un buen establecimiento (Freites, M. *et al.* 2014).

En la actualidad lo más usado son terapéuticos completamente sintéticos como es el caso de Maxim Evolution, el cual es un moderno producto sistémico y de contacto desarrollado para mejorar el tratamiento integral. Está desarrollado en base a tres principios activos de nueva generación (FLUDIOXONIL + METALAXIL-M + TIABENDAZOL) que actúan combinada y complementariamente para superar y potenciar el control de todos los patógenos presentes tanto en el suelo, en la simiente, como en el almacenaje, asegurando una uniformidad en el stand de plantas. Debido a su exclusiva formulación, no afecta el poder germinativo de las semillas y es altamente efectivo en bajas dosis.

# Objetivos

## Objetivos generales

- Evaluar la capacidad biocontroladora de *Trichoderma atroviride* “cepa *alfap8*” en el cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) vs. fungicida sintético.

## Objetivos específicos

- Valorar nuevos métodos de control a campo alternativos a los agroquímicos.
- Conocer el desempeño de *Trichoderma* spp. como agente biocontrolador.
- Evaluar distintas formas de aplicación de *Trichoderma* spp.
- Medir incidencia y severidad de las diferentes enfermedades presentes en el cultivo.
- Incorporar, asimilar y relacionar los distintos conocimientos adquiridos durante la carrera, plasmándolos en el ensayo a campo.

# Materiales y métodos

El ensayo se llevó a cabo en el Campo Escuela de la F.C.A.-U.N.C., en el lote N°19 (31° 28' 56" LS y 64° 00' 14" LO), con un diseño experimental en bloques, en macroparcelas con 3 surcos de 150 metros de longitud y testigos de por medio entre tratamientos.

Se utilizó semilla de garbanzo fiscalizada, de la variedad Felipe U.N.C.-I.N.T.A. (donadas por el semillero Vítulo Agro S.A.), y se evaluaron seis tratamientos diferentes:

1. Semilla Chorreada con *Trichoderma* sp.
2. Semilla con Biopolímero.
3. Semilla Testigo
4. Semilla con *Trichoderma* sp.

5. Semilla con Fungicida.
6. Semilla con *Trichoderma* sp + Chorreado con *Trichoderma* sp.



**Ilustración N°1: Lote N° 19 Campo escuela FCA UNC parcela de garbanzo.**

## **Trabajo a campo:**

- Labores presembrado: Para el control de malezas se realizó un barbecho químico utilizando Imazetapir (Pivot), en una dosis de 0,5 lts/ha y sulfentrazone 0.6 lts/ha.
- Siembra: La fecha de siembra fue el 23 de mayo del 2017, la misma se realizó con una sembradora de grano grueso Agrometal de 9 surcos, a 0,52 metros entre surcos y una profundidad de 5 cm. La densidad fue de 13 semillas por metro lineal y la velocidad de trabajo fue de 5 km/h.

Como inoculante, se utilizó una cepa de la bacteria *Mesorhizobium cicerii*, el cual fue común para todos los tratamientos sin excepción. La dosis empleada de inoculante fue de 4 ml/kg. de semilla, el cual se agregó a una hormigonera junto con las mismas, mezclándose durante 5 minutos con el objetivo de lograr una distribución homogénea en la semilla. Este método de mezclado a través de la hormigonera fue utilizado para todos los tratamientos.

En el tratamiento Testigo, solamente se inoculó con la bacteria.

En los tratamientos que incluían al biocontrolador fúngico se utilizó la cepa nativa de *Trichoderma atroviride*, denominada  $\alpha$ CP8, perteneciente al cepario del Laboratorio de Fitopatología F.C.A.-U.N.C.

Para el tratamiento *Trichoderma* a la Semilla, se aplicó 5 ml de suspensión de *Trichoderma* por kg. de semilla, en una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC/ml.

En el tratamiento con polímero, se lo añadió a la mezcladora junto con 5 ml de suspensión de *Trichoderma* por kg. de semilla, en una concentración de  $1 \times 10^9$  UFC/ml.

En el tratamiento con fungicida se le aplicó 4 ml de tiabendazol + fludioxonil + metalaxil-M por cada kg de semilla tratada.

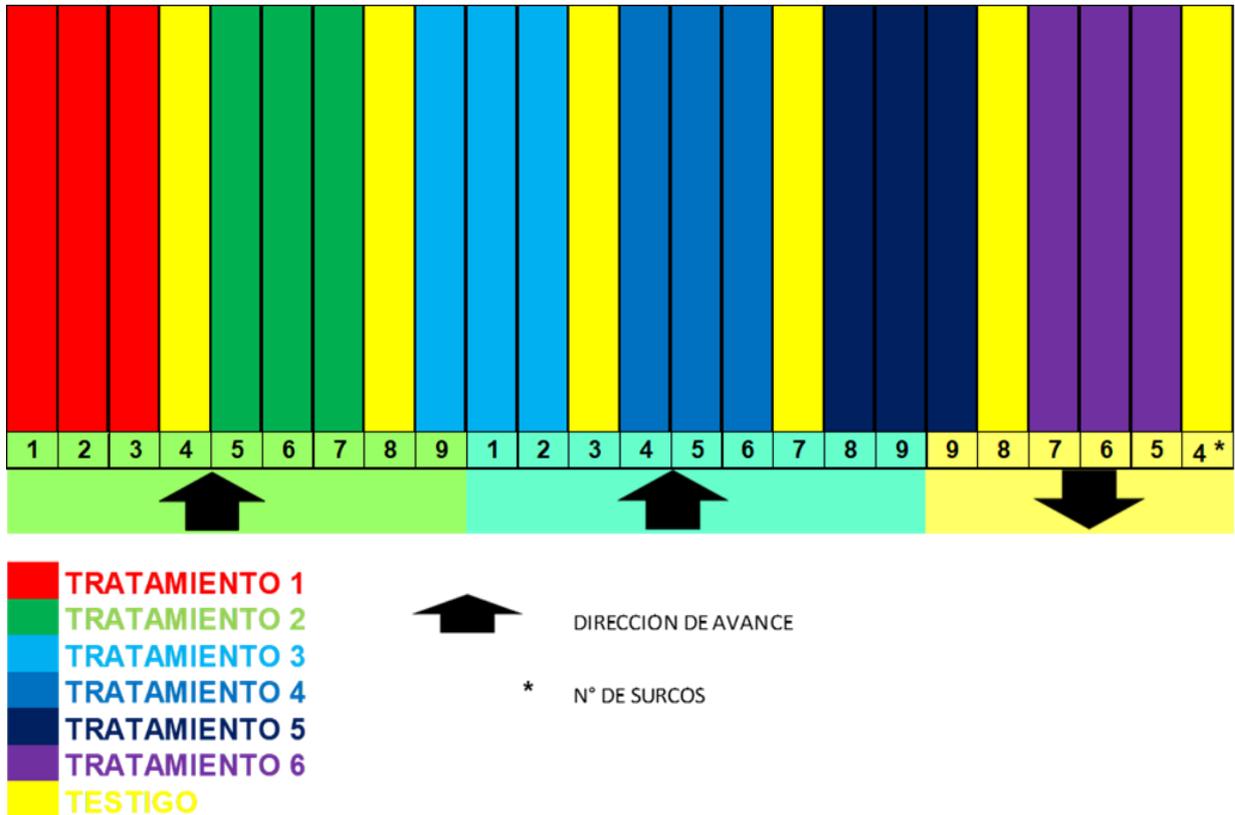
Por otro lado, el tratamiento *Trichoderma* chorreado al momento de la siembra se le aplicó una suspensión de *Trichoderma atroviride* en una concentración  $1 \times 10^8$  UFC/ml, directamente al surco por medio de un dosificador. La dosis aplicada fue de 25 ml/m lineal. El dosificador estaba compuesto por un recipiente plástico que actuaba como reservorio, del cual se desprendía una manguera que contaba con un regulador de caudal, y terminaba entre las cuchillas abre surcos.

Por último, se utilizó semilla tratada con *T. atroviride* más el tratamiento chorreado (T1 + T4).

Para los diferentes tratamientos, el procedimiento de carga de la sembradora se realizó directamente en donde se encuentra la placa de siembra.

Se utilizó el siguiente diagrama en bloque de 3 surcos consecutivos con un testigo intermedio entre los tratamientos, debido a que el biocontrolador es un agente biológico y su desarrollo en el suelo podría influir en los resultados de los otros tratamientos. De esta manera se buscó la forma de que cada tratamiento sea independiente.

Los testigos apareados no marcaron diferencias significativas en ninguna de las variables evaluadas. Por lo tanto se pudo comprobar homogeneidad en el lote.



**Ilustración N°2: Diseño experimental.**

De los 9 trenes de la sembradora, los tres primeros surcos estaban destinados al **tratamiento (1)**, luego se dejó uno para testigo, los tres surcos siguientes al **tratamiento (2)** y de los dos restantes, uno al testigo y el otro al **tratamiento (3)**. Hecho los 150 metros se hizo regresar la sembradora al punto de partida para continuar con el resto de los tratamientos. Fue necesario aspirar las semillas sobrantes dejando limpia la placa. Siguiendo este esquema, los dos primeros surcos completan el **tratamiento (3)**, y el tercer surco para el testigo intermediario. Luego las tres siguientes líneas se destinan para el **tratamiento (4)** y para completar la segunda pasada de los tres surcos restantes uno se utilizó para testigo y los demás para el (5). Por último y para terminar el ensayo la sembradora regresa con un surco del **tratamiento (5)** para así completar las tres líneas del mismo y de los canales restantes se deja nuevamente un testigo, tres surcos para el **tratamiento (6)** y para terminar un surco de testigo.

Durante la siembra, se controló el buen funcionamiento de la placa dosificadora y para el caso del chorreado que el dosificador funcionara correctamente. Además, se corroboró el número de semillas por metro lineal.

## **Trabajo a laboratorio:**

La preparación de los diferentes tratamientos se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la F.C.A.-U.N.C. para mantener controladas las condiciones de inocuidad de los mismos y viabilidad de los diferentes microorganismos.

La fabricación y aplicación del biopolímero se realizó un día antes de la siembra (ver proceso de elaboración del biopolímero (página 14). Se conservó a una temperatura de 20-22°C, que es a la cual se lo incorporó. Una vez aplicado a la semilla se dejó secar el tiempo necesario (24 hs), en un lugar adecuado (seco, protegido del sol y con ventilación).

Para el diagnóstico de las enfermedades se utilizaron diferentes técnicas:

- Inspección visual: Las muestras recolectadas fueron sometidas a examen visual directo, complementado con observaciones bajo lupa binocular y con preparados para microscopía de luz.
- Cámara húmeda: En el caso de patógenos que no presentaron estructuras que faciliten su identificación, fue necesario realizar incubación de tejidos afectados en bandejas plásticas, con papel de filtro humedecido y esterilizado, favoreciendo así la proliferación de los mismos.
- Aislamientos: Se realizaron aislamientos de las zonas afectadas de las raíces, tallo y hojas, en cajas de Petri con APG (Agar Papa Glucosa) e incubadas en cámara de condiciones controladas 24 C° +- 1.

## **Metodología para la toma de datos:**

Se realizaron muestreos y toma de datos en diferentes momentos del ciclo del cultivo, a campo y laboratorio. (tabla1).

A los 30 días posteriores a la siembra, se extrajeron de cada tratamiento 2 líneas y tres repeticiones de un metro (6 metros en total).

Las muestras recolectadas en el campo, se guardaron en bolsas de nylon etiquetadas con un número de identificación con fecha, tratamiento, repetición, número de surco y descripción de síntomas observados. El muestreo fue de carácter destructivo, ya que dichas

las mismas fueron analizadas en laboratorio. De las plántulas extraídas se determinó la incidencia de los diferentes patógenos de suelo, con el posterior diagnóstico de los mismos. Como variable complementaria, se midió la altura de las plántulas en centímetros y se las clasificó en normales y anormales, según apreciaciones subjetivas.

En el caso de las plántulas normales, son aquellas que no fueron afectadas por patógenos de suelo o factores ambientales, y que presentaron buen desarrollo radicular y aéreo. En contraste, las que se detectaron como plántulas anormales fueron aquellas que presentaron semillas muertas, cierto grado de malformación o que estaban afectadas por algún agente patógeno. Éstas, pueden o no presentar mermas significativas en el rendimiento. (*Compendium of Chickpea and Lentil Diseases and Pests. 2011*)

La anterior medición se realizó con la finalidad de analizar la respuesta del cultivo frente a patógenos que afectan durante estadios vegetativos tempranos. Vale aclarar que a los 60 días habría sido oportuno realizar una segunda medición de patógenos afectando la etapa vegetativa, pero no se hizo por la razón de que el cultivo se vio afectado por heladas de alta intensidad y duración. (-5°C y más de 10 horas de duración). Sumado a un antagonismo por la aplicación de sulfentrazone, esto hizo que el cultivo se vea muy susceptible y expuesto a patógenos, no siendo representativos los datos a recolectar. A causa de las lluvias atípicas del mes de septiembre, el cultivo tomó un giro repentino, donde vimos una recuperación del mismo.

Continuando con el ensayo se procedió a la evaluación del cultivo en la fase reproductiva, en la cual se contabilizaron las plantas en 60 metros lineales del surco central de cada tratamiento, distribuida en 3 repeticiones de 20 metros cada una. Por otro lado, se identificaron las plantas enfermas sobre las sanas, esto se realizó con el objeto de medir incidencia de patógenos en dicha fase fenológica. Tomando plantas enfermas para su posterior análisis a laboratorio.

Llegada la madurez fisiológica del cultivo, el veintidós de noviembre, se procedió a la recolección de plantas, las mismas se extrajeron del surco central de cada tratamiento, 2 metros por repetición, siendo en total 6 metros por tratamiento. La toma de muestras se la llevó a cabo aleatoriamente dentro de la parcela. A su vez se determinó el número de plantas contenidas en cada repetición y se tuvo en cuenta el estado de cada tratamiento sacando muestras que fueron realmente representativas a esa línea de siembra. Las plantas extraídas fueron colocadas en bolsas de red para

favorecer su aireación y secado, el mismo consistió en el secado natural a invernadero (temperaturas mayores a 35 °C).

Con respecto al método de cosecha, consistió en retirar los cascabullos de la planta manualmente, colocándolos dentro de una bolsa resistente, para luego frotarlos ocasionando la ruptura de la “cascara” y por medio de una corriente de aire de un ventilador, separar los granos.

Las variables medidas en gabinete fueron: peso de granos para la determinación del rendimiento, y calibre desde 8 a 5,5 mm.

Para estimar rendimiento, se pesaron los granos contenidos en cada repetición, empleando una balanza de precisión.

El calibre de los granos para cada tratamiento, se determinó con zarandas calibradas, en el laboratorio de semillas de la FCA UNC.

Tabla N°1. Tabla representativa de la organización de la toma de datos.

Tareas	Momento de medición.
1° Medición	30 días desde la siembra.
2° Medición	60 días desde la siembra aproximadamente (no se realizó).
3° Medición	Estado reproductivo.
Cosecha	Madurez fisiológica.

### Análisis Estadístico

La comparación de las variables medidas de cada tratamiento, se realizó con diferentes pruebas estadísticas. Para las variables eficiencia de germinación, altura de plántulas, número de plantas cada 20 mts., incidencia de enfermedades, calibre de granos y rendimiento, se utilizó el análisis de la varianza (ANAVA) para analizar las diferencias entre medias. Para detectar las diferencias se realizó la prueba a posteriori LSD de Fisher. El

nivel de significancia fijado fue de 0,05. El cumplimiento de los supuestos del ANAVA se comprobó mediante pruebas gráficas (gráficos de tipo dot-plot y gráficos de barras). La información fue analizada estadísticamente utilizando el programa InfoStat (Di Rienzo et al., 2017).

- Elaboración del biopolímero:

Para 50 Kg de semilla de garbanzo, se aplicaron 3,3 litros de recubrimiento, logrando una cobertura homogénea de las semillas. En la tabla 2 se detallan los ingredientes y sus respectivas cantidades.

Tabla 2. Materiales y cantidades empleadas para la formulación del biopolímero, necesarias para la aplicación en 50 kg de semillas de garbanzo.

Materiales	Cantidades necesarias
Agua	3,3 litros
Almidón de mandioca	99 gramos
Glicerina	82,5 gramos
Gelatina sin sabor	2,94 gramos

Tanto el procedimiento de elaboración como las dosis aplicadas del polímero utilizado fueron realizados bajo protocolos establecidos por la Dra. Patricia Montoya, Profesora Asistente Química Orgánica I y II – Ing. Química F.C.E.F. y N. U.N.C.

La elaboración consistió en agregar 100ml de agua para hidratar el almidón de mandioca, evitando la producción de grumos y 50ml de agua para hidratar la gelatina sin sabor. La cantidad restante de agua (3150 ml) se calentó a 50°C. Posterior a esto se procedió a disolver el glicerol y se agitó, con un agitador magnético, a 50°C durante 30 minutos. Luego se agregó la gelatina previamente hidratada y se dejó con agitación constante por 30 minutos. Por último, se añadió el almidón previamente disuelto, agitando durante 1 hora a 70°C aproximadamente, para iniciar el proceso de gelatinización del almidón.

El producto final obtenido es una solución de moderada viscosidad, con aspecto a gel y de condición transparente; y se utilizó para el encapsulado de la semilla.

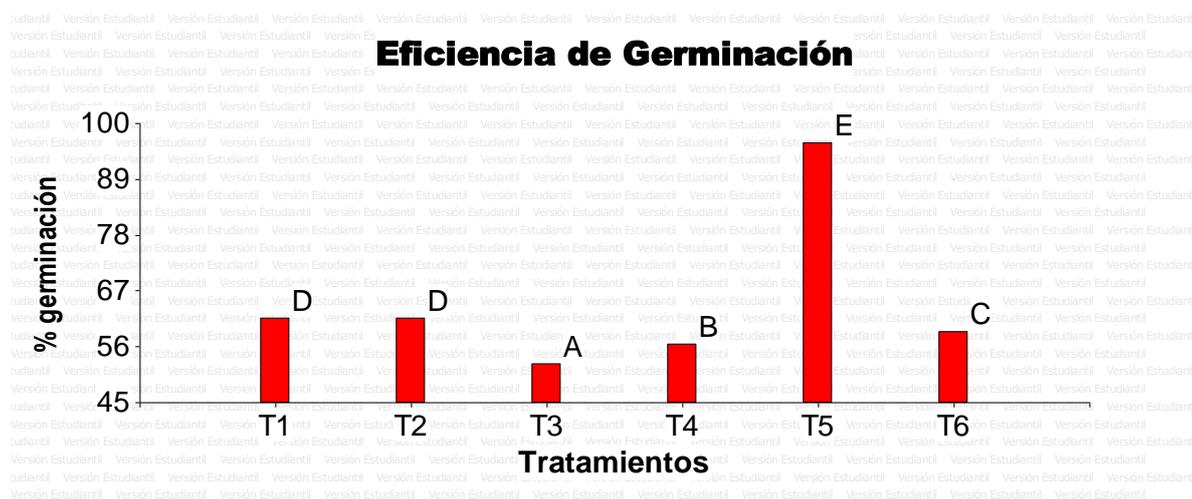
## Resultados y Discusión

Es muy importante destacar la fuerte inclemencia climática que afectó al cultivo, y que sumado a la aplicación de sulfentrazone, causó un fenómeno de carryover (fitotoxicidad causada por la residualidad de herbicidas como sulfonilureas, imidazolinonas, triazolpirimidinas, hormonales, triazinas, entre otros). Ésta no solo afectó el cultivo propiamente dicho sino que también el desarrollo del biocontrolador. Esto se correlaciona con los resultados obtenidos por Freitas, M. en 2014 y en contraste con Caballero, A. en 2016. (Página 5)

A partir de la primer visita a campo, 30 días después de la siembra se recolectaron y analizaron los datos.

Entre ellos, el porcentaje de germinación, siendo el tratamiento funguicida el más eficiente.

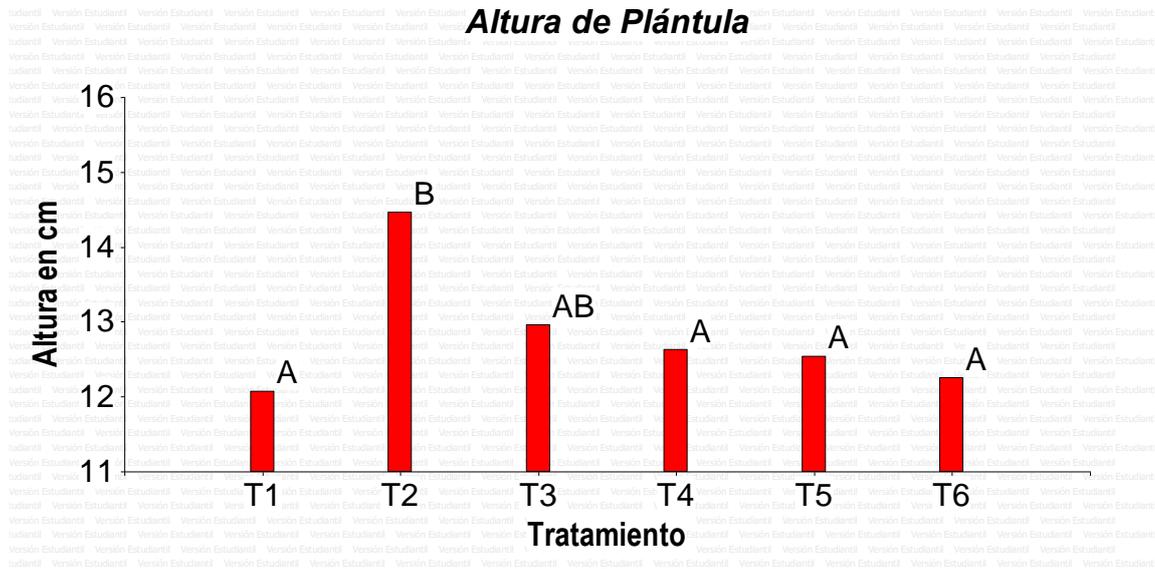
En relación a los tratamientos con *Trichoderma* sp. obtuvieron valores menores y estadísticamente diferentes entre ellos. Quedando el testigo con el menor resultado.



**Ilustración N°3: Gráfico con resultados del conteo de semillas germinadas con respecto a cada tratamiento, expresado en porcentaje de germinación. (ANAVA en anexo)**

En la siguiente tabla se presenta los resultados de la correlación de altura en los

diferentes tratamientos. El tratamiento biopolímero mostró la mayor altura de plántulas con respecto a los demás. En todas las plántulas se observó daño por helada; en donde estaba cubierto por rastrojo el daño fue mas severo. (Tabla 1).

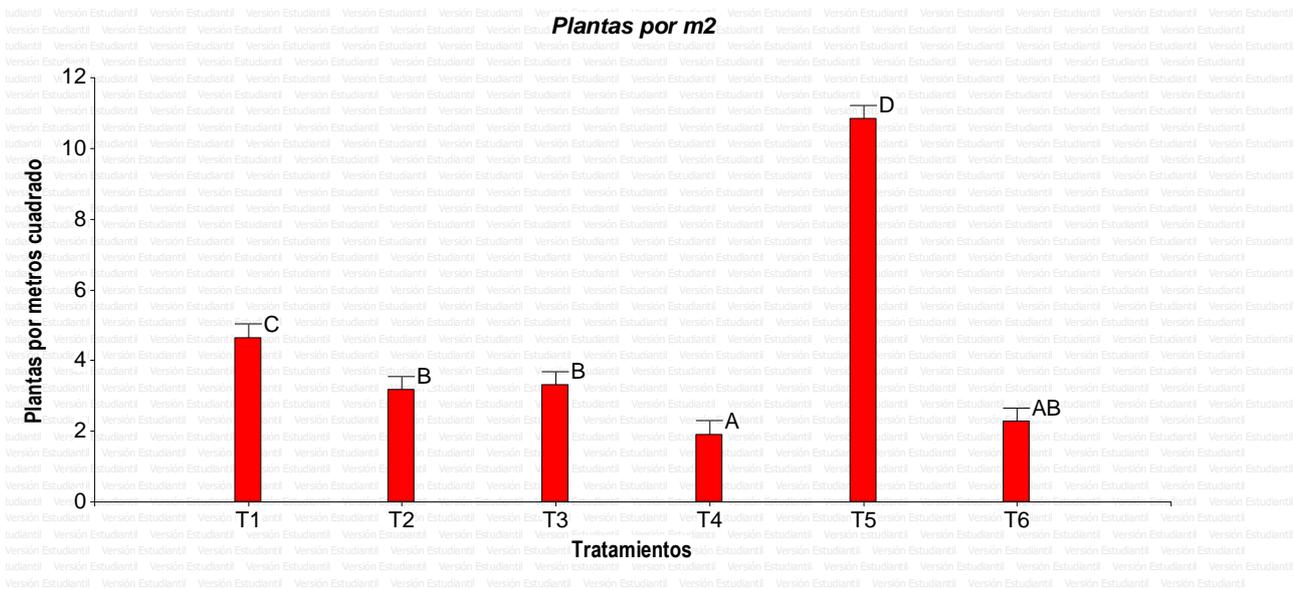


**Ilustración N°4: Gráfico con resultados de media de alturas de plántulas por tratamiento. (ANAVA en anexo)**

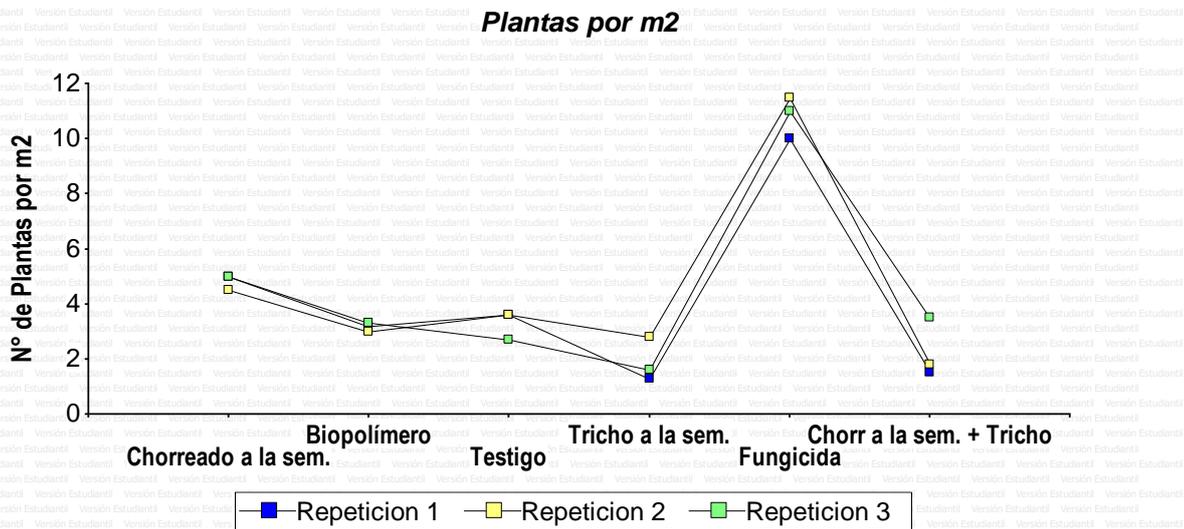


**Ilustración N°5: hifas de *Rizhoctonia sp.* siendo atacadas por el hongo fitopatológico *Trichoderma sp.***

En lo referido al número de plantas en estado reproductivo (Ilustración 6 y 6.1), se observó que el tratamiento fungicida se destacó, siendo la media de dicho tratamiento significativamente mayor que los demás. A su vez es de destacar el desempeño que tuvo *Trichoderma sp.* chorreado a la semilla.



**Ilustración N°6: Gráfico con el N° de plantas por m<sup>2</sup>, por tratamiento (ANOVA).**

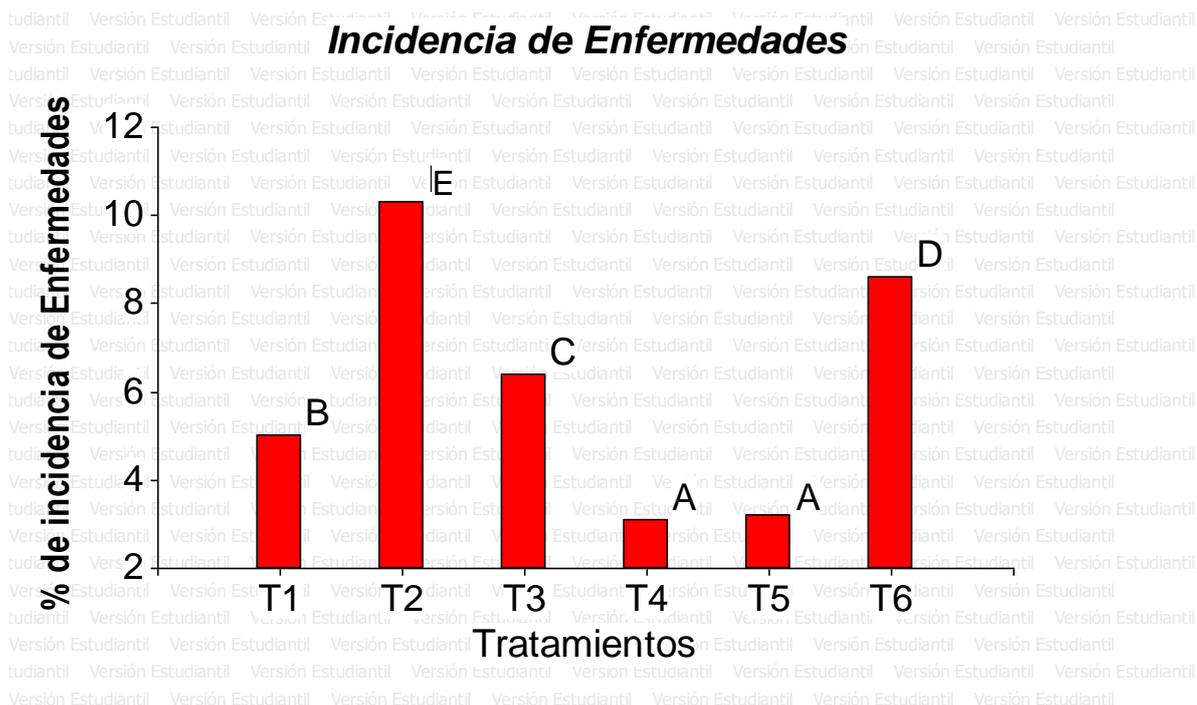


**Ilustración N°6.1: Gráfico con el N° de plantas por m<sup>2</sup>, por tratamiento.**

Con respecto a la incidencia de enfermedades, los resultados de la evaluación de los tratamientos fueron dispares. En la Figura 3, el biopolímero se posicionó por encima de los restantes, denotando un mayor número de plantas enfermas por metro cuadrado, a lo largo de todas las instancias de medición. Una de las hipótesis es que el frío inactivó el *Trichoderma* sp. y pudo haber un efecto de atracción de los patógenos hacia los nutrientes del biopolímero.

Los tratamientos *Trichoderma* a la semilla + Chorrado (T6) y *Trichoderma* chorrado (T1) presentaron diferencias en relación al porcentaje de plantas enfermas. La hipótesis que se plantea es que pudo llegar a haber un efecto borde o una falla mecánica de los

dosificadores.



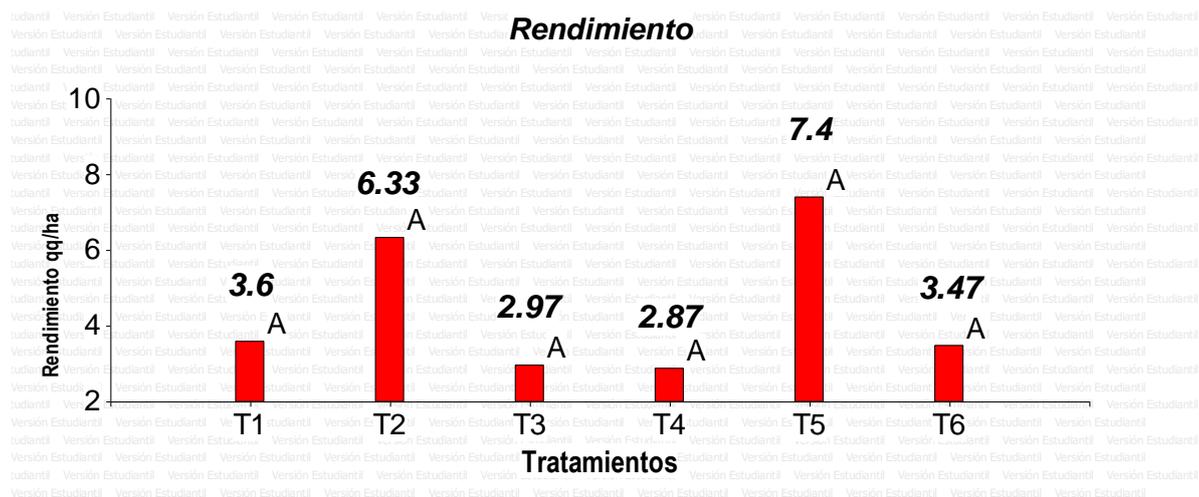
**Ilustración N°7: Gráfico de incidencia de enfermedades expresado en porcentajes en el estado reproductivo.**

**Tabla N°3: Resultados en aislamientos y cámara húmeda de tallos, raíz y semilla en el estado reproductivo.**

Parte Trozos	Aislamiento (APG)			Cámara Húmeda	
	Tallo	Raíz	Semilla	Primera	Segunda
1	<i>Fusarium spp</i>	<i>Fusarium spp.</i>	Sano	<i>Fusarium spp.</i>	<i>Alternaria spp.</i>
2	Sano	<i>Fusarium spp.</i>	Sano	Sano	Sano
3	Sano	<i>Fusarium spp.</i>	Sano	Sano	<i>Alternaria spp.</i>
4	Sano	<i>Fusarium spp.</i>	Sano	Sano	Sano
5	-----	<i>Alternaria spp.</i>	-----	Sano	-----
6	-----	-----	-----	Sano	-----

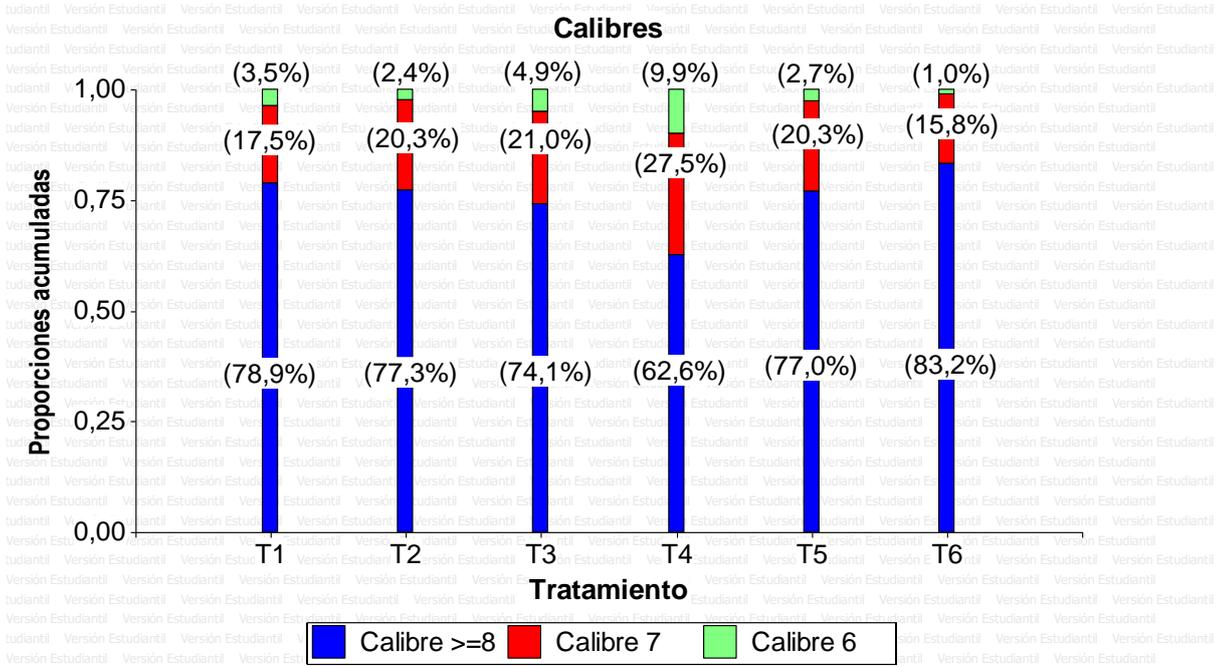
En la última etapa del ensayo se realizaron evaluaciones de rendimiento y calibre.

Como podemos apreciar en la siguiente gráfica los mejores rendimientos se dieron en biopolímero y fungicida, que a su vez entre ellos muestran una diferencia de un quintal la cual estadísticamente no es significativa, pero si es a nivel producción. Estos resultados se correlacionan con la mayor altura de plantas y mayor stand de las mismas. En cuanto al resto de los rendimientos no se observaron grandes diferencias, siendo el testigo y el *Trichoderma* a la semilla los más bajos.

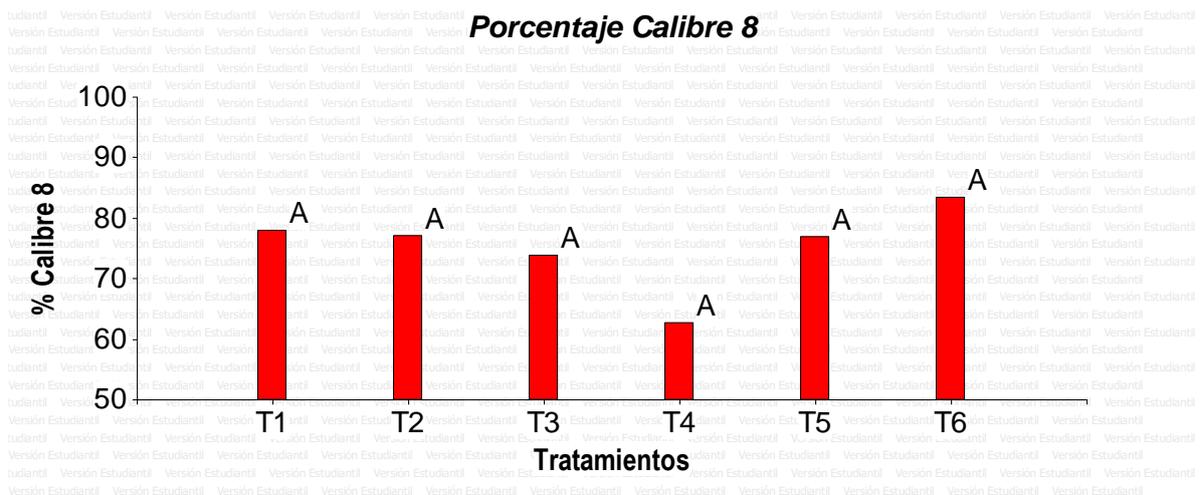


**Ilustración N°8: rendimientos de los distintos tratamientos.**

En cuanto a la calidad, dada por el calibre, los distintos tratamientos no mostraron grandes diferencias, siendo los de menor rendimiento los que presentaron tendencia a menor calibre; exceptuando el tratamiento numero seis (*Trichoderma* a la semilla mas chorreado) que tuvo una leve compensación de tamaño.



**Ilustración N°9: Distribución de los diferentes calibres para cada tratamiento**



**Ilustración N°10: Diferencia entre tratamientos en porcentaje de granos de calibre 8.**

# Conclusión

Se comprobó que el período próximo a la germinación, es un período crítico con respecto a *Rhizoctonia* spp. ya que reduce considerablemente el número de plantas. Las principales enfermedades que limitaron el normal desarrollo de las plantas fueron *Rhizoctonia* sp. en etapas tempranas y *Fusarium* sp. en etapas tardías.

El uso de fungicida reduce de manera eficaz, los problemas de damping off en período de preemergencia a emergencia temprana, seguido del tratamiento con biopolímero.

Se demostró que el encapsulado de *Trichoderma* en semillas con el biopolímero mejoró los parámetros fisiológicos como tamaño de plantas (altura) y rendimiento, posicionándolo de manera competitiva con respecto al tratamiento con fungicida.

Los tratamientos de *Trichoderma* a la semilla y testigo tienen datos similares, pero esto no es por un buen desempeño del testigo, sino que por razones ambientales, se limitó el potencial que puede brindar *Trichoderma*. El mismo es un agente biológico que depende del ambiente y es afectado por éste.

Es de destacar que la mejor forma de competir que tiene el controlador biológico (*Trichoderma* sp.) en contra de un fungicida sintético es en forma de biopolímero.

Este trabajo permitió reforzar los conceptos adquiridos durante el cursado de las diferentes asignaturas e integrarlos en un trabajo final.

# Anexo

Durante el ensayo se tuvieron en cuenta cuestiones éticas, de desarrollo personal y responsabilidad social, siendo conscientes de los impactos positivos y negativos que puede tener el biocontrolador, tanto en productores, científicos, sociedad y medio ambiente. Como futuros profesionales reflexionamos acerca del rol y la responsabilidad en los hechos e ideas; todo esto en post de mejorar la calidad de vida, la seguridad y la eficiencia.

**Tabla N°4: Resultados del ANAVA de germinación.**

## Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Germinación	18	1,00	1,00	5,4E-07

## Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3781,06	5	756,21	6244173105723020,00	<0,0001
Tratamientos	3781,06	5	756,21	sd	sd
Error	1,5E-12	12	0,00		
Total	3781,06	17			

## Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,00000

Error: 0,0000 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T3	52,60	3	0,00	A
T4	56,40	3	0,00	B
T6	59,00	3	0,00	C
T2	61,50	3	0,00	D
T1	61,50	3	0,00	D
T5	96,20	3	0,00	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Tabla N°5: Resultados del ANAVA, comparando la media de las alturas de plántulas para los diferentes tratamientos.

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Altura cm	182	0,05	0,02	23,16

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	82,90	5	16,58	1,91	0,0954
Tratam	82,90	5	16,58	1,91	0,0954
Error	1530,34	176	8,70		
Total	1613,23	181			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,56260

Error: 8,6951 gl: 176

Tratam	Medias	n	E.E.		
T1	12,07	27	0,57	A	
T6	12,25	18	0,70	A	
T5	12,54	62	0,37	A	
T4	12,63	30	0,54	A	
T3	12,96	24	0,60	A	B
T2	14,47	21	0,64		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Tabla N°6: Resultados del ANAVA, comparando la media de N° de plantas por m<sup>2</sup> en los diferentes tratamientos.

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Plantas por metros cuadrad..	18	0,97	0,95	15,63

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	164,88	5	32,98	71,34	<0,0001
Tratamientos	164,88	5	32,98	71,34	<0,0001
Error	5,55	12	0,46		
Total	170,43	17			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=1,20948

Error: 0,4622 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.		
T4	1,90	3	0,39	A	
T6	2,27	3	0,39	A	B
T2	3,17	3	0,39		B

T3	3,30	3	0,39	B	
T1	4,63	3	0,39		C
T5	10,83	3	0,39		D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Tabla N°7: Resultados del ANAVA de Incidencia de Enfermedades.**

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Incidencia de Enfermedades	18	1,00	1,00	9,3E-07

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	127,80	5	25,56	7944823273264710,00	<0,0001
Tratamientos	127,80	5	25,56	sd	sd
Error	0,00	12	0,00		
Total	127,80	17			

### Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,00000

Error: 0,0000 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T4	3,10	3	0,00	A
T5	3,20	3	0,00	A
T1	5,00	3	0,00	B
T3	6,40	3	0,00	C
T6	8,60	3	0,00	D
T2	10,30	3	0,00	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Tabla N°8: Resultados del ANAVA de los rendimientos en qq/ha**

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Rendimiento	18	0,41	0,17	57,83

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	55,94	5	11,19	1,70	0,2097
Tratamientos	55,94	5	11,19	1,70	0,2097
Error	79,09	12	6,59		
Total	135,02	17			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=4,56704**

Error: 6,5906 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T4	2,87	3	1,48	A
T3	2,97	3	1,48	A
T6	3,47	3	1,48	A
T1	3,60	3	1,48	A
T2	6,33	3	1,48	A
T5	7,40	3	1,48	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Tabla N°9: Resultados de ANAVA del % de Calibre 8 presente entre tratamientos.**

### **Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
% Calibre 8	18	0,21	0,00	20,03

### **Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	717,38	5	143,48	0,63	0,6798
Tratamientos	717,38	5	143,48	0,63	0,6798
Error	2726,91	12	227,24		
Total	3444,29	17			

**Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=26,81756**

Error: 227,2428 gl: 12

Tratamientos	Medias	n	E.E.	
T4	62,67	3	8,70	A
T3	73,83	3	8,70	A
T5	76,80	3	8,70	A
T2	77,07	3	8,70	A
T1	77,93	3	8,70	A
T6	83,37	3	8,70	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )



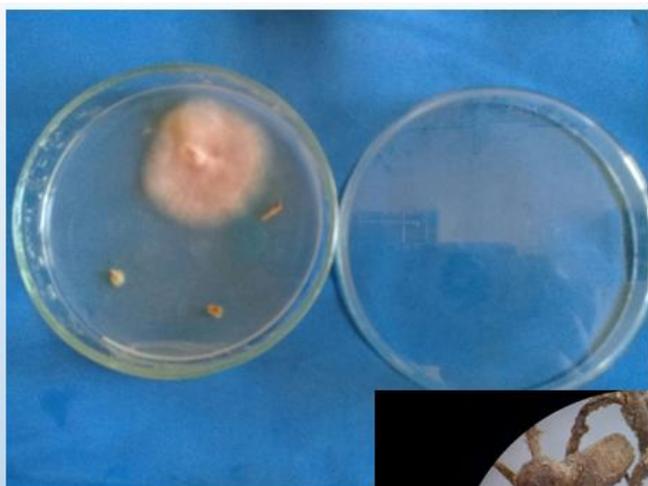
Dosificador de *Trichoderma* sp. chorreado



Polímero recubriendo la semilla de garbanzo y sobre el mismo gran concentración de *Trichoderma* sp. creciendo sobre la semilla.



Vista general del ensayo.

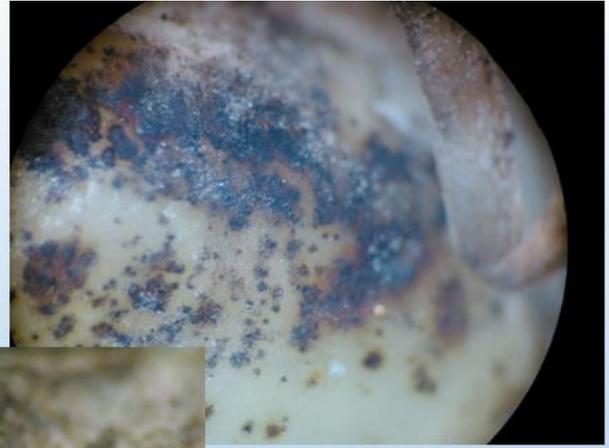


Aislamientos de *Fusarium* spp.





Hifa de *Rhizoctonia* sp.  
siendo parasitada por  
*Trichoderma* spp.



*Rhizoctonia* sp.



*Fusarium* spp.

# Bibliografía

- Caballero, W., Senes, P. Toumanian, A. (2016) "Evaluación de la capacidad biocontroladora de *Trichoderma atroviridae* en el cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum* L.)"
- Carreras, J., Mazzuferi V., Karlin, M. (2016). El Mejoramiento del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en Argentina . Jornada Nacional de Garbanzo.
- Cardoso, J., E. Echandi. 1987. Biological control of Rhizoctonia root rot of snap bean with binucleate Rhizoctonia-like fungi. Plant Dis. 71:167-170.
- Giovannini, C.; Andrade, N.; Valenzuela, E.; Castro, N. y Contreras, A., 2005. Caracterización morfológica y patogénica de *Rhizoctonia solani* Kühn a partir de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L) provenientes de diferentes predios de la región de Chile. 23:13-18 .
- Freites, M., Alessio, C.(2014) "Performance de *Trichoderma atroviride* como biocontrolador de enfermedades fúngicas y estimulador del crecimiento vegetal, en el cultivo de garbanzo."
- Druzhinina, I. S., Kopchinskiy, A.G. y Kubicek, C.P. 2006. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. Mycoscience 47:55–64.
- Infante D, Martínez B, Peteira B, Reyes Y, Herrera A. 2013.Molecular identification of thirteen isolates of *Trichoderma* spp. and evaluation of their pathogenicity towards *Rhizoctonia solani* Kühn. Biotecnología Aplicada.;30:23-28.
- Papavizas G.C. (1985). *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. Annu. Rev. Phytopathol. 23, 23-54.
- Pérez AA, Muñoz JO, Arregui GO. 2010. Evaluación de la capacidad biocontroladora de una cepa nativa de *Trichoderma* sp. sobre fusarium sp. y *Rhizoctonia solani* Kuhn. en el cultivo de papa. Resúmenes de la XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas, San Luis, Argentina.
- Tomás, A. (2015) "Comportamiento de Biopolímero con Inoculante y Biocontrolador Utilizados como Encapsulantes en Semillas de Arveja, Lenteja y Garbanzo"