

Efecto del biocarbón enriquecido con *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre el desarrollo de *Solanum lycopersicum* (L.) y parasitismo por *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood



<https://cu-id.com/2247/v38e23>

Effect of biochar enriched with *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg on growth of *Solanum lycopersicum* (L.) and parasitism by *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood

Danay Ynfante Martínez*, Daine Hernández Ochandía, Roberto Enrique Regalado, Rolisbel Alfonso de La Cruz, Jersys Arévalo Ortega, Belkis Peteira Delgado, Mayra G. Rodríguez Hernández

Grupo de Fitopatología, Dirección de Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Censa. Carretera de Jamaica y Autopista Nacional, AP 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: El trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto combinado de cinco biocarbones y *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg, sobre el desarrollo de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y el parasitismo de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood, en condiciones semicontroladas. Los biocarbones se produjeron mediante la tecnología Kon-Tiki. Los sustratos se prepararon de manera independiente, conteniendo: suelo ferralítico rojo: abono orgánico (estiércol vacuno): biocarbón en proporción 2:1:1 (p/p/p). Para el ensayo se utilizaron bandejas multiceldas de 60 alvéolos, con 65 g de sustrato. Los cinco tipos de biocarbones se inocularon con una suspensión de *T. asperellum* (cepa Ta.13) al momento de la siembra (concentración de 1×10^7 conidios.ml⁻¹) a razón de 5 ml por alveolo y se incluyeron controles de cada biocarbón sin inocular; las bandejas se distribuyeron aleatoriamente. Transcurridos 30 días, se evaluó en las plantas la longitud de la parte aérea y radical, número de hojas, diámetro del tallo, masa fresca aérea y radical; además, presencia de *Trichoderma* en suelo y raíz. Para el estudio en condiciones semicontroladas, se trasplantaron cinco plántulas con biocarbón seleccionado+*Trichoderma*) y los controles correspondientes, hacia macetas de cinco kg de sustrato estéril (suelo: estiércol vacuno 1:1 p/p) inoculadas, previamente, con 500 juveniles (J₂) de una población pura de *M. incognita* y se mantuvieron en los aisladores por 60 días. Seguidamente, se evaluaron los parámetros anteriores y el índice de agallamiento. La mezcla del biocarbón de arroz con *Trichoderma*, constituye un sustrato óptimo para la producción de plántulas de tomate; con efecto positivo sobre los parámetros agronómicos. Después de trasplantadas a macetas con *M. incognita*, en las plantas de este tratamiento se observó una disminución del índice de agallamiento provocado por el nematodo, con diferencias estadísticas respecto al testigo.

Palabras clave: Biocarbón, control biológico, nematodos agalleros, *Trichoderma*, tomate.

ABSTRACT : The objective of the work was to evaluate the combined effect of five biochars and *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg, on stimulation of tomato seedlings and their action on *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood under semi-controlled conditions. The biochars were produced using Kon-Tiki technology. The substrates, containing: red ferralitic soil: organic fertilizer (cow manure): biochar at a 2:1:1 (w/w/w) ratio, were prepared independently. For the trial, 60-cell rooting ball trays, with 65 g of substrate each, were used. At sowing, the biochars were inoculated with a suspension of *T. asperellum* (Ta.13) (1×10^7 conidia.ml⁻¹) at a rate of 5 ml per cell. Uninoculated controls were included for each biochar. The trays were randomly distributed. After 30 days, the following parameters were evaluated: length of plant aerial part and root, number of leaves, stem diameter, fresh weight of aerial part and root; the presence of *Trichoderma* in soil and root was also examined. For the study under semi-controlled conditions, five seedlings were transplanted with selected biochar+*Trichoderma*), and the corresponding controls, into pots containing five kg of sterile substrate (soil: cow manure, 1:1 w/w) previously inoculated with 500 juveniles (J₂) from a pure population of *M. incognita* and left for 60 days. Finally, the above mentioned parameters and the galling index were evaluated. The mixture of rice biochar and *Trichoderma* was an optimal substrate with positive effects on the agronomic parameters of tomato seedlings. Compared with the control, it showed a significant reduction of the galling index in pots.

Keywords: Biochar, root knot nematode, *Trichoderma*, Tomato.

*Correspondencia a: Danay Ynfante Martínez. E-mail: danayinfante33@gmail.com

Recibido: 31/10/2023

Aceptado: 17/11/2023

INTRODUCCIÓN

Los nematodos formadores de agallas, entre ellos, los de la especie *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood, representan una de las principales plagas del cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Se encuentran ampliamente distribuidos y llegan a provocar pérdidas que oscilan entre 20-33 % a nivel mundial (1). En Cuba, se reconoce que *Meloidogyne* spp. representan plagas económicamente importantes para el tomate en las instalaciones de producción protegida (2) y también en el cultivo que se desarrolla a campo abierto.

Diversas cepas de *Trichoderma* spp. se utilizan con éxito en el manejo de nematodos agalleros. Son capaces de reducir el daño causado por los nematodos parásitos de las plantas, directamente por parasitismo, antibiosis, parálisis y por la producción de enzimas líticas. También, proporcionan más nutrientes y mejoran la absorción de agua por la planta, modificando la morfología de la raíz y/o las interacciones en la rizosfera, lo que constituye una ventaja para el crecimiento de la planta. Además, pueden inducir resistencia contra los nematodos, activando hormonas mediadoras de mecanismos de defensa de las plantas (ácido salicílico y jasmónico, estrigolactonas, entre otros) (3,4).

Además de las plagas, la composición del suelo también puede influir de manera negativa en los rendimientos del tomate. De ahí, la necesidad de mejorar sus propiedades, incorporando enmiendas. Algunos estudios señalaron que el uso del biocarbón, como enmienda, mejora la salud del suelo mediante la retención de agua y nutrientes (5,6) poniéndolos a disposición de las plantas. También, induce cambios morfofisiológicos y metabólicos (debido al alto contenido de carbono) en las plantas y mejora las interacciones que estas establecen con los microorganismos del suelo. Por ejemplo, la incorporación del biocarbón combinado con *Trichoderma* al suelo, fue eficaz para el manejo de diferentes plagas (7).

El laboratorio de Micología Vegetal del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) dispone de un grupo de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg, identificadas y ca-

racterizadas morfo-fisiológica, patogénica y molecularmente (8) que se destacan por su acción biorreguladora sobre diversos hongos fitopatógenos (9). Sin embargo, se desconoce el posible efecto del uso combinado cepas cubanas de *T. asperellum* con biocarbo-nes en el desarrollo del tomate y el parasitismo de *M. incognita*.

Por tal motivo, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de diversos biocarbo-nes enriquecidos con una cepa de *T. asperellum* sobre los indicadores del crecimiento del cultivar de tomate 'Elbita' y el índice de agallamiento por *M. incognita*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en una casa de vegetación del CENSA (22°59'29.1"N 82°09'12.3"W) a temperatura de 25°C±2°C, humedad relativa entre el 80-85 % y fotoperiodo natural. En el ensayo, se utilizaron bandejas de 60 alvéolos, con capacidad para 65 gramos de sustrato y que contenían una mezcla de biocarbón (cinco tipos): suelo ferralítico rojo: abono orgánico (estiércol vacuno): en proporción 2:1:1 (p/p/p), estos dos últimos componentes, esterilizados en autoclave (30 min, 120°C, dos veces consecutivas, cada 24 h). En ambos ensayos, en condiciones semicontroladas, el riego se realizó diariamente con agua potable, y se hizo seguimiento relativo al estado sanitario de las plantas.

Efecto de diferentes biocarbo-nes y *T. asperellum* cepa *Ta.13* en el desarrollo de plántulas de tomate

En este ensayo, se evaluaron cinco biocarbo-nes procedentes de diferentes biomásas, cuyo tratamiento fue diferente. (Tabla 1)

La cepa de *T. asperellum* *Ta.13*, proveniente del Laboratorio de Micología Vegetal (LMV) del CENSA, se sembró previamente en placas Petri de 9 cm de diámetro (Ø) contentivas de Agar Malta (AM) (Bio-Cen) e incubadas a una temperatura de 28°C±2°C y régimen de oscuridad constante. Los sustratos, en los tratamientos donde se combinaron con el hongo control biológico, se mezclaron al momento de la siembra

Tabla 1. Fuente vegetal de los tipos de biocarbón utilizados en el ensayo/ Plant source of the different tested biochar types

Biocarbón	Biomasa	Forma de obtención (referencia)/	Lugar donde se obtuvo
1	Ramas de leucaena (<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit.	Por pirólisis lenta, que funcionó bajo los principios del horno Kon-Tiki (10).	CENSA
2	Marabú (<i>Dichrostachys cinerea</i> Wight et Am.)		
3	Semillas de mango (<i>Mangifera indica</i> L.)		
4	Fibra de coco (<i>Cocos nucifera</i> L.),		
5	Cáscara de arroz (<i>Oryza sativa</i> L.),	Procedimiento descrito por Casanova <i>et al.</i> (11)	Finca "La Magela" Quivicán. Cuba

con una suspensión conidial de la cepa (previamente ajustada a una concentración de 10^7 conidios. ml^{-1}) a razón de 5 ml por alveolo.

Para la siembra se utilizaron semillas de *S. lycopersicum* (cv. Elbita) donadas por el Instituto de Investigaciones Hortícolas Liliana Dimitrova, y con 100 % de viabilidad. Se realizaron cinco réplicas para cada tratamiento y los controles de cada biocarbón (sin inocular con *Trichoderma* y un control absoluto: suelo ferralítico). Los tratamientos se distribuyen al azar en las bandejas.

Transcurridos 30 días después de la germinación, se extrajeron cinco plantas al azar por cada tratamiento y se les midieron los siguientes indicadores: altura de la planta (cm), diámetro del tallo (cm), número de hojas, longitud de las raíces (cm), masa fresca foliar y radicular (g). Para medir longitudes, se utilizó una regla graduada en mm. Para el diámetro de los tallos, a nivel del cuello de la raíz, se usó como instrumento un pie de rey. Para determinar la masa fresca de plantas, hojas y raíces, se utilizó una balanza técnica, calibrada y certificada por calidad, marca KERN® ($e=0,01\text{g}$). Los resultados de la evaluación de los parámetros fisiológicos de las plantas, se compararon a través de un Análisis de Varianza, y las medias se compararon mediante la Prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$) usando el programa InfoStat versión 2017 (12).

Efecto del biocarbón seleccionado y *T. asperellum* cepa *Ta.13* sobre el desarrollo del tomate y el parasitismo de *M. incognita*

En este estudio, desarrollado también en condiciones semicontroladas, se prepararon macetas que contenían cinco kg de sustrato estéril (suelo: estiércol vacuno 1:1 p/p) previamente esterilizados, como se describió anteriormente. Las mismas, se inocularon previamente con una suspensión de 500 juveniles de segundo estadio (J_2) de una población pura de *M. incognita*, obtenida siguiendo la metodología de Hussey y Barker (13). Posteriormente, se les adicionó 50 ml de una suspensión conidial de la cepa *Ta.13* previamente ajustada a 10^7 conidios. ml^{-1} . Por último, se seleccionaron, al azar, cinco plántulas de 30 días, provenientes de la variante de biocarbón y *Ta. 13*, que dio mejores resultados en el ensayo anterior, y se trasplantaron a las macetas. Se incluyeron, además, los controles correspondientes a suelo ferralítico con materia orgánica, suelo ferralítico con carboncillo, y se añadió un suelo ferralítico con nematodo). Por cada tratamiento, se establecieron cinco macetas (réplicas) las cuales se distribuyeron de manera aleatoria.

Transcurridos 60 días, se extrajeron las plantas y se evaluaron los parámetros descritos en el primer ensayo, determinando, además, número de flores, frutos por planta e índice de agallamiento, usando la escala cuantitativa de Taylor y Sasser (14). Los resultados de la evaluación de los parámetros fisiológicos de las

plantas en cada tratamiento, se compararon a través de un Análisis de Varianza y las medias se compararon mediante la Prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$) usando el programa InfoStat, versión 2017 (12).

Al finalizar cada experimento, se evaluó en suelo y raíces la colonización de la cepa *Ta.13* de *T. asperellum*, mediante el método de dilución seriada y siembra en Papa Dextrosa Agar (PDA, BioCen).

Para determinar la presencia de *Trichoderma* en suelo, se tomaron muestras de 10 g de suelo de cada réplica por tratamiento, hasta una profundidad de 15 cm, que se homogeneizaron y tamizaron. Después, se pesó un g de suelo de cada muestra, usando una balanza técnica, marca Sartorius® (precisión de 0,1 mg) el cual se suspendió en 10 ml de agua destilada estéril. A partir de esta suspensión, se realizaron diluciones seriadas (hasta 10^{-3}) incluyendo los controles. De las dos últimas diluciones, se tomaron 10 μl que se depositaron en placas Petri de 90 mm de (\varnothing) con medio PDA (BioCen) (con antibiótico-cloranfenicol $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) y se distribuyeron, de manera uniforme, por toda la superficie de la placa con ayuda de una espátula de Drigalsky, previamente flameada. Se realizaron tres réplicas por muestra e incubaron bajo oscuridad constante a $28^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, óptima para el crecimiento de *Trichoderma*. Las evaluaciones se realizaron a las 72 h, momento en el cual se cuantificaron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) del hongo en el suelo y tomaron imágenes, como evidencia gráfica con una cámara digital marca Canon®. Los datos se transformaron por $\text{Log}_{10}(x+1)$.

Para evaluar la capacidad endofítica de *Ta.13*, las muestras de raíces (tratamientos y controles) se lavaron cuidadosamente con abundante agua potable y secaron con papel de filtro Whatman No. 4. A continuación, se desinfectaron con hipoclorito de sodio (1 %) y alcohol (70 %) durante 30 s, entre cada desinfección y al final; las muestras se lavaron con tres cambios de agua destilada estéril durante tres minutos cada una. Después, las raíces se secaron (papel adsorbente estéril) se cortaron en fragmentos de 1 cm y se homogeneizaron. Por último, se seleccionaron 10 segmentos al azar y sembraron en placas Petri ($\varnothing = 90 \text{ mm}$) que contenían PDA (BioCen) (con antibiótico-cloranfenicol $0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) e incubaron en condiciones similares a las descritas anteriormente. Las determinaciones se realizaron por triplicado (tratamientos y controles). Las evaluaciones se realizaron cada 24 horas, hasta la aparición de las estructuras fúngicas del hongo. El endofitismo se determinó visualmente sobre la base de raíces con crecimiento del antagonista entre el total de fragmentos sembrados. Se tomó evidencia gráfica de la colonización endofítica, con una cámara digital marca Canon®. Los datos en porcentaje se transformaron por $\arccos \sqrt{x}$.

Los datos obtenidos en los ensayos de colonización de suelo y endofitismo en raíces de tomate, se procesaron a través de un Análisis de Varianza (ANOVA)

y las medias transformadas se compararon por LSD Fisher con un nivel de significación $p \leq 0,05$, mediante el paquete estadístico InfoStat Profesional versión 2017 (12).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de diferentes biocarbones y *T. asperellum* cepa *Ta* 13 en el desarrollo de plántulas de tomate

Al comparar las plantas que crecieron donde no se aplicó *T. asperellum* (biocarbones controles) con las desarrolladas en los sustratos que tenían biocarbón + *T. asperellum*, se observaron diferencias significativas en los indicadores relacionados con el desarrollo de las plántulas, excepto en el diámetro del tallo, donde los valores fueron semejantes. (Tabla 2)

Las plantas con mayor altura fueron las de la variante cuyo sustrato tenía carboncillo, marcándose diferencias significativas respecto al resto de los tratamientos. No obstante, los tratamientos de carboncillo de mango y Leucaena, así como el de arroz con *Trichoderma*, también, mostraron valores elevados para este parámetro, similares entre sí y diferentes, estadísticamente, del resto.

La longitud de la raíz se benefició en las variantes que tenían mango en sus sustratos, tanto solo, como mezclado con *Trichoderma*. Por su parte, el diámetro del tallo fue mayor en el control absoluto sin diferencias significativas con el sustrato que contenía mango solamente y también, mezclado con *Trichoderma*, así como en la variante de coco combinado con *Trichoderma*. El mayor número de hojas, se produjo

en las plantas no tratadas (control absoluto) sin diferir, estadísticamente, con las crecidas en los sustratos de carboncillo de arroz mezclado con *Trichoderma*. Con relación a la masa fresca aérea y radicular, los mejores valores se obtuvieron en los tratamientos control absoluto y el biocarbon de arroz, combinado con *T. asperellum*, sin diferencias estadísticas entre ellos. (Tabla 2)

De forma general, el carboncillo obtenido de paja de arroz ofrece los mejores resultados para la obtención de posturas de tomate con mejor calidad. Rodríguez *et al.* (15) encontraron que la aplicación de carboncillo de arroz favoreció el desarrollo de la lechuga (*Lactuca sativa* L.) en la fase de plántula y la producción de tomate en casa de cultivo. Xiang *et al.* (16) a través de un meta-análisis a partir de resultados de 136 artículos científicos, donde se evaluaron las respuestas de las características de la raíz, asociadas con 13 variables bajo condiciones de aplicación de biochar, constataron que la aplicación al suelo de biochar benefició el desarrollo morfológico de la raíz; lo cual reduce las deficiencias en la absorción de nutrientes y agua por parte de la planta. Otras investigaciones, demostraron la gran importancia del biochar enriquecido con fertilizantes, compost y productos biológicos, para lograr la productividad de los cultivos y activar el sistema defensivo de las plantas frente a las plagas (17).

Entre los agentes de control biológico más estudiados y evaluados con efectos antagonísticos de amplio espectro, se encuentra *Trichoderma* spp. Estos son conocidos por su elevada capacidad reproductiva, plasticidad ecológica (sobrevive en diferentes pH y

Tabla 2. Efecto de diferentes biocarbones, solos y combinados con *T. asperellum*, sobre los indicadores del crecimiento y desarrollo del tomate cv. 'Elbita' a los 30 días del trasplante / Effect of biochar enriched with *T. asperellum* on growth and development indicators in tomato cv. 'Elbita'.

	Tratamientos	Altura de la planta (cm)	Long. de raíz (cm)	Diám del tallo (cm)	No. de hojas	Masa fresca aérea (g)	Masa fresca raíz (g)
Control sin <i>Trichoderma</i>	Control abs.	19,45±1,3 cd	6,93±1,11 ab	0,34±0,02 ab	6,33±0,21 d	3,64±0,16 d	0,51±0,04 de
	Arroz	22,67±0,57 e	7,25±0,46 ab	0,33±0,02 a	6,00±0,45 bcd	3,28±0,07 d	0,42±0,03 bcd
	Leucaena	18,33±1,08 bcd	6,92±0,63 ab	0,26±0,02 a	6,00±0,26 bcd	2,35±0,23 b	0,28±0,04 ab
	Mango	19,98±0,95 d	9,57±0,66 bc	0,66±0,37 b	5,50±0,22 abc	2,56±0,08 bc	0,43±0,05 bcde
	Coco	12,25±0,31 a	7,52±0,72 abc	0,26±0,02 a	5,50±0,34 abc	1,67±0,1 a	0,25±0,04 a
<i>T. asperellum</i> (Ta.13)	Marabú	12,98±0,91 a	7,62±0,84 abc	0,26±0,02 a	5,33±0,33 ab	1,76±0,09 a	0,34±0,05 abc
	Arroz+Tr	18,12±0,86 bcd	8,68±0,64 abc	0,28±0,02 a	6,50±0,22 d	2,81±0,12 c	0,49±0,06 cde
	Leucaena+Tr	13,72±0,63 a	6,92±2,7 c	0,23±0,01 a	5,17±0,17 a	1,58±0,07 a	0,35±0,01 abc
	Man-go+Tr	17,38±0,65 bc	9,35±0,96 bc	0,27±0,02 a	6,17±0,31 cd	2,34±0,18 b	0,57±0,13 e
	Coco+Tr	16,92±0,69 b	6,18±0,43 a	0,28±0,02 a	6,00±0,26 bcd	2,59±0,05 bc	0,34±0,03 abc
	Mara-bú+Tr	13,3±0,4 a	8,97±0,56 abc	0,3±0,02 a	5,50±0,22 abc	1,85±0,17 a	0,4±0,02 bcd

Medias de tratamientos con diferentes letras en una misma columna difieren significativamente, según la prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$)

temperaturas) y por actuar a través de mecanismos directos e indirectos, que proporcionan a la planta mejor adaptabilidad en el medio y resistencia a diferentes patógenos (18). La aplicación de *Trichoderma*, en etapas tempranas del crecimiento del cultivo, permite maximizar sus beneficios en términos de desarrollo de la raíz y la absorción de nutrientes. Hermosa *et al.* (19) declararon que la proteína QID74 de la pared celular de *Trichoderma harzianum* Rifai, rica en cisteína, se involucró en la modificación de la arquitectura de la raíz, al aumentar la superficie de absorción total, facilitar la absorción y la translocación de nutrientes en los brotes, lo que resulta en un incremento de la biomasa de las plantas a través de un uso eficiente de nitrógeno, fósforo, potasio y micronutrientes.

Existe escasa información relacionada con el uso de biochar combinado con agentes de control biológico microbianos. Sin embargo, Muter *et al.* (20) encontraron un incremento significativo en la germinación de las semillas y el crecimiento del maíz (*Zea mays* L.).

En todos los tratamientos, 30 días posteriores a la germinación, se evidenció la colonización del sustrato por parte de *T. asperellum* cepa Ta.13, indicativo de que los biocarbones no interfirieron en el establecimiento del hongo en el sustrato. (Fig. 1). *Trichoderma* es un hongo metabólicamente versátil, capaz de utili-

zar una amplia gama de sustratos (como fuentes de carbono y nitrógeno) debido a la gran producción de enzimas extracelulares que degradan polímeros como celulosa, quitina, laminarina, pectina, almidón y xilano (21) características que pudieran permitirle una colonización rápida y, en ocasiones, agresiva de diferentes sustratos e incluso, de otros hongos. El 100 % de los fragmentos de raíces sembrados, pertenecientes a los diferentes tratamientos, también mostró crecimiento del hongo.

Efecto del carboncillo y *T. asperellum* cepa Ta.13 sobre el desarrollo del tomate y el parasitismo de *M. incognita*

Las plantas transplantadas de los cepellones donde se aplicó carboncillo de arroz + *T. asperellum* cepa-13, y crecidas en las macetas inoculadas previamente con *T. asperellum* cepa Ta.13 y nematodos, mostraron los mejores valores en todos los parámetros evaluados, con diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, excepto, en las variables longitud de raíces y número de frutos, las cuales no difieren con los valores mostrados en las plantas crecidas solo con carboncillo de arroz. (Tabla 3)

Muchos estudios realizados con *Trichoderma* spp. se enfocan específicamente, en su potencial biológico

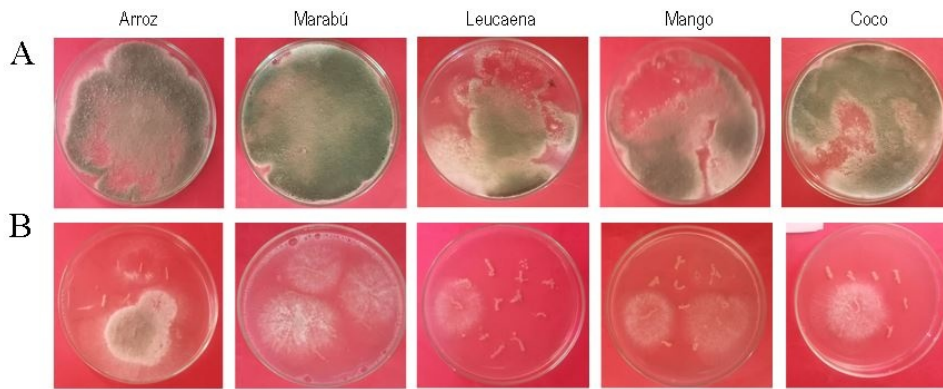


Figura 1. Colonización de *Trichoderma* cepa Ta.13 en los tratamientos con diferentes biocarbones. **A:** Colonización del sustrato, **B:** Colonización endofítica de raíces de tomate cv. 'Elbita' / *Trichoderma* strain Ta.13 colonization in different biochars treatments. **A:** Substrate colonization, **B:** Endophytic colonization of cv. 'Elbita' tomato roots.

Tabla 3. Efecto del biochar de arroz enriquecido con *T. asperellum* (cepa Ta.13) sobre los parámetros de desarrollo de plantas de tomate cv. 'Elbita' inoculadas con *M. incognita* / Effect of biochar enriched with *T. asperellum* on agrotechnical parameters of tomato plants cv. 'Elbita' inoculated with *M. incognita*

Tratamientos	Altura de la planta (cm)	Long. de raíz (cm)	Diám del tallo (cm)	No. de hojas	No. de flores	No. de frutos
Control obs.	76,60 ± 4,61 b	6,50 ± 0,31 b	6,80 ± 0,34 b	9,40 ± 0,94 b	8,00 ± 0,73 b	0,20 ± 0,55 a
Control-arroz	98,00 ± 4,6 c	7,86 ± 0,31 c	6,80 ± 0,34 bc	15,20 ± 0,94 c	17,80 ± 0,73 c	3,00 ± 0,55 b
Control-nematodos	49,10 ± 4,61 a	5,10 ± 0,31 a	5,40 ± 0,34 a	5,20 ± 0,94 a	0,00 ± 0,73 a	0,00 ± 0,55 a
Arroz+Nem+Trich	120,80 ± 4,61 d	7,80 ± 0,31 c	8,62 ± 0,34 c	18,00 ± 0,94 d	26,80 ± 0,73 d	3,40 ± 0,55 b

Medias de tratamientos con diferentes letras en una misma columna difieren significativamente, según la prueba LSD Fisher ($p \leq 0,05$)

sobre fitopatógenos del suelo y foliares, no obstante, algunas investigaciones señalan que estas también son capaces de producir metabolitos que favorecen el crecimiento vegetal, aspectos que justifican los resultados mostrados durante el ensayo. Zhao *et al.* (22) sugieren que *Trichoderma* puede estimular la producción de hormonas que incrementan el crecimiento vegetal y desarrollo de las plantas, en especial de su sistema radicular, debido a la liberación de fitohormonas (ácido indol acético, etileno, citoquininas y giberelinas) producción de metabolitos y la activación de la enzima H⁺-ATPasa de la membrana plasmática (PM) ambas involucradas en el desarrollo del crecimiento celular, el alargamiento de la planta y el desarrollo radicular, y con ello, la solubilización y asimilación de nutrientes (23).

La asociación de *Trichoderma* con las raíces confiere, a través de varios mecanismos, efectos beneficiosos a la planta. El establecimiento de un hábitat endofítico es un importante mediador de las actividades en el control biológico, debido a la elicitación de mecanismos de defensa de la planta hospedante. Se piensa, que cuando el hongo entra en las capas epidérmicas de las raíces, confiere mejor salud al cultivo, mayor crecimiento vegetal (síntesis de auxinas) y favorece la absorción de nutrientes, lo cual se revierte en un aumento de la productividad de las plantas (18). Los resultados de este estudio se corresponden con los expuestos por Chowdappa *et al.* (24) y Ruiz-Sánchez *et al.* (25) quienes observaron que la cepa OTPB3 de *T. harzianum* Rifai y *T. asperellum* (Ta.13 y Ta.78) estimularon el crecimiento de *S. lycopersicum* (L.) y de arroz (*Oryza sativa* L.).

Con respecto a la colonización de *Trichoderma* en suelo y raíces, los resultados mostraron que Ta.13 es capaz de colonizar el sustrato y las raíces, en un 100 % (96666.67 y 48166.67) UFC/gramos, respectivamente. Martínez *et al.* (26) refieren que, *Trichoderma*, es capaz de ejercer un control más efectivo sobre agentes habitantes del suelo, cuando se mezcla con materia orgánica (estiércol, casting y biotierra), o cachaza y turba (Biocarbón) entre otras enmiendas utilizadas como biofertilizantes. Sobre estos últimos soportes, declaran que el hongo puede permanecer viable por más de 30 días en condiciones ambientales, sin que se altere la concentración inicial del producto aplicado. La presencia de *Trichoderma* en suelo, en el ensayo de cepellón, se corrobora con los resultados obtenidos por estos autores. En este sentido, Sharma (27) declara que las especies del género producen mayor cantidad de metabolitos secundarios en sustratos con alta proporción de carbono a nitrógeno (C:N), de ahí la importancia de aplicarlos con sustratos orgánicos.

En el presente ensayo, se pudo corroborar con la co-aplicación del biocarbón y la cepa Ta. 13 de *T. asperellum*, una disminución del índice de agallamiento (IA) (grado 2); no siendo así, en el tratamiento

sin *T. asperellum*, en el cual se evidenció un incremento notable del IA de grado 5 de infestación. Estos resultados convergen con los expuestos por Baños *et al.* (28) quienes obtuvieron disminución del IA provocado por *Meloidogyne* spp. con la aplicación de *Trichoderma viride* Pers (cepa C-66) y *T. harzianum* (cepa A-34). También, con los de Sharon *et al.* (29) quienes notificaron parasitismo por *T. asperellum* (cepa 203) en diferentes estadios del ciclo de vida de *Meloidogyne* spp.

Mesa-Vanegas *et al.* (30) estudiaron los compuestos orgánicos volátiles de la cepa YMF 1.00416 de *Trichoderma* sp., y encontraron tres metabolitos: un nuevo compuesto, 1β-vinilciclopentano-1α, 3α-diol y dos metabolitos conocidos, 6-pentil-2H-piran-2-ona y 4-(2-hidroxiethyl) fenol; todos con una elevada capacidad nematocida superior al >85 %. Hernández-Ochandia *et al.* (31) comprobaron el potencial nematocida de *T. asperellum*, por su demostrada capacidad metabólica y plasticidad ecológica. También, Abdelnabby *et al.* (32) lograron disminuir las poblaciones *M. incognita*, con aplicaciones de biocarbón combinado con microorganismos y abono orgánico.

Los resultados sugieren que la combinación de carboncillo y *T. asperellum* (cepa Ta.13) una vez evaluada en condiciones de campo, podría constituirse en una táctica para mejorar el estado del suelo y minimizar daños por nematodos en el cultivo. El hecho de que ambos elementos (carboncillo y *Trichoderma* spp.) se sugieran a los agricultores que abordan la producción protegida de hortalizas en la fase de obtención de plántulas (13) abre posibilidades para la aplicación práctica de este resultado.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que la aplicación de biocarbones, especialmente el de arroz cargado con la cepa Ta.13, permite una mayor duración de la viabilidad de las esporas del hongo y la colonización endofítica de las plantas, lo que se traduce en la obtención de plántulas con mejores indicadores agronómicos, tanto en cepellón, como en campo. Por otra parte, la aplicación de esta cepa con el carboncillo, permite obtener plantas libres de daños agrícolas, aún, en presencia de *Meloidogyne*, debido, probablemente, a la elicitación de metabolitos secundarios y mecanismos defensivos por la planta.

AGRADECIMIENTO

Este estudio se realizó dentro del marco del proyecto BioC (*Re-cycling of biomass nutrients and carbon for advanced organic fertilization in an ecosmart and climate positive agriculture on Cuba* (Bio-C), con financiamiento de SNSF, Suiza; FONCI y Programa Sectorial de Salud Animal y Vegetal del MINAG, Cuba. El colectivo de autores agradece a los

técnicos Noreidys Fernández-Gálvez, Nerdys Acosta, Judith Pérez-Bravet, Dariana Castellón- Miranda, Keylan Barbón Samón y Fraimarys De Moya-Abich por su colaboración en el montaje del experimento. A Julio Cesar Hernández y Olga Nelys O'Reilly, por hacer y garantizar el biochar de arroz; a Yohaner Fernández y David Márquez, quienes hicieron el horno; a Lazaro Echazabal, quien obtuvo el carbón de los materiales del CENSA y a Susana Gorrita, que evaluó y tomó los datos de los carbones.

REFERENCIAS

1. Sikora R, Coyne D, Queneherve P. Nematode parasites of bananas and plantains. In: Sikora RA, Coyne D, Hallmann J, Timper P, editors. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. 3rd ed. Wallingford, UK: CABI Publishing; 2018. p. 617-657. Available from: <https://hdl.handle.net/10568/103607>. DOI: [10.1079/9781786391247.0617](https://doi.org/10.1079/9781786391247.0617)
2. Rodríguez Hernández MG, Fernández-González E, Casanueva-Medina K, Gandarilla-Bastarreacha H, González Userralde FM. Principales plagas: Fitonematodos. In: Casanova Morales AS, Hernández Salgado JC, editors. Manual Práctico para la Producción Protegida de Hortalizas en Cuba. Cuba: Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova"-Grupo Agrícola_PNUD; 2023. p. 232-242. ISBN: 978-959-7111-71-9. Available from: <https://www.undp.org/sites/g/files/zskgke326/files/2023-08/PNUD-Cuba-manual-hortalizas-prottegida.pdf>. Accessed: 3/11/23.
3. Pocurull M, Fullana AM, Ferro M, Valero P, Escudero N, Saus E, et al. Commercial formulations of *Trichoderma* induce systemic plant resistance to *Meloidogyne incognita* in tomato and the effect is additive to that of the *Mi-1.2* resistance gene. *Front Microbiol.* 2020;10:3042. DOI: [10.3389/fmicb.2019.03042](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03042)
4. Poveda J, Abril-Urias P, Escobar C. Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes by Filamentous Fungi Inducers of Resistance: *Trichoderma*, Mycorrhizal and Endophytic Fungi. *Front Microbiol.* 2020;11:992. DOI: [10.3389/fmicb.2020.00992](https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00992)
5. Schmidt HP, Rodríguez MG, Pentón G. BIOCHAR, alternativa para enmendar los suelos. 2019. Available from: https://www.researchgate.net/publication/350756270_Biochar_information_for_farmer_version_02-1. Accessed: 9/2023.
6. Miles TR. Introduction to the biochar world with a focus on new possible applications. In: Tagliaferro A, Rosso C, Giorelli M, editors. Biochar. Emerging applications. Bristol, UK: IOP Publishing; 2020. ISBN 978-0-7503-2660-5 (ebook). p. 1-11.
7. Van Sinh N, Kato R, Linh DTT, Phuong NTK, Toyota K. Influence of Rice Husk Biochar on Soil Nematode Community under Upland and Flooded Conditions: A Microcosm Experiment. *Agronomy.* 2022;12:378. DOI: [10.3390/agronomy12020378](https://doi.org/10.3390/agronomy12020378)
8. Ynfante MD, Martínez CB, Peteira DB, Reyes DY, Simpson J, Herrera EA. Caracterización morfo-cultural y variabilidad genética y molecular de aislamientos de *Trichoderma*. *Biocencia. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud.* 2023;25(2):194-203. DOI: [10.18633/biociencia.v25i2.1890](https://doi.org/10.18633/biociencia.v25i2.1890)
9. Ynfante MD, Martínez CB. Antagonismo de seis cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre *Colletotrichum* spp. *Rev. Protección Veg.* 2020;35(3):1-8.
10. Schmidt HP, Taylor P. Kon-Tiki flame cap pyrolysis for the democratization of biochar production. *Ithaka-Journal for biochar materials, ecosystems and agriculture (IJ-bea).* 2014; 338-348. Arbaz, Switzerland. ISSN 1663-0521. Available from: <https://www.ithaka-journal.net/86>.
11. Casanova-Morales AS, Hernández-Salgado JC, González Userralde FM, Hernández Morrondo M. Producción protegida de plántulas hortícolas en cepellones. In: Casanova Morales AS, Hernández Salgado JC, editors. Manual Práctico para la Producción Protegida de Hortalizas en Cuba. Cuba: Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova"-Grupo Agrícola_PNUD; 2023. p. 45-78. ISBN: 978-959-7111-71-9. Available from: <https://www.undp.org/sites/g/files/zskgke326/files/2023-08/PNUD-Cuba-manual-hortalizas-prottegida.pdf>. Accessed: 3/11/23.
12. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat [computer program]. Córdoba, Argentina: Universidad Nacional de Córdoba; 2017. Available from: <http://www.infostat.com.ar>.
13. Hussey RS, Barker KB. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Dis Report.* 1973;57:1025-1028.
14. Taylor AL, Sasser JB. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). International Nematology Project, Department of Plant Pathology N. C. State Univ, Raleigh, United States. 1978.111 p. Available from: https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/pnaak809.pdf.
15. Rodríguez MG, González E, Linares JI, Quiñonez C, González JA, Hernández D, et al. Experiencias del uso de biocarbón enriquecido con abonos orgánicos en cooperativa urbana. *Agroenergía y Economía circular/Convención AGROPAT.* 2022; p. 1837-1843. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/366231>

- 267_Experiencias_del_uso_de_biocarbon_enriq uecido_con_abonos_organicos_en_cooperativa_urbana/related
16. Xiang Y, Deng Q, Duan H, Guo Y. Effects of biochar application on root traits: a meta-analysis. *GCB Bioenergy*. 2017;9:1563-1572. DOI: [10.1111/gcbb.12449](https://doi.org/10.1111/gcbb.12449)
 17. González Marquetti I, Rodríguez MG, Peteira B, Schmidt HP. Biochar y su contribución a la nutrición, crecimiento y defensa de las plantas. *Rev. Protección Veg.* 2020;35(2):1-17.
 18. González-Marquetti I, Ynfante-Martínez D, Arias-Vargas Y, Gorrita-Ramírez S, Hernández-García T, de la Noval-Pons BM, et al. Efecto de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre indicadores de crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar BAT-304. *Rev. Protección Veg.* 2019;34(2):1-10.
 19. Hermosa R, Rubio MB, Cardoza RE, Nicolás C, Monte E, Gutiérrez S. The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. *Int. Microbiol.* 2013;16(2):69-80. DOI: [10.2436/20.1501.01.181](https://doi.org/10.2436/20.1501.01.181).
 20. Muter O, Grantina-Levina L, Makarenkova G, Vecstaudza D, Strikauska S, Selga T, et al. Effect of biochar and *Trichoderma* application on fungal diversity and growth of *Zea mays* in a sandy loam soil. *Environmental and Experimental Biology*. 2017;15:289-296. DOI: [10.22364/eeb.15.30](https://doi.org/10.22364/eeb.15.30)
 21. Villegas MA. *Trichoderma* Pers. Características Generales y su potencial biológico en La Agricultura Sostenible. 2005. Available from: <http://www.oriusbiotecnologia.com>. Accessed: 5/06/23.
 22. Zhao L, Zhang Y-q. Effects of phosphate solubilization and phytohormone production of *Trichoderma asperellum* Q1 on promoting cucumber growth under salt stress. *J. of Integrative Agriculture*. 2015;14(8):1588-1597. DOI: [10.1016/S2095-3119\(14\)60966-7](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60966-7)
 23. López-Coria M, Hernández-Mendoza J, Sánchez-Nieto S. *Trichoderma asperellum* induces maize seedling growth by activating the plasma membrane H⁺-ATPase. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2016;29(10):797-806. DOI: [10.1094/MPMI-07-16-0138-R](https://doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0138-R)
 24. Chowdappa P, Kumar SM, Lakshmi MJ, Upreti K. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. *Biological Control*. 2013;65(1):109-117. DOI: [10.1016/j.biocontrol.2012.11.009](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.11.009)
 25. Ruiz-Sánchez M, Echeverría-Hernández A, Muñoz-Hernández Y, Martínez-Robaina AY, Cruz-Triana A. Aplicación de dos cepas de *Trichoderma asperellum* S. como estimulante de crecimiento en el cultivo del arroz. *Cultivos Tropicales*. 2022;43(1):e10.
 26. Martínez B, Infante D, Reyes Y. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Rev. Protección Veg.* 2013;28(1):1-9.
 27. Sharma AK, Sharma P, editors. *Trichoderma: Host Pathogen Interactions and Applications*. Rhizosphere Biology. 2020. ISBN 978-981-15-33 21-1 (eBook). DOI: [10.1007/978-981-15-3321-1](https://doi.org/10.1007/978-981-15-3321-1)
 28. Baños Y, del Busto A, Cruz R, Aguiar I, Palomino L. Efecto de enmiendas orgánicas y *Trichoderma* spp. en el manejo de *Meloidogyne* spp. *Rev. Brasileña de Agroecología*. 2010; 5(2):224-233. Available from: <http://www.aba-agroecologia.org.br/ojs2/index.php/rbagroecologia/article/view/9863>
 29. Sharon E, Chet I, Spiege Y. *Trichoderma* as biological control Agent. In: Davies K, Spiegel Y, editors. *Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes: Progress in Biological Control*, vol 11. Dordrecht: Springer. DOI: [10.1007/978-1-40 20-9648-8_8](https://doi.org/10.1007/978-1-40 20-9648-8_8)
 30. Mesa-Vanegas AM, Marín A, Colle-Osorno J. Metabolitos secundarios en *Trichoderma* y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. *Actual. Biol.* 2019;41(111):32-44. DOI: [10.17533/udea.acbi.v41n111a02](https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02)
 31. Hernández-Ochandía D, Rodríguez MG, Peteira B, Miranda I, Arias Y, Martínez B. Efecto de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg sobre el desarrollo del tomate y *Meloidogyne incognita* (Kofoid Y White) Chitwood. *Rev. Protección Veg.* 2015; 30(2):139-147.
 32. Abdelnabby H, Hu Z, Huihui W, Zang X. Furfural Biochar based formulations show synergistic and potentiating effects against *Meloidogyne incognita* in tomato. *J. Pest Sci.* 2018;91:203-218. DOI: [10.1007/s10340-017-0872-x](https://doi.org/10.1007/s10340-017-0872-x)

Declaración de conflicto de intereses: Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Contribución de los autores: Danay Ynfante Martínez: **Conceptualización, metodología, investigación, análisis formal, validación, visualización, redacción del borrador original, redacción (revisión y edición).** Daine Hernández Ochandía: **Conceptualización, metodología, investigación, análisis formal, validación.** Roberto Enrique Regalado: **investigación, recursos.** Rolisbel Alfonso de la Cruz: **Investigación, metodología, análisis formal.** Jersys Arévalo Ortega: **Conceptualización, metodología, supervisión, análisis formal, participó en la redacción (revisión y edición).** Belkis Peteira Delgado: **Conceptualización, metodología, supervisión, análisis formal, participo en la redacción (revisión y edición).** Mayra G. Rodríguez Hernández: **Administración de proyecto, adquisición de fondos, conceptualización, metodología, análisis formal, participo en la revisión y edición del artículo.**