

Comunicación corta

EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE DOCE CEPAS DE *Trichoderma asperellum* Samuels SOBRE TRES FITOPATÓGENOS EN CONDICIONES DE CAMPO

Danay Infante*, Noyma González *, Yusimy Reyes **, B. Martínez *

*Dpto. Fitopatología, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. Correo electrónico: danay@censa.edu.cu,

**Dpto. Biología y Sanidad Vegetal, Universidad Agraria de La Habana «Fructuoso Rodríguez Pérez» (UNAH). San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

RESUMEN: La incidencia de las enfermedades en plantas causadas por agentes fúngicos se incrementa cada año a nivel mundial, lo que ha hecho necesario la búsqueda e introducción de nuevas alternativas para su control. Entre los microorganismos más ampliamente utilizados como agente de control biológico de enfermedades fúngicas se encuentran aislamientos del género *Trichoderma*, por las bondades y mecanismos de acción que poseen (competencia por el sustrato, antibiosis y micoparasitismo). Este trabajo tuvo como objetivo evaluar la eficacia de 12 cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels frente a tres fitopatógenos, inoculados artificialmente en condiciones de campo. La efectividad de las cepas de *T. asperellum* se evaluó sobre *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker, *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijnny y *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder y H.N. Hans. Se calculó el número de colonias/gramo de suelo⁻¹ y la eficacia de los aislamientos de *T. asperellum* por la fórmula de Abbott, a partir del número total de colonias crecidas por placa. Los 11 aislamientos de *T. asperellum*, presentaron una eficacia técnica superior al 80% afectando al menos dos de los fitopatógenos, mientras que los aislamientos T. 1 y T. 90 mostraron más del 90% de eficacia técnica sobre los tres fitopatógenos. Este efecto no se evidenció para el aislamiento T. 25, el que solo ejerció un buen control sobre *C. lunata*, ya que para la evaluación solo se tuvo en cuenta más del 80% de efectividad técnica. Estos resultados evidencian, que la selección de la cepa es un elemento importante para el manejo de enfermedades.

(Palabras clave: *Trichoderma asperellum*; *Bipolaris oryzae*; *Curvularia lunata*; *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*; eficacia)

EVALUATION OF THE EFFICACY OF TWELVE STRAINS OF *Trichoderma asperellum* ON THREE FITOPATHOGENS IN FIELD CONDITIONS

ABSTRACT: The incidence of plant diseases caused by fungal agents increases every year at worldwide scale making necessary the search and introduction of new control alternatives. *Trichoderma* is a most widely applied microorganisms as an agent of biological control (BCA), for its different mechanisms of action (i.e., competition for the substrate, antibiosis and/or mycoparasitism). The present work was aimed to evaluate the efficacy of twelve strains of *Trichoderma asperellum* on three phytopathogens artificially inoculated under field conditions. The efficacy of *T. asperellum* was evaluated on *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker, *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijnny and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder and H.N. Hans. The number of colonies/gram of soil was calculated, as well as the efficacy of *T. asperellum* isolates using Abbott's formula, from the total number of colonies growing on the plate. Eleven of the isolates of *T. asperellum* show a technical efficiency over 80% on at least two of the pathogens. T.1 and T.90 stood out with a technical efficiency over 90% on the three pathogens. This effect was not evident for isolating T. 25, showed control only on *C. lunata*, since the assessment only took into account effective technique over 80%. These results show that the strain selection is an important element in the management and control of diseases.

(Key words: *Trichoderma asperellum*; *Bipolaris oryzae*; *Curvularia lunata*; *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*; efficacy)

El uso de Agentes Biológicos para el control de enfermedades fungosas, cada año se incrementa a nivel mundial, trayendo consigo la disminución de agroquímicos, en su mayoría altamente tóxicos y costosos. En esta temática *Trichoderma/Hypocrea* ha sido el género más ampliamente estudiado, por su fácil aislamiento y cultivo (1), rápido crecimiento, amplia plasticidad ecológica, acción como inductor de resistencia sistémica en plantas a diferentes patógenos (2,3), proveer a la planta un mejor aprovechamiento de nutrientes por su asociación íntima con las raíces de las mismas (4) y por los mecanismos de acción directa: competencia por sustrato, antibiosis y micoparasitismo los cuales manifiesta como antagonista de fitopatógenos.

Estos mecanismos, unido a su alta capacidad de multiplicación, revisten gran importancia para la selección de microorganismos, como Agente de Control Biológico (ACB) (1).

Actualmente diversas especies del género, y entre ellas *Trichoderma asperellum* Samuels (5), son empleadas en el manejo de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos en diversos cultivos de importancia económica (arroz, frijol, tomate, entre otros), con resultados positivos sobre algunos patógenos del suelo (*Rhizoctonia solani* Kuhn y *Sclerotium rolfsii* Sacc.), en casas de cultivo y en campo (4, 6, 7).

En el Laboratorio de Micología Vegetal del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) se dispone de un grupo de aislamientos de *T. asperellum* (8), los que han mostrado *in vitro* efecto antagónico frente a diferentes fitopatógenos importantes en cultivos como tomate y arroz, entre otros; es por ello que este trabajo tuvo como objetivo evaluar la eficacia de 12 aislamientos de *T. asperellum* frente a tres fitopatógenos, inoculados artificialmente en condiciones de campo.

Las condiciones de los cultivos pertenecientes al laboratorio de Micología Vegetal fueron:

Aislamientos de *T. asperellum* (T.1, T.3, T.12, T.13, T. 17, T.25, T.28, T.75, T.78, T.79, T.85, T.90) cultivados en Agar Malta, a temperatura de $28^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$, y los patógenos *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker, *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn y *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder y H.N. Hans en Papa Dextrosa Agar (PDA), incubados a temperatura de $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ y oscuridad.

Evaluación de la Efectividad Técnica

El montaje del experimento se realizó en una superficie de suelo Ferralítico Rojo Típico, no cultivada de 13m de largo x 3m de ancho desprovista de malezas, en el CENSA. En el área fueron marcadas parcelas de 1m², ubicados a una distancia de 50cm entre

ellas. En cada una de ellas se señalaron 4 puntos, los que fueron inoculados con 50mL de una suspensión de conidios (10^5 conidios.mL⁻¹), de cada uno de los fitopatógenos antes mencionados, separadamente.

Transcurridos 21 días, se realizó la inoculación de 50mL de suspensión de conidios (10^7 conidios.mL⁻¹), de cada uno de los aislamientos de *T. asperellum* en cada uno de los puntos previamente inoculados con los fitopatógenos. A los quince días de la inoculación del antagonista, se tomaron muestras de 1kg de suelo de cada uno de los puntos inoculados, hasta la profundidad de 30cm, las cuales se homogeneizaron y tamizaron de forma independiente.

Para la evaluación se tomó 1g de suelo a partir de la cual se realizaron diluciones seriadas (10^3) para cada muestra, incluyendo las testigos. De las dos últimas diluciones se tomaron 10 μ L y se distribuyeron uniformemente en placas Petri contentivas PDA (con antibiótico cloranfenicol 0,1g.L⁻¹), las cuales se incubaron a $28^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ y oscuridad. Se realizaron cinco réplicas por tratamiento, incluyendo los testigos. A las 72 horas se cuantificó el número de colonias de fitopatógenos presentes en los tratamientos, en base a ello se calculó el número de colonias.gramo de suelo⁻¹ y posteriormente se determinó la eficacia técnica de los aislamientos de *T. asperellum* por la fórmula de Abbott (9). Los valores de eficacia se compararon con el 80%, descrito como positivo (7,8).

Los resultados evidenciaron que 11 de los aislamientos evaluados de *T. asperellum*, presentaron una eficacia técnica superior al 80%, sobre al menos dos de los fitopatógenos (Tabla 1). Entre ellos se destacan los aislamientos T.1 y T.90 (con más de 90% y 100% de eficacia) sobre los tres fitopatógenos. El aislamiento T. 25 ejerció un buen control, solo sobre *C. lunata*, sin embargo este aislamiento había mostrado efecto antagónico frente a *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F.Sm.) W.C. Snyder & H.N. Hansen (datos no publicados de los autores) *in vitro*, lo que al parecer, posee cierta especificidad en cuanto al patógeno diana. La eficacia técnica determinada por los aislamientos de *Trichoderma* manifiestan un control bueno (7,8), aunque es de mencionar que el 75% de eficacia es un control aceptable, ya que repercute en la disminución del fondo infectivo en el suelo. Estos resultados confirman, que la selección y especificidad de los aislamientos de *Trichoderma* es un elemento importante a tener en cuenta para ser utilizados como Agente de Control Biológico, según refieren Acevedo y Arcia (10).

Sivan y Chet (11), al evaluar suelo enriquecido con clamidosporas de *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (ATK) Snyder & Hansen y *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (Leach

TABLA 1. Eficacia (EF) de *T. asperellum*. frente a diferentes patógenos en condiciones de campo con inoculación artificial del suelo./ Efficacy of *Trichoderma* spp. against different pathogens in field conditions with artificial inoculation of soil.

Aislados de <i>T. asperellum</i>	Fitopatógenos		
	<i>Curvularia lunata</i> EF	<i>Bipolares oryzae</i> EF	<i>Fusarium oxysporum</i> EF
1	93,94	100	100
3	96,97	100	75
12	93,94	75	100
13	100	25	91,67
17	96,97	0	100
25	96,97	75	50
28	100	100	66,7
75	100	100	66,7
78	100	50	91,67
79	84,85	100	83,33
85	59,09	100	100
90	100	100	100

& Currence) Snyder & Hansen determinaron el potencial de *Trichoderma harzianum* Rifai como agente de biocontrol, observando que el antagonista reduce significativamente la germinación de clamidosporas de ambas especies, efecto que pudiera estar presente en el caso que se analiza.

Sivan y Chet (12), obtuvieron un control de 76-94% sobre *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lypopersici* (Jarvis & Shoemaker), pero con la combinación de varias tácticas. Resultados similares, obtuvieron Pérez *et al.* (13) con aplicaciones de *T. harzianum* (2×10^9 conidio.mL⁻¹) al suelo en el momento de la plantación, evidenciando una eficacia mayor del 95% frente a *F. oxysporum* f. sp. *cubense* en parcelas de 2 variedades de plátano. Con aplicaciones del antagonista al suelo cada 15 días, Durman *et al.* (14), evidenciaron una eficacia superior al 99% en el control de *R. solani* en el cultivo del frijol.

Los trabajos de evaluación de la efectividad de *T. asperellum* sobre los fitopatógenos *C. lunata* y *B. oryzae* en el cultivo del arroz son los primeros que se informan para el país.

REFERENCIAS

- Fernández-Larrea O. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas. 2001;62:96-100.
- Cervantes A. Microorganismos del suelo beneficiosos para los cultivos. 2007. (Consultado:16 feb 2007). Disponible en: http://infoagro.comhortalizasmicroorganismos_beneficiosos_cultivos.htm.
- Harman GE. Mythos and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derive from research on *Trichoderma harzianum* T22. Plant Dis. 2004;84:377-393.
- Hoyos-Carvajal L, Chaparro P, Abramsky M, Chet I, Sergio O. Evaluation of *Trichoderma* spp. isolates against *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* under *in vitro* and greenhouse conditions. Agron. Colomb. 2008; 26(3):451-458.
- Samuels GJ, Lieckfeldt E, Nirenberg HI. *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription of *Trichoderma viride*. Sydowia. 1999;51:71-88.
- Martínez B, Reyes Y, Infante D, González E, Baños H, Cruz A. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. Rev Protección Veg. 2008;23(2):118-125.
- Reyes Y, Martínez B, Infante D. Evaluación de la actividad antagónica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. Rev. Protección Veg. 2008;23(2):112-117.
- Martínez B, Infante D, Reyes Y. About the identification of some *Trichoderma* isolates reported in Revista de Protección Vegetal. Rev. Protección Veg. 2010;25(2):135.
- Abbott W S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J Econ Entomol.1925;18:264-267.

10. Acevedo R, Arcia A. Control Biológico de *Sclerotium cepivorum* por *Trichoderma* sp. *in vitro*. Fitopatol Venez. 1988;1(1):34.
11. Sivan A, Chet I. Degradation of fungal cell walls by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum* J Gen Microbiol. 1989;135(3):675-682.
12. Sivan A, Chet I. Integrated control of *Fusarium crown* and root rot of tomato with *Trichoderma harzianum* in combination with methyl bromide or soil solarisation. Crop Protection. 1993;12:380-386.
13. Pérez -Vicente L, Batlle A, Fonseca J, Montenegro V. Eficacia de *Trichoderma harzianum* en el control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* en Cuba. Taller Latinoamericano. Biocontrol de Fitopatógenos con *Trichoderma* y otros antagonistas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Ciudad de la Habana, Cuba. Del 28-31 de marzo.2006.
14. Durman S, Menéndez A, Godeas A. Evaluation of *Trichoderma* spp. as antagonistic of *Rhizoctonia solani* *in vitro* and as biocontrol in greenhouse tomato plants. Rev Argentina de Microbiología. 1999;31:13-18.

(Recibido 27-11-2010; Aceptado 25-5-2011)