

Trichoderma asperellum (T-34): agente de control biológico contra la fusariosis y la rizoctoniosis

Isabel Trillas, Eva Casanova, Eva Bertrán y D. Sant (Universitat de Barcelona. Facultat de Biologia, Barcelona)

Manuel Avilés (Universidad de Sevilla. Escuela Universitaria Ing. Téc. Agrícola, Sevilla)

Julio C. Tello (Universidad de Almería. Escuela Politécnica Superior, Almería)

La aplicación de productos químicos, en el control de las enfermedades de las plantas (fungicidas, bromuro de metilo, etc) están enfocados hacia la eliminación del patógeno, antes o después de que su presencia se haya hecho evidente en el cultivo. Esta publicación hace referencia a la incorporación en el sustrato para el crecimiento de las plantas de un microorganismo beneficioso: *Trichoderma asperellum* (T-34), solicitud patente P200101552, PCT WO 03/000866, depósito Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) núm 20417. Este agente de control biológico (ACB) T-34 inoculado en diversos sustratos para el cultivo de las plantas reduce de manera consistente las enfermedades producidas por *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* raza 1 en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*) y *Rhizoctonia solani* en plantel de pepino (*Cucumis sativus*). Algunos fungicidas químicos inhiben el crecimiento de T-34 mientras que otros sólo reducen ligeramente su crecimiento permitiendo un control integrado de las enfermedades.

INTRODUCCIÓN

El género *Trichoderma* es un hongo cosmopolita y frecuente en suelos con residuos vegetales y de madera. Distintas especies de este hongo se encuentra de manera dominante entre la microflora de un gran número de suelos, donde ejercen un papel importante como degradadores, facilitando su fertilidad (GAMS Y BISSET, 1998.). Algunas cepas de *T. harzianum* son parásitas de otros hongos y pueden ser un problema importante por ejemplo en la industria del champiñón (GEA, 1995). *Trichoderma* spp. son productores importantes de antibióticos y otros productos inhibitorios del crecimiento de otros microorganismos del suelo e incluso su acción se puede extender a microorganismos celulolíticos del rumen de las ovejas, que pueden enfermar. Por otro lado, raramente ataca a las plantas y está bien establecido el papel de algunas cepas como ACB de enfermedades edáficas importantes (CHET y col., 1982; HOITINK, Y FAHY, 1986; HOITINK, Y BOEHM, 1999, COTXARRERA y col., 2002). La clasificación morfológica y molecular no nos permite actualmente predecir el comportamiento de las distintas cepas como ACB (HJELJORD Y TRONSMO, 1998). No siempre cepas individuales inducen supresividad, algunas veces son necesarias combinaciones de microorganismos (TRILLAS y col., 1986).

Materiales y métodos

Trichoderma spp. T-34 es un agente de control biológico natural (no se ha mutado ni modificado genéticamente), aislado de un sustrato para el cultivo de plantas formulado a base de compost de residuos urbanos, turba y vermiculita. T-34 se caracterizó molecularmente a partir de un cultivo monospórico y se identificó como *T. asperellum* a partir de amplificaciones de las regiones adyacentes (oligonucleótidos ITS1 al ITS4) al gen que codifica el rRNA 5,8S (COTXARRERA y col., 2002). *Trichoderma asperellum* T-34 crece de manera artificial en muchos medios de crecimiento, donde se desarrolla rápidamente y produce gran-

des cantidades de esporas verdes (Foto 1a). Los conidióforos están ramificados a intervalos regulares y se asemejan a arbustos con forma piramidal (Foto 1b), los conidios son ovoides y lisos (GAMS Y BISSETT, 1998).

Las capacidades supresoras de los ACBs se determinan con bioensayos que se llevan a cabo con plantas susceptibles, en un ambiente físico y químico que favorezca la enfermedad, inoculando el sustrato de crecimiento con el patógeno (los controles sin el patógeno), e incorporando o no el agente de control biológico (TRILLAS y col. 2002). La capacidad supresora de T-34 ya se ha probado contra *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, que produce marchitez y muerte en tomate (COTXARRERA y col., 2002). En el presente artículo se presentan

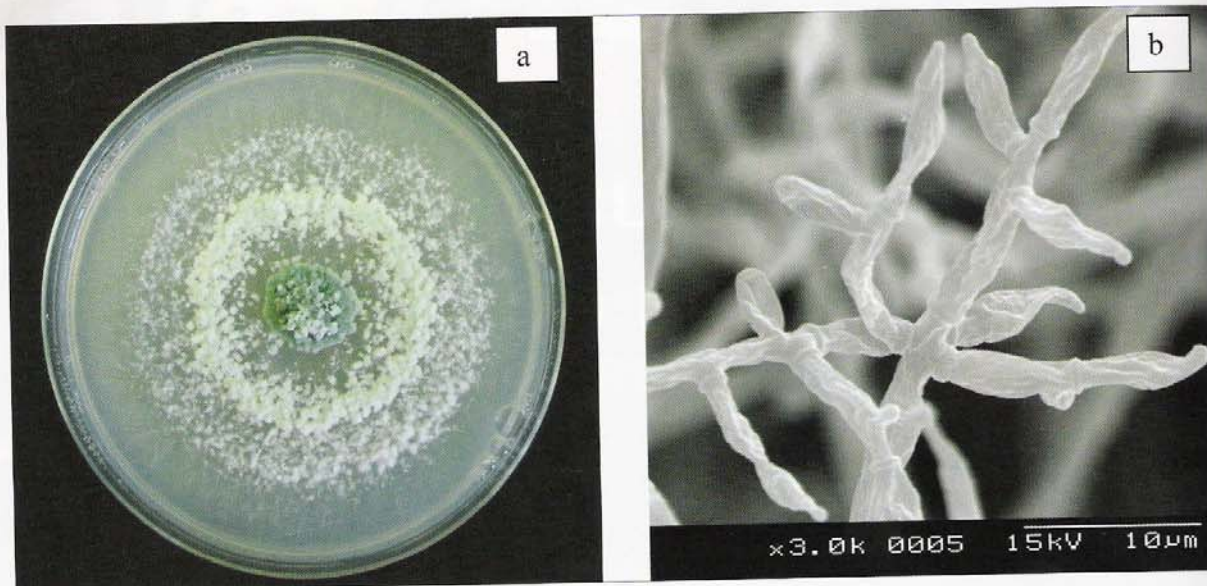


Foto 1. (a) Colonia de *T. asperellum* (T-34) creciendo en un cultivo de laboratorio sobre medio Malta-Agar. (b) Imagen de conidióforos con fialidas al Microscopio electrónico de rastreo de *T. asperellum* (T-34).

algunos de los resultados obtenidos con *Rhizoctonia solani* cepa AC-4 que produce podredura de semillas y necrosis en plantel de pepino.

Se utilizaron cinco macetas (330 ml) por tratamiento con 15 semillas por maceta y los experimentos se realizaron tres veces. Las macetas crecieron en una cámara de crecimiento a 25°C de temperatura, con fotoperíodo largo (16 horas de luz) y 150-210 µE m⁻² s⁻¹ PAR, irrigadas con solución nutritiva Peter's 27-15-12 (0.5 g litro⁻¹) (Scotts), enriquecida con 0.6 g litro⁻¹ of CaCl₂ y 0.6 g litro⁻¹ MgSO₄·7H₂O, pH 5.68. En estos experimentos se ha utilizado el cultivar "Negrito" de pepino. El inóculo de *R. solani* se preparó de acuerdo con técnicas estándar (Ko y Hora, 1971).

Los sustratos para el crecimiento de plantas estudiados fueron: compost de corcho, turba y un sustrato comercial formulado a base de turbas. En los dos primeros casos T34 se inoculó en el sustrato a una concentración de 10⁴ ufc (unidades formadoras de colonias) y se incubó durante una semana, al cabo de la cual su concentración pasó a ser de 10⁵ ufc. En el sustrato comercial se preparó, además, a la concentración de 10³ ufc pasando a 10⁴ después de una semana. El nivel de enfermedad se expresó como la proporción de plántulas afectadas en relación con el número total de plantas, siendo los límites 0 (mínimo) = todas las plantas sanas y 1 (máximo) = todas las plantas enfermas.

El papel de fungicidas químicos sobre el crecimiento de T34 se evaluó en laboratorio sobre placas de Petri que contenía medio Malta-Agar con el fungicida que se añadía al medio después de esterilizarse en autoclave a la concentración recomendada en las etiquetas. Fragmentos de aproximadamente 1 cm² de T34 creciendo en medio Malta Agar se dispusieron encima del medio Malta con el fungicida y se midió el crecimiento (cm) a distintas horas. Los productos ensayados fueron: Benomilo, Captan, Carbendazina + Oxinato de Cobre (Saynko), Dicloufanida (Euparen), Fosetil-AI (Aliette), Kasugamicina (Kasumin cobre), Metil Tiofanato (Pelt), Promamocarb (Previcur), Tebuconazol (Folicur), Tiabendazol y Triadimenol (Bayfidan), Vinclozolina (Ronilan).

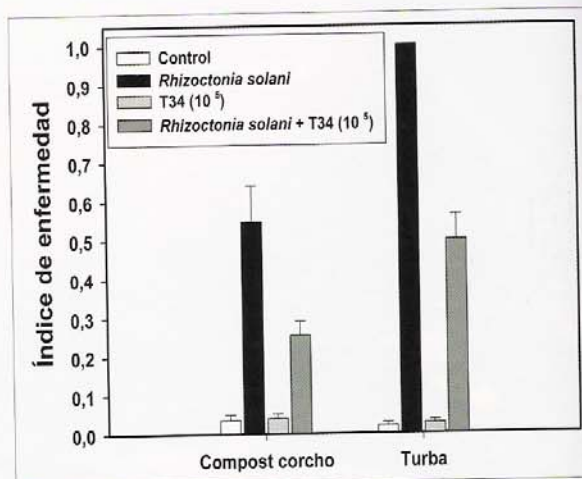


Figura 1. Efecto de T34 (10⁵ ufc) sobre el índice de enfermedad producido por *R. solani* en plántulas de pepino creciendo en compost de corcho y turba.

Resultados

El ACB T34 no afecta negativamente el crecimiento de las plántulas de pepino, tal y como puede observarse en la Figura 1. El patógeno *R. solani* produce enfermedad en todas las plantas, mientras que este inóculo en compost de corcho produce aproximadamente un 50% de plantas enfermas. La turba y para este patógeno se comporta como un sustrato conductor, mientras que el compost de corcho se consideraría moderadamente supresor a la rizoctoniosis. Aplicacio-

nes de T-34 sobre sustratos infestados con *R. solani* reducen su índice de enfermedad en aproximadamente un 50% tanto en el compost de corcho, como en la turba (Figura 1). El sustrato comercial formulado a base de turbas con distintos grados de descomposición y especial para plantel resultó ser también conductor, como en el caso de la turba (Figura 2). El establecimiento de T-34 en concentraciones de 10^4 ufc reduce muy levemente el índice de enfermedad, mientras que si se establece en concentraciones de 10^5 ufc, se reduce en aproximadamente un 50% la enfermedad, al igual que en los otros materiales (Figura 2 y Foto 2). Este comportamiento de T-34 se ha verificado también en otros sustratos (datos no mostrados).

De entre los fungicidas evaluados y por lo que hace referencia a su comportamiento sobre el crecimiento de T34, los podríamos clasificar en tres tipos, los que no afectan su crecimiento (Previcur), los que afectan moderadamente su crecimiento (Captan, Aliette, Ronilan y Euparen) y los que lo inhiben (Benomilo, Tiabendazol, Saynko, Bayfidan, Follicur, Kasumin-Cu y Pelt) (Figura 3). Concentraciones de estos fungicidas al 50% no inciden de manera significativa en el crecimiento del ACB T34 (datos no mostrados).

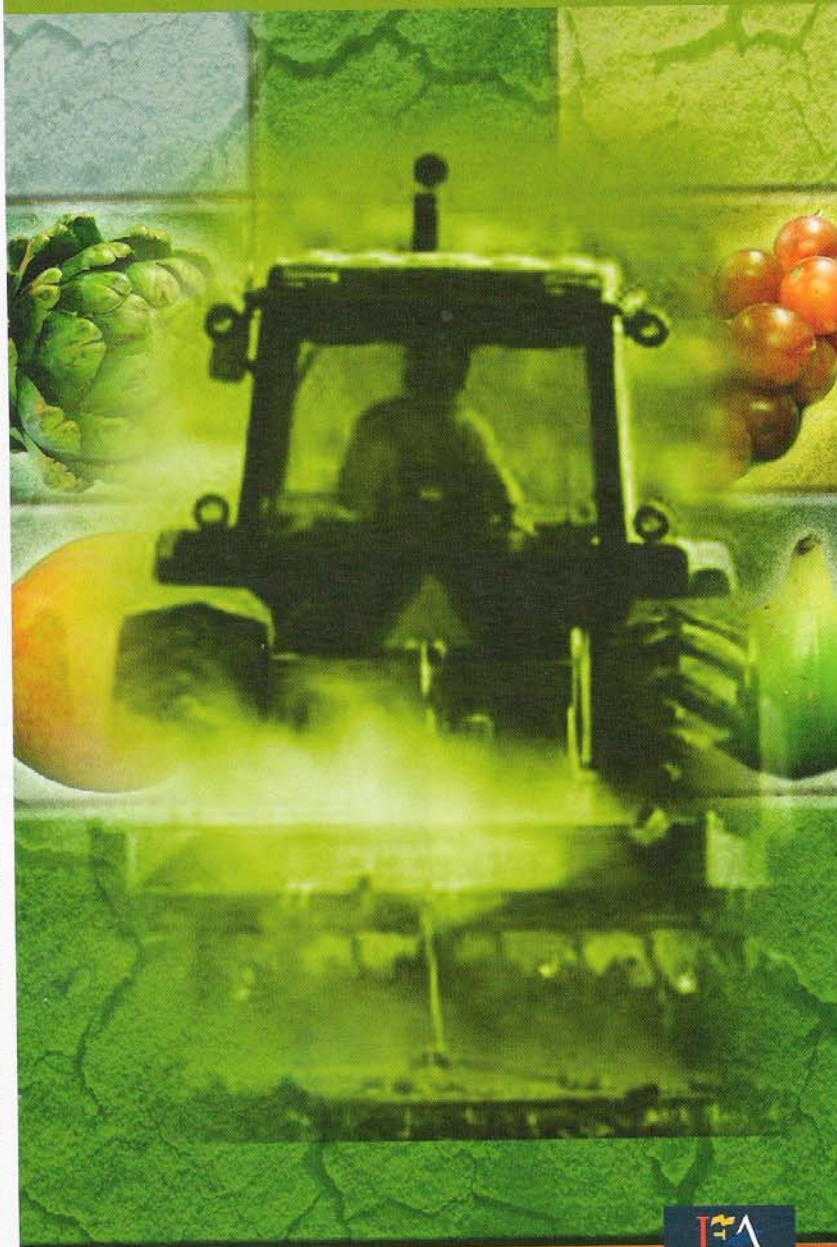
Conclusiones

La cepa de *Trichoderma asperellum* T-34, es un buen ACB frente a *Rhizoctonia solani*. Las turbas son sustratos pobres en microorganismos, mientras que los compost en general, presentan una mayor actividad biológica (HOITINK, Y FAHY, 1986; HOITINK, Y BOEHM, 1999; COTXARRERA y col., 2002). Este aspecto parece no afectar ni la colonización, ni la capacidad supresora de T34. Sin embargo su concentración si que es importante en el nivel de control de la rizoctoniosis. Poblaciones de T-34 de alrededor de 10^5 ufc, reducen en un 50% el índice de esta enfermedad. Una gran diversidad de fungicidas químicos afectan el crecimiento de T-34 aunque también muchos otros no inciden sobre su desarrollo. De entre estos, Captan, Aliette, Ronilan y sobre todo Previcur, permitirían la utilización simultánea/alternativa del ACB T-34 y estos fungicidas. En el caso de que T-34 no indujese control sobre *Pythium* spp o *Phytophthora* spp. se podría utilizar simultáneamente T-34 y Previcur y alternar con otros productos quí-

AGRI TECO

2º Sal6n de Agricultura Ecol6gica

2ª Feria de la Tecnología Agraria del Mediterráneo



del 15 al 18 de enero 2004



GENERALITAT VALENCIANA
CONSSELLERIA DE INDUSTRIA, COMERCIO Y TURISME

Tel: 966 657 600
Fax: 966 657 631
www.feria-alcante.com

2004

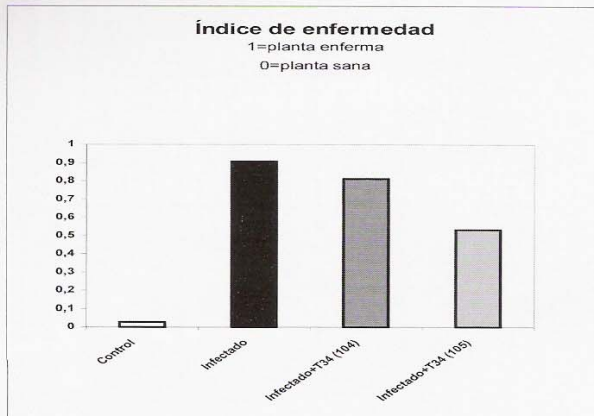


Figura 2. Efecto de T34 (10^4 y 10^5 ufc) sobre el índice de enfermedad producido por *R. solani* en plántulas de pepino creciendo en un sustrato comercial formulado a base de turbas.

químicos. Si se utilizaran productos biocidas, estaría de obligada recomendación el infestar el sustrato de cultivo con T-34 para proteger la entrada de patógenos edáficos. La utilización de agentes de control biológico, como T-34 son una alternativa viable para el control de las enfermedades de las plantas, sin disminuir la biodiversidad microbiana de los sustratos de cultivo, parámetro que incide favoreciendo las enfermedades edáficas.

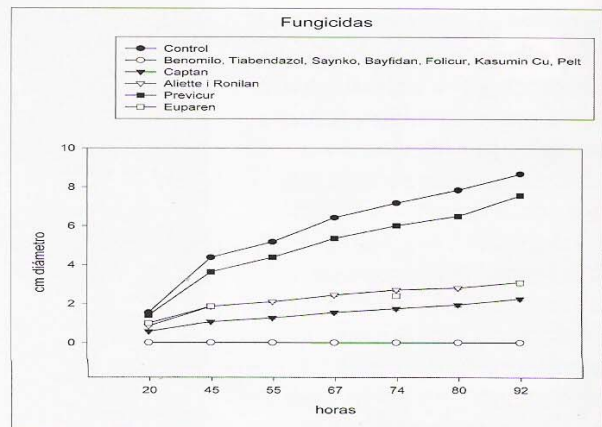


Figura 3. Efecto sobre el crecimiento de T34 en medio Malta Agar al que se han añadido los fungicidas señalados.



Foto 2. Plántulas de pepino creciendo en un sustrato comercial formulado a base de turbas, papel de T34 (10^4 y 10^5 ufc) sobre el índice de enfermedad producido por *R. solani*.

BIBLIOGRAFÍA

- CHET, I.; ELAD, Y., KALFON, A., HADAR, Y Y KATAN, J. (1982). *Integrated control of soilborne and bulbborne pathogens in Iris*. Phytoparasitica, 10:4, 1982.
- COTXARRERA, L., TRILLAS, M.I., STEINBERG, C., ALABOUVETTE, C. (2002). *Use of sewage sludge compost and Trichoderma asperellum isolates to suppress Fusarium wilt of tomato*. Soil Biology & Biochemistry 34: 467-476.
- GAMS W., BISSETT, J. (1998). *Morphology and identification of Trichoderma*, capítulo 1 en Trichoderma y Gliocladium Vol 1. Taylor & Francis Ltd.
- GEA, F.J. (1995). *Micosis del cultivo del champiñón (Agaricus bisporus (Lange) Imbach) en Castilla-La Mancha. Estudio de la verticiliosis (agente causal: Verticillium fungicola Preuss) Hassebrauk*. Tesis doctoral Universidad de Murcia. Facultad de Biología. pag. 57-59.
- HJELJORD, L., TRONSMO, A. (1998). *Trichoderma and Gliocladium in biological control: an overview*, capítulo 6 en Trichoderma y Gliocladium Vol 1. Taylor & Francis Ltd.
- HOITINK, H.A.J. Y FAHY, P.C. (1986) *Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts*. Ann Rev. Phytopathology 24: 93-114.
- HOITINK, H.A.J. Y BOEHM, M.J. (1999). *Biocontrol within the context of soil microbial communities: A Substrate-dependent Phenomenon*. Ann. Rev. of Phytopathology. 37 427-445.
- KO, W., HORA, F.K. (1971). *A Selective medium for the quantitative Determination of Rhizoctonia solani in soil*. Phytopathology 61: 707-710.
- TRILLAS, M.I. HOITINK, H.A.J. MADDEN, LV. (1986). *Nature of Suppression of Fusarium wilt of radish in a container medium amended with composted hardwood bark*. Plant Disease 70: 1023-1027.
- TRILLAS, M.I., AVILES, M., ORDOVAS, J., BELLO, A., TELLO, J.C. (2002). *Using compost as a methyl bromide alternative*. BioCycle 64-68.