



TALLER DE SEGURIDAD ALIMENTARIA

TRICHODERMA ASPERELLUM: ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE PLAGAS EN CULTIVOS DE INTERÉS ECONÓMICO

Dr. Cs. Benedicto Martínez Coca, Dr. C. Edwin Ronnie Gakegne, M. Sc. Danay Ynfante Martínez.. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA).

INTRODUCCION

Las enfermedades fúngicas están entre los problemas fundamentales que afectan la producción en los cultivos agrícolas. La aparición y reemergencias de estas, como consecuencia del cambio climático y el uso desmedido de plaguicidas que afectan la salud humana y ambiental, hace necesario la investigación de nuevas formas y medios para su control. Como una de las alternativas se encuentran los antagonistas que limitan las pérdidas causadas por las enfermedades. Entre estos, *Trichoderma* es uno de los ampliamente utilizados. Para lograr el objetivo en campo con el antagonista, es necesario la caracterización, identificación y el conocimiento de los modos de acción del mismo.

En Cuba, se seleccionaron cepas nativas de *T. harzianum* (A-34, A-53) y *T. viride* (Ts-3, C-66) por diferentes técnicas, y se usan en diferentes cultivos para el control de enfermedades fúngicas, con resultados satisfactorios (17, 22). El Tizón temprano de la papa, la fusariosis en garbanzo y la roya en frijol, son de las enfermedades más importantes en estos cultivos en Cuba y el mundo. Las pérdidas en papa por esta causa están alrededor de 30% (1, 16). En Córdoba, Argentina, se perdieron 6500 ha de garbanzo, y entre las principales causas se encontraron las enfermedades por *Fusarium* spp. (5). En Veracruz, México, la roya en frijol causa pérdidas entre 12 y 41% del rendimiento (23). Sobre la base de estos antecedentes, con el fin de disminuir los daños por patógenos en estos cultivos, a partir de nuevas cepas identificadas morfo-fisiológica y molecularmente (11), y caracterizadas integralmente (8, 12), se propusieron como objetivos evaluar *in vitro* y validar en campo, aislamientos de *Trichoderma asperellum* para el control de las enfermedades referidas anteriormente en dichos cultivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

13 cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg. (conservada LMV)
Cepas de Pseudomonas: *Pseudomonas protegens* Pf-5 (cepa de referencia ATCC® BAA-477™) aislada de suelo de Texas, USA (Majumder *et al.*, 2014).
Patógeno de papa: *Alternaria solani* Sor. (No. 160, CLMV)
Patógeno de garbanzo: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* Schlechtend.:Fr. (Padwik) Matuo&K.Sato (F-12 y F-13) y uno de *Fusarium nygamai* Burgess & Trimboli (F-8).

Selección *in vitro* de *T. asperellum* para el control de *A. solani* y *Fusarium*

Método de Cultivo dual (Martínez y Solano *et al.*, 1995)

• **Antibiosis** (48h)
Metabolitos volátiles y no volátiles

• **Competencia por espacio**
Escala de Bell *et al.* (1982)
Formula de Samaniego *et al.* (1989).

• **Micoparasitismo**
Interacciones hifales:
Vacuolización, granulación, penetración y lisis
(Microscopio óptico 400/630x) Chet *et al.*, 1987

PICR= [(R1-R2)/R1] x 100
Donde R1 es el crecimiento radial del control
R2 el crecimiento radial del hongo patógeno en el tratamiento.

Se utilizó un diseño completamente al azar.
ANOVA simple, medias se compararon según dócima de Duncan. $p \leq 0,05$

Prueba y validación de las cepas Ta.85 y Pf-5 en el control de *A. solani* en condiciones de campo. Durante 2015-2016 y 2017-2018

Selección de tratamientos con mas del 50% de eficacia.

Suelo Ferralítico Rojo Lixiviado típico, éutrico; pH entre 5,2 y 6,1. Sin aplicaciones de *Trichoderma*. Verificado por análisis de suelo por método de siembra de dilución.

Los experimentos se realizaron en la finca “El Mulato” localizado en la carretera San José-Tapaste, Mayabeque.

Influencia de Ta.85 y Pf-5 de *P. protegens* en la incidencia e intensidad y el rendimiento del Tizón temprano del cultivo de papa (cv. Romano) en la campaña 2017-2018

En la campaña 2017-2018 cepas de *Trichoderma* y *Pseudomonas*. Validaron separadamente y en co-aplicación

• Bloques continuos en parcelas de 50 m², con 5 repeticiones.

Ttos	Incidencia (%)			Intensidad (%)			Rend. (t.ha ⁻¹)
	1ra eva.	3era eva.	5ta eva.	1ra eva.	3era eva.	5ta eva.	
I	9,52 ^a	26,05 ^a	43,57 ^a	1,07 ^a	3,80 ^a	5,17 ^a	14,16 ^a
II	13,02 ^a	33,88 ^{ab}	53,74 ^{ab}	1,45 ^a	5,96 ^b	9,54 ^b	14,56 ^a
III *	17,36 ^a	40,07 ^b	56,59 ^b	1,58 ^a	6,30 ^b	11,01 ^b	12,40 ^{ab}
IV	30,81 ^b	63,52 ^c	95,24 ^c	2,07 ^a	17,02 ^c	26,29 ^c	11,18 ^b
ES	2,67	4,19	5,81	0,18	1,47	1,28	0,36
CV	0,55	0,37	0,30	0,42	0,64	0,41	0,12

Medias con letras diferentes, en una misma columna difieren significativamente (Tukey $p \leq 0,05$) *Según instructivo técnico.
Leyenda: I- *Trichoderma* tubérculo+3 co-aplicaciones de Pf-5 y Ta.85 al follaje; II- *Trichoderma* tubérculo+3 aplicaciones de Pf-5 al follaje; III- Convencional; IV- Control.
Rend.=Rendimiento

Los tratamientos se conformaron anualmente (aplicaciones al tubérculo y follaje), además los rendimientos.

Validación: sobre la base de la incidencia e intensidad de la enfermedad (15) en Cv. Romano.

Los datos se procesaron mediante análisis de varianzas y las medias se diferenciaron mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0,05$). Los datos se procesaron por el paquete estadístico InfoStat

Validación de *Trichoderma* (Ta.13) sobre la fusariosis de garbanzo

Los ensayos se desarrollaron en la UCTB - Los Palacios, en el cultivar de garbanzo 5HA.

Tratamientos: al Suelo(S), Suelo y semilla (SS), Suelo, semilla y planta (SSP) y se dejó un Testigo sin tratar (T). El tratamiento al suelo se realizó cinco días antes de la siembra, a la dosis 10¹² UFC.ha⁻¹. Las semillas se embebieron por 5 minutos en una suspensión de conidios (10¹⁰ conidios.L⁻¹.kg⁻¹ de semilla).

La **incidencia** de la enfermedad se calculó por la fórmula: **D= (a/N)*100**.

ET por la fórmula Abbott (4): %eficacia=[(1-Td)/Cd]*100, para el mismo periodo evaluativo.

Se determinó, además, efecto de la aplicación de *Trichoderma* sobre algunas variables de rendimiento.

Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar, con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones. Los datos se procesaron mediante el análisis de varianza de clasificación simple, las medias se docimaron según Tukey para $p \leq 0,05$.

Validación de *Trichoderma* (Ta.13) sobre frijol (cultivar Tomeguín 93)

Los ensayos se desarrollaron en la UCTB - Los Palacios, en el cultivar de garbanzo 5HA.

Se adicionó un tratamiento químico [Celest Top (25 g Fludioxonil+25 g Difenconazol+262,5 g Thiamethoxam/FS)] a la dosis de 3,0 ml.kg⁻¹ de semilla y una aplicación previa a la floración con Amistar 250 g (Azoxistrobina/SC) a la dosis de 0,3 L.ha⁻¹.

Se evaluaron la **incidencia** (6) y **severidad** (24) de la roya y la fusariosis.

Con los datos de las evaluaciones se realizó un análisis de varianza de clasificación simple, las medias obtenidas se docimaron mediante la Prueba de Duncan ($p \leq 0,05$).

• Porcentaje de incidencia de *F. oxysporum* y *U. appendiculatus*

Tratamientos	<i>F. oxysporum</i>		<i>U. appendiculatus</i>	
	24 ddg	39 ddg	54 ddg	69 ddg
I. Control químico	0,376 ^b	0,378 ^b	0,635 ^{bc}	0,208 ^b
II. Control sin aplicación	4,018 ^a	3,074 ^a	6,629 ^a	13,777 ^a
III. SevetriC: suelo (5 dps)	0,208 ^b	0,467 ^b	2,610 ^b	11,364 ^a
IV. SevetriC: suelo (5 dps)+tallo (15 ddg)	0,377 ^b	0,367 ^b	1,581 ^{bc}	9,559 ^a
V. SevetriC: suelo (5 dps)+tallo (15 ddg)+floración (40 ddg)	-	-	0,000 ^c	3,520 ^b
ESx	0,394	0,560	0,549	0,899

Letras diferentes en la columna, difieren estadísticamente, (Duncan $p \leq 0,05$). dps: días previos a la siembra, ddg: días después de germinado.

CONCLUSIONES

Los resultados validaron las cepas seleccionadas *in vitro* y demostraron su eficacia para el control de *A. solani* en el cultivo de la papa y de *Fusarium* spp. en garbanzo y frijol, y la roya en este último, lo que constituye una contribución a la seguridad alimentaria y a la preservación del ambiente.

RESULTADOS

A. solani

Antibiosis: Todas las cepas de *T. asperellum* mostraron efecto antibiótico frente a *A. solani*, destacándose **Ta.90, Ta.78, Ta.75 y Ta.85**. Relacionado con: la acción de metabolitos como enzimas, toxinas y otros (2, 19).

Competencia por sustrato: Se destacaron Ta.1, Ta.3, Ta.12, Ta.25 y Ta.85 con un intervalo de colonización entre 72 y 74,33 mm, no obstante, solo la Ta. 85 alcanzó el grado 1 de la escala de Bell *et al.* (3). Estos se corresponden con los de Kamal *et al.* (13), al informar alta capacidad competitiva de *Trichoderma* spp. frente a *Alternaria porri* (Ellis) Cif.

Micoparasitismo: Las cepas Ta. 12, Ta. 13, Ta. 28, Ta. 56 y Ta. 85 presentaron tres o más interacciones hifales frente a *A. solani*.

El análisis integral demostró que la cepa Ta. 85 es la más promisoría frente a *A. solani*.

Por primera vez en el país se determinó el antagonismo de cepas de *T. asperellum* frente a este patógeno, y selecciona.

Fusarium spp.

Competencia por sustrato: Los aislamientos de *Trichoderma* se ubicaron en el grado 1 de la Escala de Bell *et al.* (3) frente a los tres aislamientos de *Fusarium*. Las cepas de *Trichoderma* crecieron más rápido que los aislamientos de los patógenos. Esta ventaja competitiva contribuyó a retardar el crecimiento y esporulación de estos. Las cepas Ta.13 y Ta.17 fueron las de mayor PICR (82,38 y 95%), sin diferencia significativa entre ellas, pero si con las restantes.

Antibiosis: Solo las cepas Ta.13 y Ta.17 mostraron efecto inhibitorio frente a los tres aislamientos de *Fusarium* spp.

Micoparasitismo: La cepa Ta.13 mostró mayor número de interacciones hifales que la Ta.17.

Por los resultados integrales en el antagonismo, se seleccionó para la prueba en campo

AGRADECIMIENTOS

A LOS PROYECTOS:

Desarrollo de productos bioactivos para el manejo de plagas en grano y Nuevos usos de *Trichoderma*.