

# “Control Biológico de *Trichoderma asperellum* sobre *Sclerotium rolfsii* en condiciones de invernadero”

Ing. Agr. Rolando Javier Capuz Eugenio - Ing. Agr. María Leticia Vivas Vivas

## Evidence-based medicine. Chronic Chagas disease grave, with ventricular aneurysm and their treatment

### Resumen

Los cultivos hortícolas son afectados por fitopatógenos de suelo que causan marchitez entre ellos el hongo *Sclerotium rolfsii*, este fitopatógeno reduce los rendimientos y contribuye al aumento de los costos de producción por efectos de control. Los objetivos fueron: 1) Determinar la dosis de dos cepas de *Trichoderma asperellum* sobre la severidad causada por *Sclerotium rolfsii* en los cultivos de tomate, pimiento y sandía en condiciones de invernadero, y 2) Evaluar la formas y épocas de aplicación de dos cepas de *T. asperellum* en estos tres cultivos.

Los tratamientos del estudio de dosis fueron: 1) 5 millones de esporas por planta, 2) 10 millones, 3) 15 millones, 4) 20 millones, 5) 25 millones, 6) 30 millones de esporas por planta, 7) Suelo estéril, 8) Suelo sin esterilizar, 9) Suelo con Captan, 10) Semilla con Captan.

El estudio de formas de aplicación tuvo 8 tratamientos: 1) Aplicado a la superficie del suelo, siete días antes de la siembra, 2) Incorporación al suelo con materia orgánica y del antagonista siete días antes de la siembra, 3) Aspersión al suelo del antagonista siete días antes de la siembra, 4) Aspersión al suelo del antagonista siete días después de la siembra, 5) Suelo estéril, 6) Suelo sin esterilizar (campo hortícola), 7) Suelo tratado con fungicida, 8) Suelo tratado con antagonista comercial. Los dos experimentos se analizaron en un diseño completamente al azar con 10 unidades experimentales.

En el estudio de dosis se determinó que  $1 \times 10^6$  de conidios de *T. asperellum* cepa G-08 en los cultivos de tomate, pimiento y sandía tienen efecto en la reducción de la severidad de la infección de *S. rolfsii*; por otra parte, la cepa SE-034 con dosis de 15 gramos para los cultivos de tomate y pimiento; en sandía 10 gramos de sustrato.

En la frecuencia de aplicación *T. asperellum* cepa G-08 para el cultivo de tomate, pimiento y sandía debe aplicarse 7 días antes del trasplante en forma líquida e incorporada con materia orgánica para tratamiento preventivo y con los primeros síntomas de la enfermedad en forma curativa, igual procedimiento debe realizarse con la cepa SE-034.

## Introducción

En Ecuador, los cultivos de tomate, pimiento y sandía ocuparon en el 2006 alrededor de 7.445 ha. Distribuidas en su mayoría en unidades de producción agrícola (UPAs) menos de una hectárea (SICA 2006). Estos cultivos se siembran en ambientes favorables para algunas plagas como insectos y fitopatógenos foliares y de suelo que provocan pérdidas en rendimiento y aumento en los costos de producción por efectos de control; tal es el caso que en la provincia de Manabí los productores invierten alrededor del 50% del costo de producción en plaguicidas (Carvajal, 1997).

Los fitopatógenos de suelo que incluyen hongos y bacterias causan enfermedades conocidas como marchitez, cuya incidencia puede provocar mortalidad de plantas hasta en un 80% durante la etapa de floración e inicio de cosecha, especialmente en monocultivo.

En los últimos 40 años el uso de productos químicos en la agricultura ha aumentado llevando a una dependencia de los mismos, lo cual ha originado daños en los sistemas agrícolas y ecosistemas. Por otra parte, se ha generado resistencia de los fitopatógenos a estos productos por lo que causan resurgimientos y brotes secundarios de las enfermedades (El Agro, 2005).

En la naturaleza existen microorganismos antagonistas que actúan en forma natural sobre algunos fitopatógenos, especialmente de suelo. El control biológico de los patógenos es la destrucción total o parcial de las poblaciones de estos por medio de otros organismos (Agrios, 2004).

Por otra parte, Nicholls (2008) menciona que el control biológico consiste en el uso de uno o más organismos para reducir la densidad de una planta que causa daño al hombre. Así el control biológico puede definirse como uso de organismos benéficos (enemigos naturales) contra aquellos que causan daño.

Estudios sobre la actividad biocontroladora en vivo de la cepa A34 de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium rolfsii* en tomate indicaron la eficacia a partir de la ausencia de síntomas en plantas tratadas (Reyes et al., 2002), igualmente en Costa Rica se ha estudiado el efecto sobre *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *S. cepivorum*, (Fernández - Larrea, 2001).

Por otra parte, los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* son las bacterias más importantes debido a su actividad antagonista. Pruebas in vitro con estas dos bacterias aisladas en plátano y arroz mostraron la capacidad de inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos de suelo como *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. moniliforme* y *F. solani* (Fernández-Larrea, 2001).

Los objetivos de esta investigación fueron: 1) Evaluar seis dosis y dos cepas de *Trichoderma asperellum* sobre la severidad de *Sclerotium rolfsii* en los cultivos de tomate, pimiento y sandía, y 2) Evaluar formas y épocas de aplicación de dos cepas de *T. asperellum* en estos tres cultivos.

## Materiales y métodos

### *Multiplicación de T. asperellum y Sclerotium rolfsii en condiciones de laboratorio*

Las cepas de *T. asperellum* G-08 (Provincia del Guayas) y SE-034 (Provincia de Santa Elena) las proporcionó el Departamento de Protección Vegetal de la Estación Experimental Litoral Sur “Dr. Enrique Ampuero Pareja” del INIAP. Posteriormente se multiplicaron en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) y en forma masiva en arroz descascarillado y esterilizado; para el propósito se colocó por cada 200 gramos de sustrato 5 ml de una solución de *T. asperellum*, se dejó en incubación durante 7 días, luego se procedió a secar hasta un 14% de humedad, después se almacenó en refrigeración para las pruebas respectivas en invernadero. El fitopatógeno *S. rolfsii* se multiplicó en PDA para inocular el suelo estéril.

### *Dosis y frecuencias de aplicación de T. asperellum*

Para este propósito se utilizaron fundas plásticas con capacidad de 1.5 kg que contenían suelo estéril, las mismas que se inocularon con el fitopatógeno *S. rolfsii* y siete días después se agregó el antagonista en los 5 cm superficiales del suelo; posteriormente, se procedió a la siembra de cada una de las plántulas de tomate híbrido Heatwave, pimiento Quetzal y sandía Charleston Grey. Se utilizaron 10 fundas por cada cultivo y por cada tratamiento.

Las evaluaciones de severidad se realizaron semanalmente durante dos meses. Se utilizó la escala 0 - 5 propuesta por CIAT para enfermedades de raíz y tallo; donde: 0 = Sin síntomas

visibles de la enfermedad; 1 = Decoloración ligera, ya sea sin lesiones necróticas o con un 10 % de los tejidos de las raíces y hojas cubiertos con lesiones; 2 = Aproximadamente el 20 % de los tejidos están cubiertos con lesiones, puede observarse decoloración fuerte; 3 = Aproximadamente el 30 % de los tejidos están cubiertos con lesiones, se combinan con ablandamiento y pudrición; 4=Aproximadamente el 50 % de los tejidos están cubiertos con lesiones, se combinan con ablandamiento y reducción considerable del sistema radical. 5 = Aproximadamente el 75 % o más de los tejidos están afectados por estado avanzado de pudrición, en combinación con la reducción severa del sistema radical.

Este estudio constó de 6 dosis de *T. asperellum* y cuatro testigos, lo que totalizó 10 tratamientos: 1) 5 millones de esporas por planta, 2) 10 millones, 3) 15 millones, 4) 20 millones, 5) 25 millones, 6) 30 millones de esporas por planta, 7) Suelo estéril, 8) Suelo sin esterilizar, 9) Suelo con Captan, 10) Semilla con Captapan.

**Formas y épocas de aplicación**

Las formas de aplicación fueron sólido (hongo en arroz descascarado), líquido (hongo en agua) e incorporado con materia orgánica (mazorca de cacao). Para este estudio se utilizaron los cultivos de tomate Floradade, pimiento Irazú largo y sandía Charleston Grey. La severidad del fitopatógeno se evaluó semanalmente durante dos meses y se utilizó la escala de CIAT descrita anteriormente.

Se investigó 8 épocas de aplicación: 1) Aplicado a la superficie del suelo, siete días antes de la siembra, 2) Incorporación al suelo con materia orgánica y del antagonista siete días antes de la siembra, 3) Aspersión al suelo del antagonista siete días antes de la siembra, 4) Aspersión al

suelo del antagonista siete días después de la siembra, 5) Suelo estéril, 6) Suelo sin esterilizar (campo hortícola), 7) Suelo tratado con fungicida, 8) Suelo tratado con antagonista comercial.

El experimento se analizó en un diseño completamente al azar con 10 unidades experimentales, para la comparación de las medias se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan  $p=0.05$

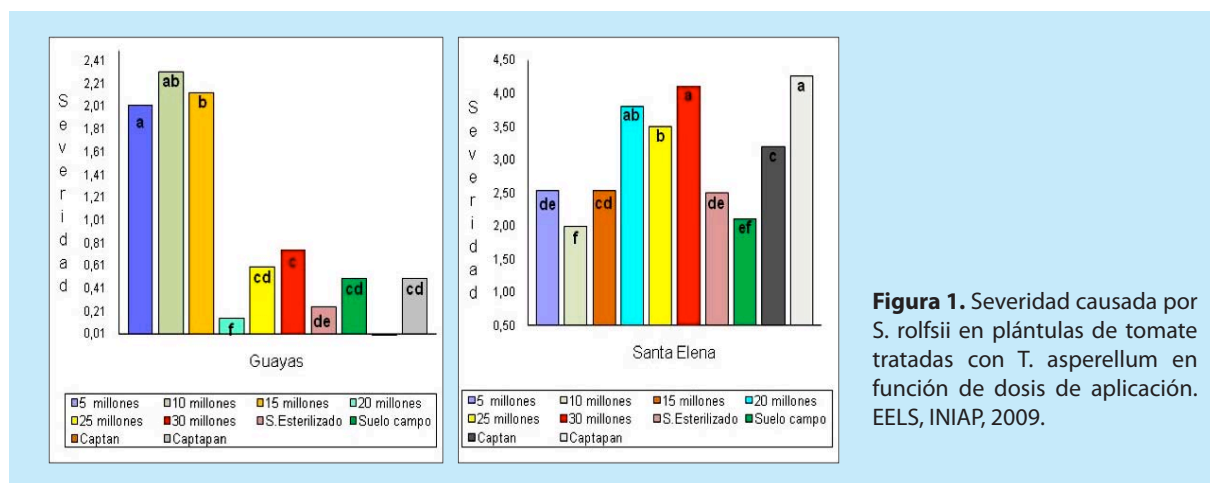
**Resultados y discusión**

**Efecto de dosis de *T. asperellum* sobre *Sclerotium rolfsii***

**Ensayo de tomate**

En la Figura 1 se muestran las barras de los promedios generales de severidad causada por *S. rolfsii* en plántulas de tomate. La cepa G-08 de *T. asperellum* en dosis de 20 millones de esporas por planta tuvo el menor valor de severidad con 0.15 %, y fue estadísticamente igual al testigo químico (Captan) con 0% de severidad; las dosis 5, 10 y 15 millones de esporas por planta mostraron los valores más altos con 2.02, 2.31 y 2.13% de severidad respectivamente, e iguales estadísticamente entre sí.

Con la cepa SE-034 la dosis de 10 millones de esporas tuvo el menor porcentaje de severidad (1.72), diferente estadísticamente, seguido del tratamiento que consistía en suelo de campo con 1.76%, lo que podría estar relacionado con el efecto supresivo que tienen algunos suelos, pues, resultan de la descomposición de materiales orgánicos (Hoitink y Pool, 1980). Los valores más altos fueron en las dosis de 20, 30 millones de esporas y el testigo químico Captapan con 2.16, 2.24 y 2.25% en su orden e iguales estadísticamente.

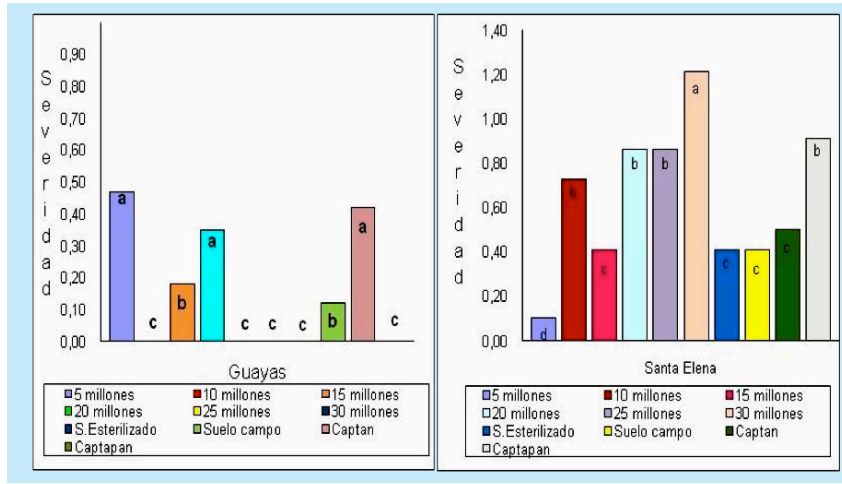


**Figura 1.** Severidad causada por *S. rolfsii* en plántulas de tomate tratadas con *T. asperellum* en función de dosis de aplicación. EELS, INIAP, 2009.

**Ensayo de pimienta**

En la Figura 2 se muestran las barras de los promedios generales de severidad causada por *S. rolfsii* en plántulas de pimienta. La cepa G-08 de *T. asperellum* en las dosis de 10, 25 y 30 millones de esporas por planta y los tratamientos con suelo esterilizado y Captapan tuvieron los valores más bajos de severidad con 0 %, y fueron estadísticamente iguales entre sí; los valores más altos fueron en las dosis 5 y 20 millones de esporas con 0.47% y 0.42% en su orden, seguido de Captan con 0.42% e iguales estadísticamente entre sí.

Con la cepa SE-034 la dosis 5 millones de esporas tuvo el menor porcentaje de severidad con 0.10, diferente estadísticamente, seguido de la dosis 15 millones, suelo esterilizado y suelo de campo todos con 0.41% de severidad e iguales estadísticamente entre sí, los porcentajes más altos fueron en la dosis de 30 millones de esporas por planta con 1.21, y fue estadísticamente diferente de los demás.



**Figura 2.** Severidad causada por *S. rolfsii* en plántulas de pimienta tratadas con *T. asperellum* en función de dosis de aplicación. EELS, INIAP, 2009.

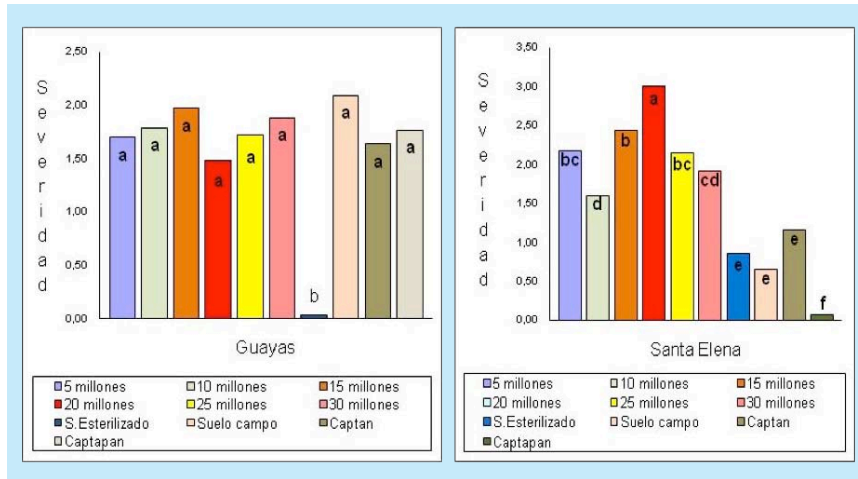
**Ensayo de sandía**

En la Figura 3 se muestran las barras de los promedios generales de severidad causada por *S. rolfsii* en plántulas de sandía. El tratamiento de menor severidad fue el suelo esterilizado con 0.04%, estadísticamente diferente de los demás tratamientos. Todas las dosis de la cepa G-08 de *T. asperellum* fueron iguales significativamente a los testigos.

fueron iguales a los testigos comerciales (Captan y Captapan) y suelo de campo, tratamiento que podría utilizarse en el manejo de producción ecológica para evitar el deterioro del agroecosistema.

Si bien los resultados con las dosis de *T. asperellum* cepa G-08 los porcentajes de severidad fluctuaron entre 1 y 2 de la escala, dichos valores representan síntomas de decoloración y aproximadamente un 20% de daño, sin embargo

Con la cepa SE-034, los tratamientos Captapan con 0.08% de severidad seguido de suelo de campo con 0.65% y suelo esterilizado con 0.86% fueron iguales estadísticamente. La dosis de 10 millones de esporas por planta de *T. asperellum* cepa SE-034 tuvo el menor valor con 1.60% de severidad, seguido de la dosis 30 millones de esporas con 1.91%, iguales estadísticamente.



**Figura 3.** Severidad causada por *S. rolfsii* en plántulas de sandía tratadas con *T. asperellum* en función de dosis de aplicación. EELS, INIAP, 2009.

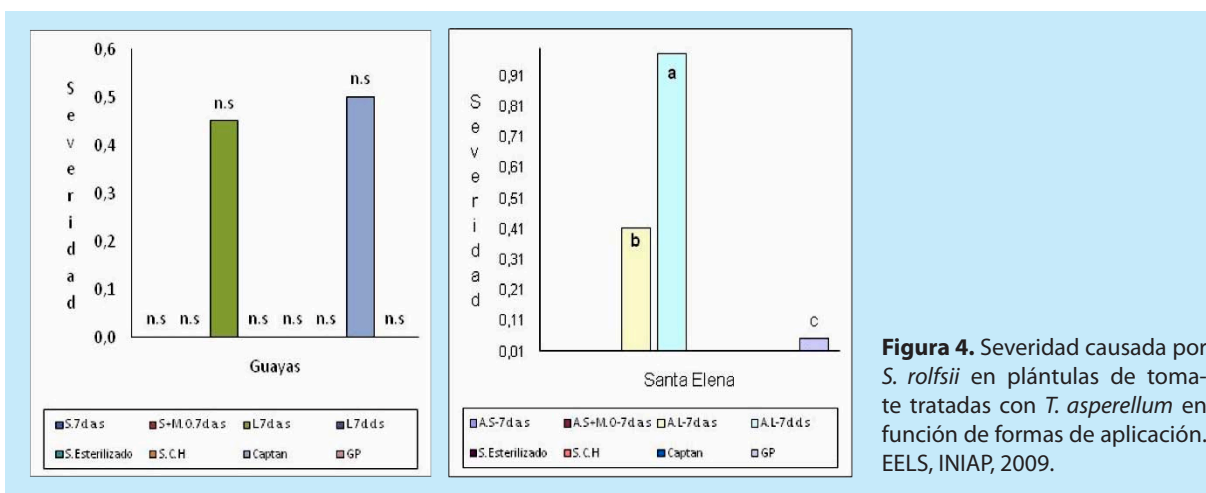
**Formas y épocas de aplicación de *T. asperellum* para el manejo de *Sclerotium rolfsii***

**Ensayo de tomate**

En la Figura 4 se observan las barras de los promedios generales de severidad causada por *S. rolfsii* en plántulas de tomate. Con la cepa G-08 de *T. asperellum* aplicada en forma sólida o líquida e incorporada con materia orgánica no hubo presencia de la enfermedad, igualmente en los demás tratamientos, excepto en forma líquida 7 días después de la siembra y el químico (Captan) ambos tuvieron 0.5% de infección. No hubo significancia en los tratamientos. Por otra parte, con la cepa SE-034 en los tratamientos

en forma líquida 7 días después de la siembra se observó 0.98% de severidad y fue estadísticamente diferente a los otros tratamientos, seguido de la forma líquida 7 días antes de la siembra con 0.41% y el tratamiento biológico comercial con 0.05% de severidad, todos ellos diferentes estadísticamente.

La respuesta positiva de *T. asperellum* sobre la severidad causada por *S. rolfsii* en plántulas de tomate se relaciona con los estudios de Sandoval y López (2002), quienes mencionan que la cepa A34 de *Trichoderma harzianum* reduce patógenos de suelos como *Phytophthora* parasítica, *Rhizoctonia solani* y *S. rolfsii*.



**Figura 4.** Severidad causada por *S. rolfsii* en plántulas de tomate tratadas con *T. asperellum* en función de formas de aplicación. EELS, INIAP, 2009.

**Ensayo de pimiento**

En la Figura 5 se muestran las barras de los promedios generales de severidad causada por *S. rolfsii* en plántulas de pimiento. La cepa G-08 de *T. asperellum* aplicado en forma líquida 7 días antes de la siembra no tuvo presencia de la enfermedad, igualmente en los tratamientos suelo esterilizado, suelo de campo hortícola y el testigo biológico comercial (GP); todos ellos iguales estadísticamente entre sí ; los tratamientos en forma sólida 7 días antes de la siembra e incorporada con materia orgánica, ambos con 0.41% y el químico (Captan) con 0.33% de infección e iguales estadísticamente.

Por otra parte, con la cepa SE-034 en los tratamientos en forma sólida incorporada con materia orgánica y líquida 7 días antes de la siembra

no hubo presencia de la enfermedad ; igualmente en los tratamientos de suelo estéril, suelo de campo hortícola, el químico(Captan), no se encontró significancia. Igualmente los tratamientos en forma sólida 7 días antes de la siembra con 0.41% de severidad, líquido 7 días después de la siembra, y el biológico comercial (GP), ambos 0.33%, fueron estadísticamente similares.

El efecto de la materia orgánica favorece la acción del antagonista, como lo ha demostrado el trabajo de Hernández y Bustamante (2001) realizado en Costa Rica, para controlar la marchitez ocasionada por *Ralstonia solanacearum* en la que utilizaron enmiendas orgánicas como broza de café, cachazas y tres tipos de compost mezcladas con suelo.



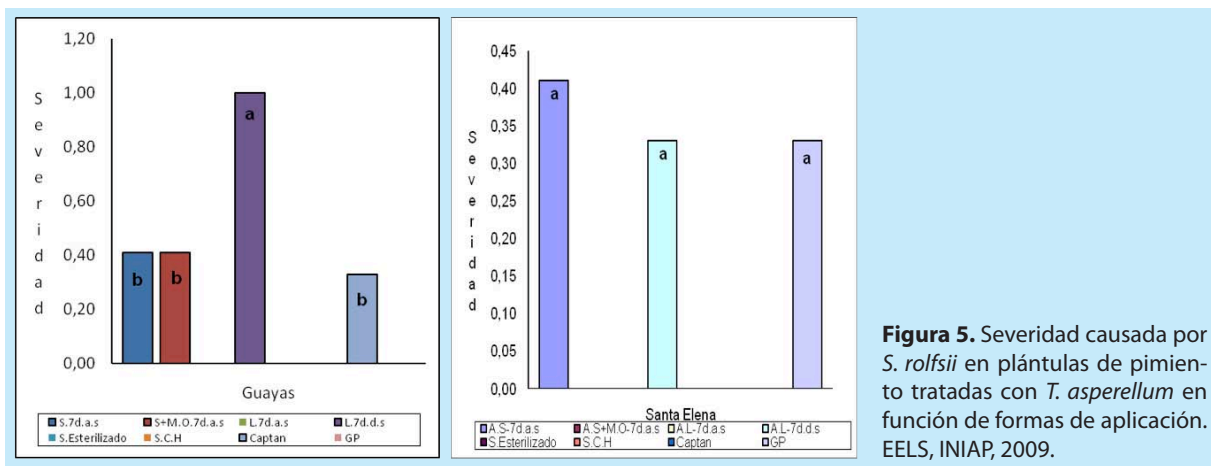


Figura 5. Severidad causada por *S. rolfsii* en plántulas de pimienta tratadas con *T. asperellum* en función de formas de aplicación. EELS, INIAP, 2009.

### Ensayos de sandía

En la Figura 6 se observan las barras de los promedios generales de severidad causada por *S. rolfsii* en plántulas de tomate. La cepa G-08 de *T. asperellum* en forma líquida 7 días después de la siembra, suelo de campo, Captan, GP y el tratamiento sólido 7 días antes de la siembra fueron iguales estadísticamente. En los cuatro primeros tratamientos no hubo presencia de enfermedad; en el último, se encontró una severidad de 0.06 %.

Con la cepa SE-034, los tratamientos con *T. asperellum* en forma líquida 7 días antes de la siembra y el biológico comercial GP tuvieron 0.33% de severidad y fueron iguales estadísticamente con los tratamientos suelo esterilizado, Captan y suelo de campo hortícola. Con relación a este último, podría relacionarse con el efecto supresivo que tienen algunos suelos, resultado de la descomposición de materiales orgánicos (Hoitink y Pool, 1980).

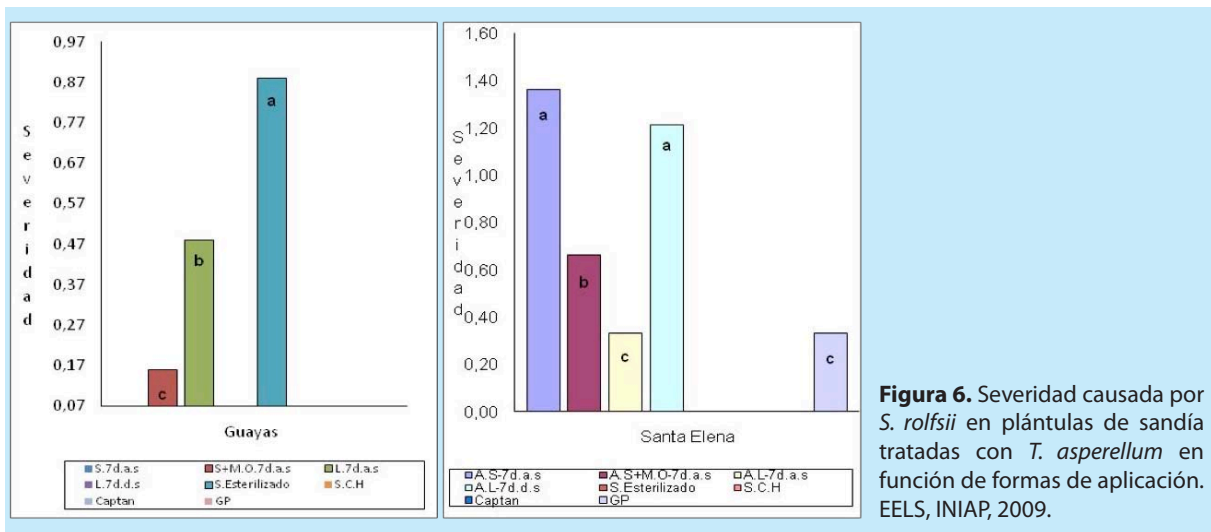


Figura 6. Severidad causada por *S. rolfsii* en plántulas de sandía tratadas con *T. asperellum* en función de formas de aplicación. EELS, INIAP, 2009.

### Conclusiones

En pruebas de invernadero, *Trichoderma* cepa G-08 en dosis de 20 g de sustrato conteniendo  $1 \times 10^6$  esporas por gramo, reduce la severidad causada por *S. rolfsii* en los cultivos de tomate, pimiento y sandía.

Con la cepa SE-034 en dosis de 15 gramos de sustrato de *Trichoderma* reduce la severidad de *S. rolfsii* para el cultivo de pimiento y tomate; en el cultivo de sandía con 10 gramos de sustrato que contiene  $1 \times 10^6$  conidios/gramo.

La forma de aplicar *Trichoderma* cepa G-08 sobre *S. rolfsii* en tomate debe realizarse 7 días antes del trasplante, incorporada con materia orgánica, con los primeros síntomas de la enfermedad. La cepa *Trichoderma* SE-034 para controlar *S. rolfsii* en tomate se debe aplicar 7 días antes del trasplante incorporado con materia orgánica. En pimiento se recomienda aplicar 7 días antes de la siembra con materia orgánica o en forma líquida. En sandía, esta tecnología se debe realizar en forma líquida 7 días antes del trasplante.

## Recomendaciones

En base a los resultados obtenidos se recomienda:

- Efectuar estudios de dosis y frecuencia de aplicación en condiciones de campo.
- Buscar alternativas de otros sustratos como fuente de materia orgánica para la incorporación del antagonista contra los fitopatógenos de suelo.

## Bibliografía

1. AGRIOS, G. 2004. Fitopatología. Editorial Limusa S.A. México. p.192- 515
2. CARVAJAL, T. 1997. En Manual de Cultivos Hortícolas. (Estación Experimental Portoviejo). p. 5
3. DAXL RAINER. 1994. El Manejo Integrado de Plagas. Rossdorf- Alemania. p.25
4. EL AGRO. 2004. Revista Edición No. 107 Editorial Uminasa S.A. Guayaquil Ecuador. p.17
5. EL AGRO. 2005. Revista Edición No. 111 Editorial Uminasa S.A. Guayaquil Ecuador. p.51
6. FERNÁNDEZ-LARREA.O. 2001. Manejo Integrado de Plagas, Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios no Sintéticos, Microorganismos Antagonistas para el Control Fitosanitario, Costa Rica, No. 62 p.96-100.
7. HERNÁNDEZ L. y Bustamante E. 2001. Control biológico de la marchitez bacterial en tomate con el uso de enmiendas orgánicas. En Manejo Integrado de Plagas, Costa Roca, No. 62 p 18 - 28
8. HOITINK, H. y POOL, HA. 1980. Factors affecting quality of compost for utilization in container media. Horticultural Science 15:171-173
9. NICHOLLS, C. 2008. Control biológico de insectos: un enfoque agroecológico. Antioquia Colombia. p.1.
10. SANDOVAL, I., LOPEZ, M., BONILLA, T. y OLIVA, O. 2002. Estudios del biocontrol-- de hongos del suelo con *Trichoderma harzianum* y la combinación de la solarización en el clavel (*Dianthus barbatus*). En XII Congreso Científico Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana Cuba. Nov. 12 al 15 de 2002, p.141.
11. REYES, T., RODRIGUEZ, G., PUPO, A., ALARCON, L., LIMONTA, Y. 2002. Efectividad in vitro de *Trichoderma harzianum* para el biocontrol de *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Pyricularia grisea* sacc. aislados en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). Disponible en: [www.inisav.cu/fitosanidad/](http://www.inisav.cu/fitosanidad/)
12. SICA.2006 Disponible en: [http://www.sica.gov.ec/agro/docs/CUADRO3%20ecuador\\_estimación\\_de\\_la\\_superfi%202006.htm](http://www.sica.gov.ec/agro/docs/CUADRO3%20ecuador_estimación_de_la_superfi%202006.htm)



◀ **Ing. Agr. Rolando Javier Capuz Eugenio**

Ing. Agr. Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Guayaquil, Becario del Proyecto PIC-2006-1-013, INIAP.

**Ing. Agr. María Leticia Vivas Vivas**

Directora del proyecto: PIC-2006-1-013 “Alternativas biológicas para el manejo de insectos plagas y fitopatógenos de suelo en cultivos hortícolas en las provincias de Guayas y Manabí” ejecutado por INIAP. Profesora de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Guayaquil y Directora de Tesis.