



## Efecto de la secuencia de cultivos sobre la población nativa de *Trichoderma* spp. en agricultura sin laboreo

Villar Andrés<sup>1</sup> , Ernst Oswaldo<sup>1</sup> , Cadenazzi Mónica<sup>1</sup> , Vero Silvana<sup>2</sup> , Pereyra Silvia<sup>3</sup> , Altier Nora<sup>3</sup> , Chouhy Diego<sup>1</sup> , Langone Fabrizio<sup>1</sup> , Pérez Carlos A<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Universidad de la República, Facultad de Agronomía. Garzón 780, 12900 Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Universidad de la República, Facultad de Química. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Uruguay. \*Email: villarandres@gmail.com

Recibido: 05-10-2017

Aceptado: 20-12-2018

### Resumen

La agricultura ha experimentado un fuerte proceso de cambios que han significado un aumento de las problemáticas sanitarias causadas por patógenos necrotróficos. Diversos trabajos muestran que manejando microorganismos benéficos es posible reducir el impacto de las enfermedades. En base a esto, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de los cultivos sobre la población de *Trichoderma* spp. en suelo y en rastrojo, en un sistema agrícola sin laboreo. El monitoreo de la población de *Trichoderma* spp. se realizó en un experimento con cuatro secuencias de cultivos. Se realizaron muestreos de rastrojo y suelo en primavera y otoño, durante tres años consecutivos. La densidad poblacional de *Trichoderma* spp. fue determinada mediante el método de dilución y recuento en placa. A su vez, se determinaron las propiedades químicas del suelo de cada tratamiento. Los resultados mostraron que el rastrojo de cebada presentó mayor densidad poblacional de *Trichoderma* spp. que el rastrojo de otras especies. Las distintas secuencias de cultivo afectaron significativamente la densidad poblacional de este hongo en el suelo. Sin embargo no tuvieron efecto sobre las propiedades químicas del suelo, ni hubo una asociación entre estas y la población de *Trichoderma* spp. Estos resultados establecen la posibilidad de manejar la población nativa de *Trichoderma* spp. mediante la elección de los componentes de las secuencias de cultivos, y permiten identificar ambientes más propicios para mantener altas poblaciones de *Trichoderma*. La identificación de ambientes que favorecen altas poblaciones de *Trichoderma* podría indicar situaciones más favorables para eventuales inoculaciones del antagonista.

**Palabras clave:** control biológico, dinámica poblacional, rotación de cultivos

## Crop Sequence Effects on Native Populations of *Trichoderma* spp. in No-till Agriculture

### Summary

Agriculture has experienced a strong process of changes that have led to an increase in crop diseases caused by necrotrophic pathogens. Several studies demonstrated that by managing beneficial microorganisms, it is possible to reduce the impact of plant diseases. Based on this, the objective of this study was to determine the effect of field crops on the population of *Trichoderma* spp. in soil and straw in a no-till cropping system. The population of *Trichoderma* spp. was monitored in an experiment with four different crop sequences. Samples of soil and crop debris were collected in spring and fall, over three consecutive years. The population density of *Trichoderma* spp. was determined by dilutions with plate counts

method. In addition, soil chemical properties were determined for each treatment. Barley debris showed the highest population density of *Trichoderma* spp. in relation to other crop debris. Different cropping sequences significantly affected the population density of this fungus in the soil. However, they had no effect on the soil chemical properties, and no association was found between these variables and the population of *Trichoderma* spp. These results confirm the possibility to handle the native population of *Trichoderma* spp. through the components of the crop sequences and indicate that conducive environment may support higher populations of *Trichoderma*. The identification of those environments enhancing *Trichoderma* could indicate better conditions where inoculations of this antagonist might have higher chances of success.

**Keywords:** biological control, population dynamics, crop rotation

## Introducción

La agricultura ha experimentado en la última década un fuerte proceso de intensificación productiva, reducción del número de cultivos sembrados y adopción generalizada de la siembra directa<sup>(1)(2)</sup>. Esto ha resultado en un aumento significativo de las problemáticas sanitarias causadas por patógenos necrotróficos, lo que ha derivado en el incremento del uso de fungicidas<sup>(3)</sup>, con el consecuente impacto económico y ambiental que esto conlleva. En estos sistemas, el reducido número de cultivos, la fuerte presión que ejercen los mercados y el amplio rango de hospederos de algunos patógenos, condicionan algunas medidas de fuerte impacto para el manejo de las enfermedades<sup>(4)(5)</sup>.

En este contexto, surge la necesidad de generar información que contribuya al desarrollo de un manejo sustentable de las enfermedades. El control biológico es una herramienta que ha sido poco explorada en sistemas agrícolas extensivos, y que puede reducir el impacto de las enfermedades en el marco de un manejo integrado de las mismas.

Diversos trabajos muestran que la introducción masiva de *Trichoderma* spp. en espigas y hojas de trigo lograron reducir el desarrollo de las enfermedades causadas por *Fusarium graminearum*, *Zymoseptoria tritici*, *Bipolaris sorokiniana* y *Drechslera tritici-repentis*<sup>(6)(7)(8)(9)</sup>. Por otra parte, la aplicación de agentes de biocontrol al rastrojo ha resultado en la reducción de la presión de inóculo de algunos patógenos de importancia económica<sup>(5)(10)</sup>. Pese a los resultados alentadores, una constante en este tipo de enfoques ha sido la falta de adaptabilidad de los agentes de biocontrol al patosistema donde fueron introducidos, y la ausencia de un ambiente que permita la expresión del antagonismo, resultando en efectos efímeros y/o inconsistentes, cuando se evalúan en condiciones de campo.

Una estrategia que ha mostrado mayor estabilidad en los resultados es el desarrollo de ambientes supresivos

de enfermedades, donde elevadas poblaciones nativas de microorganismos benéficos logran suprimir el desarrollo de epidemias<sup>(11)</sup>. Existen abundantes antecedentes enfocados al manejo de poblaciones de biocontroladores nativos (adaptados a los patosistemas). La generación de ambientes que favorecen una elevada densidad poblacional del biocontrolador, permite una mejor actividad antagónica del controlador, minimizando el impacto de las enfermedades<sup>(12)(13)(14)</sup>.

En este sentido, *Trichoderma* es un género de hongos que habita naturalmente los suelos y que mediante la diseminación de esporas y el crecimiento micelial puede colonizar al rastrojo y antagonizar los microorganismos allí presentes. Varias especies dentro de este género han mostrado ser eficientes biocontroladores de un amplio grupo de patógenos de importancia económica<sup>(7)(8)</sup>. A su vez, se ha demostrado la potencialidad de manejar la población de *Trichoderma* spp. en el suelo mediante la secuencia de cultivos<sup>(15)(16)(17)</sup>, así como también, mediante cambios en las propiedades químicas del suelo<sup>(18)</sup>. Sin embargo, no existen antecedentes sobre la dinámica poblacional de *Trichoderma* spp. en el rastrojo.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto de la rotación de cultivos sobre la población de *Trichoderma* spp. que habita el suelo y los rastrojos en un sistema de agricultura continua en siembra directa, y comprender qué componentes de la secuencia de cultivos permiten el mantenimiento de altas poblaciones nativas de *Trichoderma*.

## Materiales y métodos

### Sitio experimental

El monitoreo de la población de *Trichoderma* spp. se realizó en un experimento que incluyó cuatro secuencias de cultivos sembrados sin laboreo instalado en 1999 en la Estación Experimental Mario A. Cassinoni (EEMAC,

32°21'58.46"S; 58°3'56.35"O), Paysandú, Uruguay. Este estudio se llevó a cabo entre el 2009 y el 2012, por lo cual las secuencias de cultivo ya estaban estabilizadas, o sea, habiendo pasado todos los cultivos al menos por dos secuencias de cultivos completas. Dicho experimento presenta las siguientes secuencias de cultivos: 1- trigo-soja, 2- trigo-soja-cebada-girasol, 3- trigo-soja-cebada-sorgo-avena-maíz, 4- trigo-soja-cebada-girasol-avena con lotus-lotus 2º año. A su vez, con el objetivo de eliminar el efecto año, el experimento se diseñó con 10 tratamientos de manera que todos los cultivos de las cuatro secuencias estuvieron presentes todos los años. Estas secuencias de distinta duración compuestas de diferentes especies botánicas, permitieron evaluar la población de *Trichoderma* spp. en diversos microambientes.

El experimento tuvo un diseño experimental de bloques completos con parcelas aleatorizadas con tres repeticiones. Las parcelas fueron de 10 m x 30 m, con 3 m de separación entre parcelas y 10 m entre bloques. Los cultivos se manejaron como cultivos comerciales, con densidad de siembra, fertilización, y manejo de plagas de acuerdo a lo requerido por cada cultivo. No se aplicó ningún fungicida en el experimento, de modo de reducir el impacto de estos sobre las poblaciones fúngicas.

Condiciones climáticas: los datos de lluvia y temperatura fueron obtenidos de la estación meteorológica de la EEMAC (estación meteorológica automática DAVIS VANTAG2 PRO2 L.R., U.S.A.), ubicada a 1,3 km del experimento (32°22'41.48"S; 58°3'57.00"O).

### Muestreo de rastrojo

Se realizaron muestreos de rastrojo en dos momentos del año (primavera y otoño), durante tres años consecutivos: primavera 2009 (Prim 2009), otoño 2010 (Ot2010), primavera 2010 (Prim2010), otoño 2011 (Ot2011), primavera 2011 (Prim2011) y otoño 2012 (Ot2012). Las muestras de rastrojo se colectaron utilizando cuadros de muestreo de 50 cm x 50 cm, realizando cinco lanzamientos al azar por parcela y colectando todo el rastrojo que se encontraba en la superficie del suelo dentro del cuadro. El rastrojo colectado en todos los lanzamientos era colocado en una bolsa de papel generando una muestra compuesta, representativa de cada parcela. Se procedió a secar el rastrojo en estufa de aire forzado (FANEM® modelo 315, Brasil) a 40 °C durante 24 horas, y se determinó el peso seco del mismo.

En los muestreos de primavera 2011 y otoño 2012, se seleccionó el componente principal constituido por el rastrojo del último cultivo cosechado, y se cuantificó el mismo, expresado como porcentaje del peso total de la muestra. De esta forma, en las muestras colectadas en otoño predominaba el rastrojo del último cultivo de invierno, y en las de primavera predominaba el rastrojo del último cultivo de verano. Ambos rastrojos al momento de ser colectados tuvieron aproximadamente seis meses de descomposición en el campo. Las muestras fueron conservadas en bolsas de papel a temperatura ambiente, en un ambiente seco y oscuro hasta su procesamiento, por no más de siete días.

### Muestreo de suelo

Las muestras de suelo fueron colectadas al mismo momento que las muestras de rastrojo, en dos veces al año, en dos años consecutivos: primavera 2009, otoño 2010, primavera 2010 y otoño 2011. Las mismas fueron colectadas con calador desde los 5 cm superficiales del suelo (profundidad de 0 a 5 cm). En cada parcela se colectaron 20 tomas que se mezclaron en una misma bolsa de modo de tener una muestra compuesta. Las muestras fueron conservadas por no más de siete días en bolsas de plástico en heladera a 4 °C hasta su procesamiento.

### Cuantificación de la población de *Trichoderma* spp. en suelo y rastrojo

La densidad poblacional de *Trichoderma* spp. en suelo y rastrojo en cada muestra fue determinada siguiendo el método propuesto por Vargas Gil y otros<sup>(19)</sup> con modificaciones. Sub-muestras de 10 g de rastrojo o de suelo, se colocaron en matraces Erlenmeyer de 250 ml y se suspendieron en 150 ml y 100 ml de suero fisiológico estéril, respectivamente, homogeneizado por agitación durante 30 minutos a 200 rpm en un agitador orbital (Felisa®, Modelo FE315, México). De cada suspensión se tomó 1 ml y se realizó una dilución en 9 ml de suero fisiológico estéril. Una alícuota de 300 µl de cada suspensión y su correspondiente dilución 1/10 se sembró en placas con medio semiselectivo para *Trichoderma*<sup>(20)</sup>. Se sembraron cuatro placas por dilución, dos placas un día y al día siguiente otras dos placas para tener repetición en el tiempo. Las mismas fueron incubadas a 25 °C en oscuridad, y luego de seis días se contó el número total de colonias de *Trichoderma*

spp., expresando el resultado como unidades formadoras de colonias por gramo seco (UFC/g) de suelo o rastrojo, respectivamente. Para corroborar que las colonias cuantificadas pertenecieran al género *Trichoderma* se aislaron distintas variaciones morfológicas de las colonias creciendo en medio de cultivo, y se identificaron en forma molecular mediante la amplificación y secuenciamiento de la región del ITS del operón del ADN ribosomal.

### Determinación de las propiedades químicas del suelo

Se tomaron sub-muestras de suelo de todas las unidades experimentales colectadas en otoño 2011, y se enviaron al laboratorio de Suelos y Aguas del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) La Estanzuela, donde se realizó el análisis de nitrógeno total (N) por combustión a 900 °C y posterior detección de N<sub>2</sub> por conductividad térmica y potasio (K) en solución de acetato de amonio a pH 7 y emisión atómica. Los análisis de materia orgánica (MO), pH y fósforo (P) fueron realizados en el Laboratorio de Suelos y Agua de la Estación Experimental Mario A. Cassinoni. El contenido de materia orgánica se estimó a través del método Walkley-Black<sup>(21)</sup>. El pH fue calculado en una solución de cloruro de potasio 1 N y en agua destilada. El P se determinó a través de la técnica BRAY N°1<sup>(22)</sup>.

### Análisis estadístico

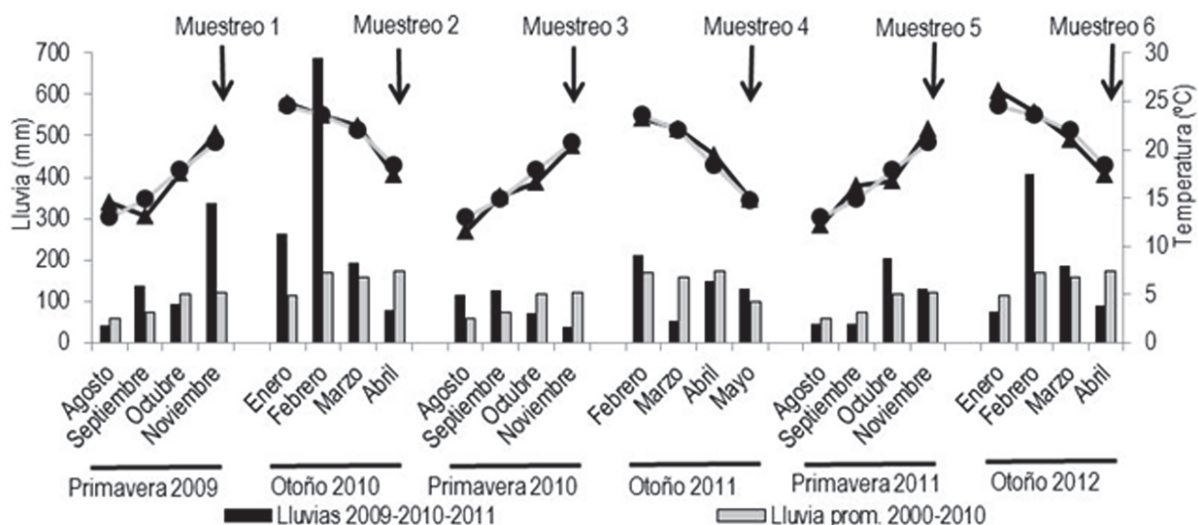
El análisis estadístico de los conteos de colonias se realizó mediante un modelo lineal generalizado, con distribución Poisson usando el procedimiento Glimmix mediante el paquete estadístico SAS<sup>(23)</sup>.

Cuando el análisis permitió rechazar la hipótesis nula, se procedió a la comparación de medias mediante la prueba de Wald, y los P-valor fueron ajustados por Tukey (P = 0,05). Para contenido de materia orgánica, pH y contenido de nutrientes del suelo fue realizado el análisis de la varianza. Cuando este permitió rechazar la hipótesis nula, las medias fueron separadas mediante la prueba de Tukey (P < 0,05). La regresión lineal entre dos variables fue estimada por medio del método de estimación de mínimos cuadrados (P < 0,05).

## Resultados

### Condiciones climáticas

Las condiciones climáticas previas a cada uno de los muestreos fueron diferentes entre sí (Figura 1). La precipitación acumulada en los cuatro meses previos a cada muestreo fue mayor al promedio del período 2000-2010 en Primavera2009, Otoño2010, y Otoño2012, indicando mayores condiciones de humedad tanto en el suelo como en el rastrojo.

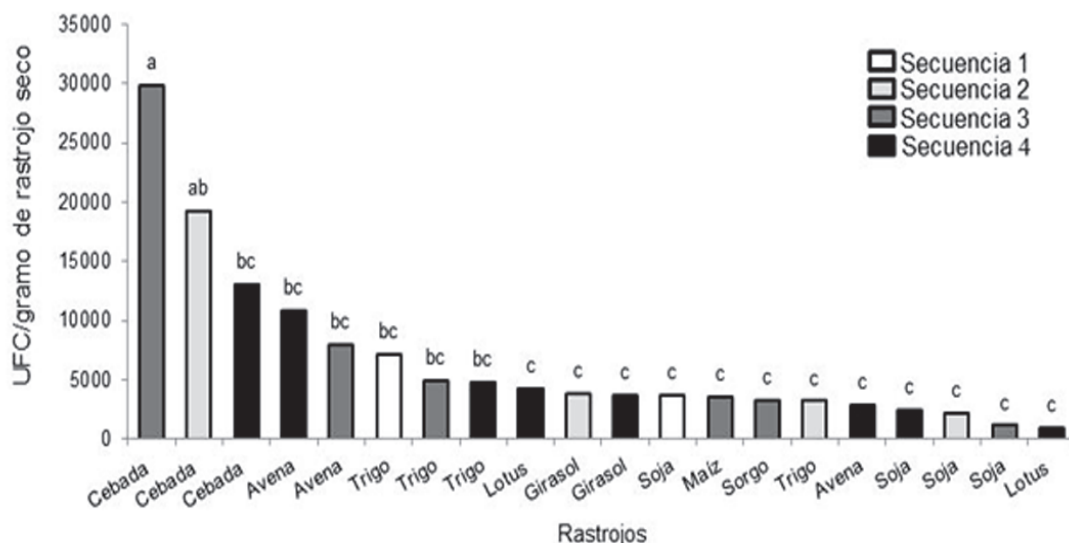


**Figura 1.** Temperatura y lluvias en los años 2009, 2010, 2011 y 2012, y temperatura y lluvias promedio del período 2000-2010, cuatro meses antes del muestreo según mes durante los años de evaluación.

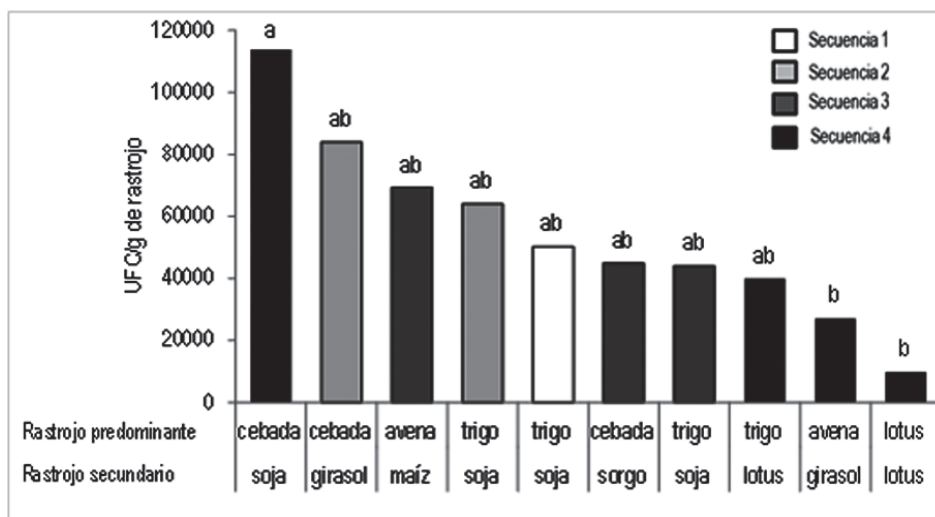
En comparación a estos, en los meses previos al muestreo de Ot2011 y Prim2011 ocurrieron menos precipitaciones acumuladas y por tanto menor humedad en suelo y rastrojo. El período previo al muestreo Prim2010 fue en donde se registró menor cantidad de precipitaciones acumuladas. Las temperaturas fueron similares al promedio histórico en los períodos anteriores a los seis muestreos. La temperatura media diaria fue en aumento en los muestreos de primavera, (20-22 °C en los meses del muestreo), y decreciente en los muestreos de otoño (15-18 °C al momento de los muestreos).

### Población de *Trichoderma* spp. en el rastrojo de cada cultivo

*Trichoderma* spp. fue recuperada de todos los rastrojos de los cultivos analizados. La cebada fue el componente botánico que presentó significativamente mayor población de *Trichoderma* spp. ( $P < 0,05$ ). No obstante, se encontraron diferencias significativas en la densidad poblacional entre los rastrojos de cebada pertenecientes a distintas secuencias de cultivos (Figura 2). Por otra parte, los rastrojos de avena y trigo (a excepción del rastrojo de



**Figura 2.** Densidad poblacional de *Trichoderma* spp. en el rastrojo de cada cultivo según la secuencia. Barras con distinta letra representan medias que difieren significativamente entre sí ( $P < 0,05$ ).



**Figura 3.** Densidad poblacional de *Trichoderma* spp. en los rastrojos de cada rotación según secuencia en otoño de 2010. Barras con distinta letra representan medias que difieren significativamente entre sí ( $P < 0,05$ ).

trigo y avena de la secuencia 2 y 4, respectivamente), presentaron niveles poblacionales intermedios entre los rastros de cebada y de los cultivos de verano. Estos últimos, junto con el rastrojo aportado por las praderas de lotus, presentaron una menor población de *Trichoderma* spp.

### Población de *Trichoderma* spp. en el rastrojo y en el suelo de cada secuencia de cultivos

Se encontraron diferencias significativas entre las secuencias en el Ot2010, tanto para la población en el suelo como en el rastrojo. En los demás muestreos no se observaron diferencias significativas entre las secuencias (datos no mostrados). Al analizar la población de *Trichoderma* en el rastrojo total (todo el rastrojo presente en superficie), la secuencia con predominancia de rastrojo de cebada en Ot2010 presentó significativamente mayor población que el resto de las secuencias (Figura 3).

A su vez en Ot2011 hubo diferencias significativas entre los distintos tratamientos respecto a la población de *Trichoderma* spp. en el suelo (Cuadro 1). Allí la den-

sidad poblacional del hongo fue significativamente mayor en la rotación 9 en relación a las rotaciones 7 y 8 (las tres rotaciones corresponden a la misma secuencia de cultivos), ubicándose el resto de los tratamientos en una posición intermedia. Asimismo la densidad poblacional de *Trichoderma* spp. en el rastrojo en Ot2010 tuvo una correlación significativa con la densidad poblacional en el suelo cuantificada en Ot2011 ( $R^2 = 0,47$ , estadísticamente significativo con  $P < 0,05$ ) (Figura 4).

### Relación entre las propiedades químicas del suelo y la población de *Trichoderma* spp. en el suelo

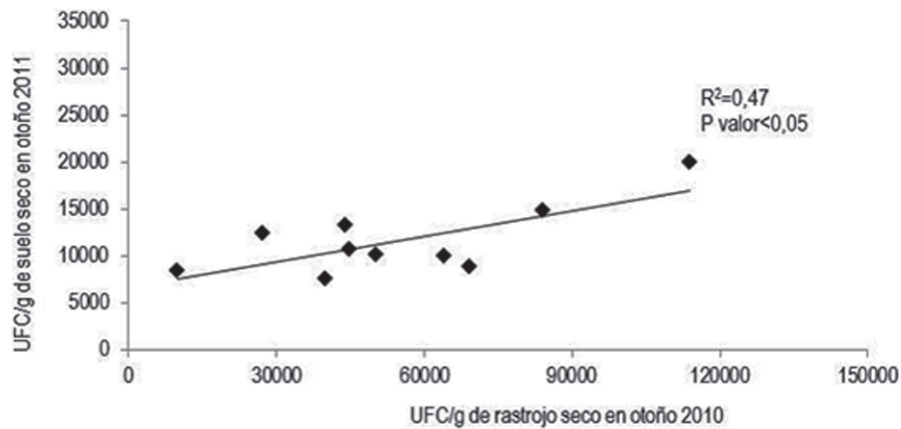
El contenido de materia orgánica promedio fue de 5,2 %, el de fósforo 44,2 ppm, el pH del suelo 6,1, el contenido de nitrógeno promedio 0,22 %, el de potasio 0,78 meq/100g de suelo y la relación carbono/nitrógeno del suelo fue en promedio 13,7. Las distintas rotaciones de cultivos no tuvieron efecto significativo sobre las propiedades químicas mencionadas (ANOVA no significativo con  $P < 0,05$ ). No hubo correlación significativa entre las poblaciones de *Trichoderma* spp. en el suelo y las propiedades químicas del mismo (Figura 5).

**Cuadro 1.** Densidad poblacional de *Trichoderma* spp. en el suelo (UFC/g) según secuencia y rotación de cultivos en el otoño 2011.

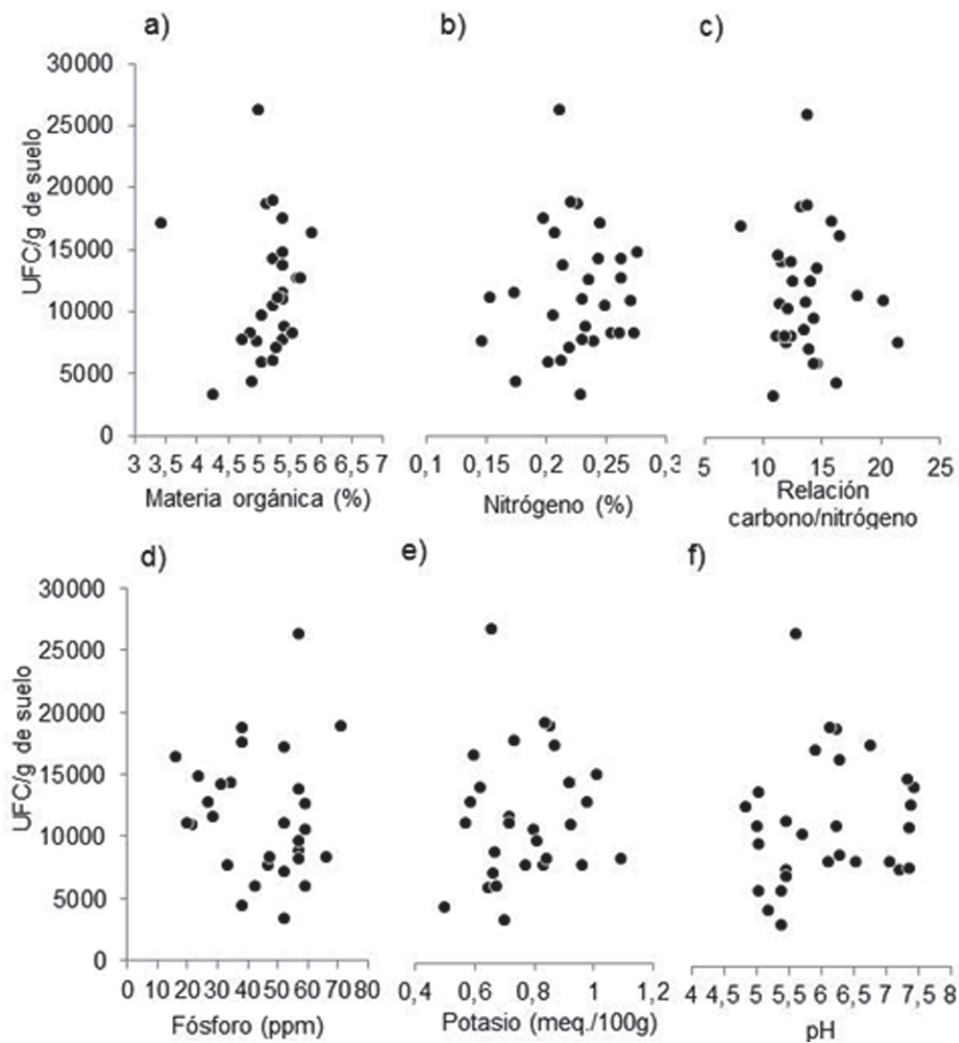
Secuencia	Rotación	Antecesor <sup>1</sup>	Otoño 2011	
			Cultivo al momento del muestreo	UFC/g <sup>2</sup>
1	1	tr/sj/tr	Soja	10183 ab
2	2	ce/gi/tr	Soja	14738 ab
	3	tr/sj/ce	Girasol	9897 ab
3	4	av/mz/tr	Soja	8838 ab
	5	tr/sj/ce	Sorgo	13212 ab
	6	ce/so/av	Maíz	10688 ab
4	7	lo/lo/tr	Soja	8293 b
	8	lo/sj/ce	Girasol	7527 b
	9	ce/gi/av	Lotus 1 <sup>a</sup> año	19978 a
	10	av/lo/lo	Lotus 2 <sup>a</sup> año	12314 ab

<sup>1</sup>Cultivo en primavera 2009 / cultivo en otoño 2010 / cultivo en primavera 2010. Referencias: sj: soja, gi: girasol, mz: maíz, so: sorgo, tr: trigo, ce: cebada, av: avena, lo: lotus

<sup>2</sup>Valores con letras diferentes difieren significativamente entre filas ( $P < 0,05$ )



**Figura 4.** Densidad poblacional de *Trichoderma* spp. en el suelo en el otoño 2011 en función de la densidad poblacional en el rastrojo en el otoño 2010.



**Figura 5.** Densidad poblacional de *Trichoderma* spp. en el suelo en el otoño 2011 en función del contenido de a) MO, b) % N, c) C/N, d) P, e) K, y f) pH del suelo.

## Discusión

Los diferentes cultivos evaluados tuvieron un impacto diferencial sobre la densidad poblacional de *Trichoderma* spp. presente tanto en el suelo como en el rastrojo, donde el rastrojo de cebada, presentó consistentemente una mayor población *Trichoderma* spp. respecto a otros cultivos. Esto determina la posibilidad de manejar la población de *Trichoderma* spp. a través de los componentes de las secuencias de cultivos, y a su vez identificar ambientes propicios para el mantenimiento de altas poblaciones de *Trichoderma* ante eventuales inoculaciones inundativas con este agente de biocontrol.

Estos resultados coinciden con los mencionados por numerosos autores respecto a la posibilidad de manejar comunidades microbianas benéficas del suelo para el control de enfermedades<sup>(12)(14)(15)(16)(17)</sup>. El aumento poblacional logrado con el cultivo de cebada coincide con estudios realizados *in-vitro* donde se ha encontrado mayor densidad poblacional y actividad de *Trichoderma* favorecidas por la presencia de sustratos con relación carbono/nitrógeno similar a la de los rastrojos de cebada, avena y trigo (tan altas como 80/1)<sup>(24)</sup>. Asimismo, investigaciones a partir de muestras colectadas de sistemas agrícolas muestran que el rastrojo de cebada presentó mayores niveles de colonización de *Trichoderma* spp. que otros cultivos extensivos, inclusive que otros cultivos de invierno como raigrás y trigo<sup>(25)</sup>.

Las diferencias encontradas en la densidad poblacional de *Trichoderma* spp. en el rastrojo de cebada correspondiente a distintas secuencias, indican que existió también un efecto de la secuencia de cultivos más allá del efecto directo de la cebada. Al respecto, Pereyra y otros<sup>(25)</sup> encontraron que el rastrojo de cebada colectado de sistemas en agricultura continua presentaba mayor densidad poblacional de *Trichoderma* spp. que el colectado en sistemas agrícolas en rotación con praderas. Estas diferencias generadas por los cultivos antecesores posiblemente están definidas por la población inicial de *Trichoderma* spp. en el momento en que el rastrojo de cebada es incorporado al sistema (luego de la cosecha), siendo menor la población en el rastrojo de cebada de la secuencia que rota con pasturas (secuencia 4 del experimento), probablemente debido al efecto depresivo que mostró la pradera de Lotus sobre la población del hongo, tanto en suelo como en rastrojo.

La preferencia de las poblaciones de *Trichoderma* spp. por los rastrojos de los cultivos de invierno evidenciadas en este estudio (principalmente cebada), determina que la población será más abundante en la medida que aumente la cantidad de ese tipo de rastrojos en la secuencia de cultivos. Esto es así principalmente en los meses de otoño, cuando es mayor su presencia relativa en el conjunto de rastrojos y las condiciones ambientales son más favorables para el crecimiento de *Trichoderma* en relación a las de verano e invierno debido a las altas y bajas temperaturas, respectivamente, registradas en esas estaciones. En relación a esto Cabrera<sup>(13)</sup> muestra que el rango de temperatura óptimo para cepas nativas de *Trichoderma* se ubica en los rangos de temperaturas registrados en los meses de primavera y otoño en Uruguay.

Por otra parte, las poblaciones de *Trichoderma* spp. en el suelo tuvieron una respuesta significativa a los tratamientos. Varios autores han demostrado que las densidades poblacionales de *Trichoderma* spp. en el suelo responden a distintas prácticas de manejo, inclusive a la rotación de cultivos<sup>(15)(17)(18)</sup>. Vargas Gil y otros<sup>(18)</sup> encontraron mayor población de *Trichoderma* spp. luego del cultivo de maíz en comparación con soja y maní. Estos autores adjudicaron el incremento de la población del hongo al aumento en el contenido de materia orgánica del suelo por la inclusión de gramíneas C4 en la rotación. Estos resultados difieren de los obtenidos en el presente estudio, donde el contenido de materia orgánica del suelo no se vio modificado por las distintas rotaciones de cultivos. A su vez, tampoco se encontró efecto de la rotación sobre las demás propiedades químicas de los suelos evaluadas, lo cual posiblemente haya determinado que no se encontraran asociaciones entre ellas y la población de *Trichoderma* spp., como ya se ha descrito en varios estudios<sup>(18)(26)</sup>.

No obstante, se constató una regresión lineal significativa entre la densidad poblacional de *Trichoderma* spp. en el rastrojo en Ot2010 y su nivel poblacional en el suelo en Ot2011. Esto significaría que en las condiciones de este estudio una parte de la variabilidad de la densidad poblacional de *Trichoderma* spp. en el suelo estuvo asociada al nivel poblacional en el rastrojo de los cultivos de la secuencia. Estos resultados resaltan el impacto directo de los cultivos como fuente de carbono sobre la población de *Trichoderma* spp. en el suelo más allá de su efecto sobre las propiedades químicas del suelo.

Sin embargo, en condiciones de sustrato no limitante, la temperatura y la humedad gobiernan el crecimiento de



los hongos<sup>(27)</sup>. Debido a que la evolución de la temperatura y las lluvias ocurridas fueron diferentes a lo largo del período de estudio, es altamente probable que haya existido un efecto diferencial de esta variable sobre la población de *Trichoderma* spp. en las distintas estaciones. Futuros trabajos deberían apuntar a evaluar el efecto de las condiciones ambientales (micro y macro-climáticas) a nivel de campo sobre la población de *Trichoderma* spp., ya que existe muy poca información al respecto.

Estos resultados permiten identificar ambientes favorables para *Trichoderma* spp. que resultan en mayores poblaciones nativas del hongo. En este sentido, la composición botánica del rastrojo es un factor a tener en cuenta para el manejo de la población de *Trichoderma* spp. En el marco de una estrategia inoculativa con cepas nativas de *Trichoderma*, los resultados obtenidos evidencian que, en otoño y con predominancia de rastrojo de cebada, hay mayores probabilidades de mantener altos niveles poblacionales de *Trichoderma* spp. Este enfoque ha permitido obtener resultados más consistentes y duraderos en relación al manejo tradicional de las inoculaciones<sup>(28)(29)</sup>. Se sostiene la premisa que el problema no es la falta de microorganismos antagonistas sino la falta de un ambiente que mantenga elevadas sus densidades poblacionales y actividades relacionadas al control biológico<sup>(18)</sup>. Esta línea de investigación constituye un insumo clave para futuros trabajos que busquen reducir el efecto de las enfermedades en la producción de cultivos, a través del manejo de las poblaciones de *Trichoderma*, incluyendo inoculaciones a nivel de campo.

## Contribución de los autores

Todos los autores contribuyeron de igual forma al contenido.

## Bibliografía

- 1) Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, DIEA (UY). Encuesta Agrícola Primavera 2016 [Internet]. Montevideo: MGAP; 2016 [cited 2019 Mar 06]. 28 p. Available from: [http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/publicacion\\_primavera2016.pdf](http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/publicacion_primavera2016.pdf).
- 2) Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, DIEA (UY). Siembra Directa: Su aplicación en el área de cultivos de secano: Año agrícola 2000/01 [Internet]. Montevideo: MGAP; 2011 [cited 2019 Mar 06]. 21 p. Available from: [http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/siembra\\_directa\\_su\\_aplicacion\\_en\\_el\\_area\\_de\\_cultivos\\_de\\_secano\\_-\\_ano\\_agricola\\_20002001\\_-\\_abril\\_2001.pdf](http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/siembra_directa_su_aplicacion_en_el_area_de_cultivos_de_secano_-_ano_agricola_20002001_-_abril_2001.pdf).
- 3) Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, DGSA (UY). Importaciones de Productos Fitosanitarios 2015 [Internet]. Montevideo: MGAP; 2015 [cited 2019 Mar 06]. [about 6 p.] Available from: <http://www2.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,dgsa,dgsa-servicios-datos-estadisticos-de-importaciones,O,es,0,>.
- 4) Pérez CA, Hoffman E, Viega L, Villar HA, Ernst O. Manejo de enfermedades en sistemas agrícolas: Mitos y realidades. In: Ribeiro A, editor. II Simposio Nacional de Agricultura; 2011 Set 29-30; Paysandú, Uruguay. [place unknown]: [publisher unknown]; 2011. p. 119-31.
- 5) Pereyra S, Garmendia G, Cabrera M, Vero S, Pianzola M, Dill-Macky R. Control biológico de la fusariosis de la espiga de trigo y cebada. *Agrociencia Uruguay*. 2005;9:337-43.
- 6) Stocco M, Mónaco C, Abramoff C, Lampugnani G, Salerno G, Kripez N, Cordo C, Consolo V. Selection and characterization of Argentine isolates of *Trichoderma harzianum* for effective biocontrol of Septoria leaf blotch of wheat. *World J Microbiol Biotechnol*. 2016;32(3):49.
- 7) Perelló A, Moreno M, Mónaco C, Simón M, Cordo C. Biological control of *Septoria tritici* blotch on wheat by *Trichoderma* spp. under field conditions in Argentina. *BioControl*. 2009;54:113-22.
- 8) Perelló A, Moreno V, Mónaco C, Simón MR. Effect of *Trichoderma* spp. isolates for biological control of tan spot of wheat caused *Phyrenophora tritici-repentis* under field conditions in Argentina. *Biol Control*. 2008;53:895-904.
- 9) Salehpour M, Etebarian H, Roustaei A, Khodakaramian G, Aminian H. Biological Control of Common Root Rot of Wheat (*Bipolaris sorokiniana*) by *Trichoderma* Isolates. *Plant Pathol J*. 2005;4(1):85-90.
- 10) Bujold I, Paulits T, Carisse O. Effect of *Microsphaeropsis* sp. on the production of perithecia and ascospores of *Giberella zeae*. *Plant Dis*. 2001;85:977-84.
- 11) Hoitink H, Boehm M. Biocontrol within the context of soil microbial communities: A substrate-dependent phenomenon. *Annu Rev Phytopathol*. 1999;37:427-46.
- 12) Kinkel L, Bakker M, Shlatter D. A Coevolutionary Framework for Managing. *Annu Rev Phytopathol*. 2011;49:47-67.
- 13) Cabrera M. Control biológico de la fusariosis del trigo [master's thesis]. Montevideo, Uruguay: Universidad de la República, Facultad de Ciencias; 2009. 90 p.
- 14) Pérez CA, Dill-Macky R, Kinkel L. Management of soil microbial communities to enhance populations of *Fusarium graminearum*-antagonists in soil. *Plant Soil*. 2008;302:53-69.
- 15) Ahmad E, Chantal H, Yantai G. Cropping practices impact fungal endophytes and pathogens in durum wheat roots. *Appl Soil Ecol*. 2016;100:104-11.
- 16) Hagn A, Pritsch K, Schloter M, Munch, C. Fungal diversity in agricultural soil under different farming management systems, with special reference to biocontrol strains of *Trichoderma* spp. *Biol Fertil Soils*. 2003;38:236-44.
- 17) Bulluck L, Brosius M, Evanylo G, Ristaino J. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Appl Soil Ecol*. 2002;19:147-60.

- 18) Vargas Gil S, Meriles JM, Haro R, Casini C, March GJ. Crop rotation and tillage systems as a proactive strategy in the control of peanut fungal soilborne diseases. *BioControl*. 2008;53:685-98.
- 19) Vargas Gil S, Pastor S, March GJ. Quantitative isolation of biocontrol agents *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp. and actinomycetes from soil with culture media. *Microbiol Res*. 2009;164:196-205.
- 20) Williams J, Clarkson JM, Mills PR, Cooper RM. A Selective Medium for Quantitative Reisolation of *Trichoderma harzianum* from *Agaricus bisporus* Compost. *Appl Environ Microbiol*. 2003;69(7):4190-1.
- 21) Walkley A, Black IA. An examination of the Degtjareff method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Sci Soc Am J*. 1934;63:251-63.
- 22) Bray RH, Kurtz LT. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci*. 1945;59:39-45.
- 23) SAS [Internet]. Version 8.2. Cary (NC): SAS Institute Inc; 2003 [cited 2019 Mar 06]. Available from: <https://support.sas.com/downloads/package.htm?pid=278>.
- 24) Gao L, Sun MH, Liu XZ, Che YS. Effect of carbon concentration and carbon to nitrogen ratio on the growth and sporulation of several biocontrol fungi. *Mycol Res*. 2007;111:87-92.
- 25) Pereyra S, Ríos A, Zerbino S. Efecto de la secuencia de cultivos sobre la dinámica de los patógenos de trigo y cebada dependientes del rastrojo y comunidades benéficas en agricultura de secano en siembra directa. In: *Uso de la biodiversidad para la evaluación del impacto de la intensificación agrícola y el diseño de agroecosistemas sustentables*. Montevideo: INIA; 2012. (Actividades de Difusión; 674). p. 101-5.
- 26) Chavez M. Producción de *Trichoderma* sp. y evaluación de su efecto en cultivo de Crisantemo (*Dendranthema grandiflora*) [grade's thesis]. Bogotá, Colombia: Facultad de Ciencias; 2006. 113 p.
- 27) Moore-Landecker E. *Fundamentals of the fungi*. New Jersey: Prentis Hall; 1996. 574 p.
- 28) Berg G, Zachow C, Lottman J, Gotz M, Costa R, Smalla K. Impact of plant species and site on rhizosphere-associated fungi antagonist to *Verticillium dahliae* Kleb. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71:4203-13.
- 29) Wiggins B, Kinkel L. Green manures and crop sequences influence alfalfa root rot and pathogen inhibitory activity among soil-borne streptomycetes. *Phytopathology*. 2005;95:178-85.