

# Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre aislamientos de *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp.

Antagonism of *Trichoderma* spp. against isolates of *Sclerotinia* spp. and *Rhizoctonia* spp. *in vitro*

LILLIANA HOYOS-CARVAJAL<sup>1,4</sup>  
GLORIA DUQUE<sup>2</sup>  
SERGIO ORDUZ P.<sup>3</sup>

**Cultivo de habichuela.**  
Foto: C. Carranza



## RESUMEN

El género *Trichoderma* consta de diversas especies de hongos que tienen la capacidad de parasitar a otros hongos que causan enfermedades en plantas. En el presente estudio, el objetivo fue evaluar la actividad micoparasítica *in vitro* de 73 aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre tres aislamientos del fitopatógeno *Sclerotinia* spp. provenientes de habichuela, repollo y pimentón y dos aislamientos de *Rhizoctonia* provenientes de arroz y de fríjol; se cuantificó evaluando el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial o antagonismo siguiendo la metodología de cultivos duales y la calificación de micoparasitismo planteados por Royse y Ries (1978). Para analizar los datos obtenidos en los ensayos, se llevó a cabo la prueba de Kruskal-Wallis, detectando diferencias estadísticas significativas en el grado de parasitismo de aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre los hongos fitopatógenos evaluados. Los aislamientos de *Trichoderma* con alto grado de micoparasitismo fueron aquellos capaces de combatir a los fitopatógenos en cuatro de las cinco pruebas realizadas, entre los cuales sobresalen *T. asperellum* T51 y *T. harzianum* T53. El aislamiento *T. harzianum* T21 demostró tener un grado de antagonismo muy bajo en todas las pruebas realizadas.

<sup>1</sup> Departamento de Agronomía, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá (Colombia).

<sup>2</sup> Colegio Mayor de Antioquia, Medellín (Colombia).

<sup>3</sup> Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín (Colombia).

<sup>4</sup> Autor para correspondencia. limhoyosca@unal.edu.co

**Palabras clave adicionales:** control biológico, hongo fitopatógeno, actividad micoparasítica, *T. asperellum* T51, *T. harzianum* T53.

## ABSTRACT

The genus *Trichoderma* includes various species of fungi that are able to parasitize other fungi, some of which cause plant disease. The goal of the present study was to evaluate, in vitro, the parasitic activity of 73 fungal isolates of *Trichoderma* spp. on three isolates of the phytopathogens *Sclerotinia* spp. obtained from green beans, cabbage and pepper, and two isolates of *Rhizoctonia* spp. obtained from rice and beans. We studied percentage inhibition of mycelial growth or antagonism, using the methodology of dual culture and the classification of mycoparasitism of Royse y Ries (1978). Data was subjected to the Kruskal-Wallis test to detect statistically significant differences in the degree of parasitism of isolates of *Trichoderma* spp. on the evaluated phytopathogenic fungi. *T. asperellum* T51 and *T. harzianum* T53 stood out using the criterion of successful control of the phytopathogens in four of five tests. In contrast, the isolate *T. harzianum* T21 demonstrated very little antagonism in all tests.

**Additional keywords:** biological control, phytopathogenic fungi, mycoparasitic activity, *T. asperellum* T 51, *T. harzianum* T 53.

Fecha de recepción: 08-04-2008

Aprobado para publicación: 03-06-2008

## INTRODUCCIÓN

El manejo de enfermedades de plantas ocasionadas por patógenos del suelo son verdaderos retos en la agricultura mundial que por su complejidad requieren un trato más cuidadoso que en el caso de los patógenos de la aerobiota (Castro, 1995). Las enfermedades no sólo tienen el potencial de destruir enteramente las cosechas, aun en los casos en que no causan pérdidas totales, por lo general reducen en forma crónica el rendimiento de la mayoría de los cultivos, obligando a tomar medidas de combate que aumentan los costos de producción y afectan la calidad y la durabilidad de los productos cosechados, de manera que constituyen una de las principales causas de inestabilidad en la empresa agrícola y del déficit alimentario mundial (Strange y Scott, 2005). Más

aún aquellas causadas por patógenos formadores de esclerocios, los cuales son agrupaciones compactas de micelio, ricos en materiales de reserva que pueden permanecer en estado de dormancia, hasta 10 años (Schwartz y Pastor-Corrales, 1988). En este grupo de patógenos se encuentran los géneros *Rhizoctonia* spp. y *Sclerotinia* spp.

*Rhizoctonia solani* Khum tiene un micelio incoloro en las primeras etapas de formación y posteriormente se torna amarillo o café cuando madura; consta de células largas con ramificaciones que crecen en ángulo recto con respecto a la hifa principal (Ulloa y Hanlin, 2002). Los síntomas más comunes sobre su hospedero son el ahogamiento de las plántulas y la pudrición de la raíz,

así como la pudrición y el cáncer del tallo de las plantas adultas y en proceso de crecimiento. Sin embargo, en algunos hospederos también produce pudrición de los órganos vegetales de almacenamiento, así como los tizones o manchas del follaje, especialmente del que se encuentra cerca del suelo (Agrios, 2005). El hongo se disemina principalmente por el agua de riego, por implementos agrícolas y por material de propagación vegetativa (Gilligan *et al.*, 1996).

*Sclerotinia sclerotiorum* produce hifas blancas en sus estados iniciales; más tarde el micelio se va compactando y toma un aspecto marrón o negro para formar los esclerocios, los cuales son de principal importancia en la supervivencia y epidemiología de *Sclerotinia sclerotiorum* (Cundom *et al.*, 2002). Los síntomas que produce *Sclerotinia* varían un poco con el hospedero o la parte afectada de él y con las condiciones del medio ambiente. Las enfermedades causadas por *Sclerotinia* se conocen bajo una amplia variedad de nombres, siendo las más comunes: la pudrición algodonosa, moho blanco o pudrición blanda aguanosa, pudriciones del tallo y maderamen, marchitez, ahogamiento, pudrición de la corona, tizón de las inflorescencias, nudo rosa, cáncer del tallo, pudriciones de la raíz y corona, entre otras (Agrios, 2005).

En cuanto a métodos de control utilizados para combatir estos hongos, se ha centrado en el uso de agroquímicos, los cuales contribuyen a la acumulación de residuos tóxicos en las cosechas y en el ambiente, con serias consecuencias para la salud humana. Además, los pesticidas no permiten un control efectivo de muchas enfermedades producidas por fitopatógenos del suelo por no ser selectivos. Una alternativa de control ha sido basada en el control biológico, entendido como la reducción de la densidad o de las actividades productoras de enfermedades de un patógeno o parásito, en su estado activo o durmiente, lograda de manera natural o a través de la manipulación del ambiente, del hospedero o de antagonistas del

patógeno o plaga que se quiere controlar (Chincholkar y Mukerji, 2007). Esta forma de control de algunos problemas fitosanitarios ha tomado importancia en los últimos años, fundamentada principalmente en la selección de organismos del suelo con propiedades antagónicas sobre otros organismos que producen enfermedades en las plantas (Fravel, 2005), ya que la utilización de microorganismos antagónicos o enmiendas orgánicas se constituyen en una alternativa de control de estos fitopatógenos para mejorar la nutrición y resistencia de las plantas, así como disminuir la incidencia de enfermedades (Nico *et al.*, 2005). El control biológico surge como una alternativa ante la necesidad de reducir los productos químicos, conservando la sanidad de los cultivos. Además, el componente más significativo del suelo que afecta la supervivencia de los esclerocios parece ser el biológico; entre los cuales se encuentran más de 30 especies de hongos y bacterias señaladas como antagonistas (Cundom *et al.*, 2002).

Los antagonistas utilizados para control de enfermedades son generalmente saprófitos, debido a su facilidad de adaptación al medio y a su alta capacidad de competencia por nutrientes frente a otros organismos, a su versatilidad y fácil manipulación. Entre estos se halla el género *Trichoderma*, que produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios, las cuales son activas contra fitopatógenos en diferentes fases del ciclo de vida, desde la germinación de la espora hasta la esporulación, además ésta reúne una serie de características en su interacción directa con el fitopatógeno, que, según Harman (2000) y Howell (2006), hace de este organismo un buen agente antagonista de hongos fitopatógenos. Entre ellas su *capacidad micoparasítica*, la cual puede ser definida como el uso del patógeno como alimento por su antagonista, en el que generalmente se ven implicadas enzimas extracelulares como quitinasas, celulasas,  $\beta$ -1-3-glucanasas y proteasas que lisan o digieren las paredes de los hongos; su capacidad de *producción de antibióticos*,

referida a la producción de sustancias tóxicas para otros organismos, las cuales actúan en bajas concentraciones (menores a  $10 \text{ mg L}^{-1}$ ); y a su alta *competencia por nutrientes y espacio*, entendida como el desigual comportamiento de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando la utilización del mismo por uno de los organismos reduzca la cantidad disponible para los demás. Un factor esencial para que exista competencia es que se halla en cantidades insuficientes de un elemento, si hay exceso no hay competencia. La competencia más común es por nutrientes, oxígeno o espacio y, por último, la desactivación de las enzimas de los patógenos (Benítez *et al.*, 2004).

El género *Trichoderma* es un Ascomycete, perteneciente al orden Hypocreales Mitospóricos, a la familia Hypocreaceae, cuyo estado anamorfo es *Trichoderma*, y su telomorfo es *Hypocrea*. Este hongo es cosmopólita en suelo y se halla en madera en descomposición y en material vegetal, las especies de *Trichoderma* son frecuentes componentes dominantes de la microflora del suelo en una amplia variedad de hábitats, esta capacidad es atribuida al diverso potencial metabólico de las especies de *Trichoderma* y a su agresiva competencia natural (Samuels, 2006). *Trichoderma* spp. es bien conocido por la producción de enzimas líticas y la penetración de hifas de éste en el hongo fitopatógeno, tal fenómeno ha sido considerado como la base del antagonismo. Además, se ha demostrado que la interacción de *Trichoderma* spp. con su huésped es específica y controlada por componentes presentes en la pared celular del fitopatógeno, lo cual hace que estos microorganismos sean reconocidos y posteriormente atacados.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad antagonica de 73 aislamientos de *Trichoderma* spp. de la colección de hongos filamentosos de la Unidad de Biotecnología y Control Biológico de la CIB sobre algunas especies de fitopatógenos tales como *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Hongos antagonistas empleados:** colección de 73 aislamientos de *Trichoderma* previamente identificados (Hoyos–Carvajal *et al.*, 2008), pertenecientes a la colección de hongos filamentosos de la Corporación para Investigaciones Biológicas, en Medellín (tabla 1) procedentes de Colombia, Ecuador y Perú, los cuales se cultivaron en medio selectivo para *Trichoderma* (Elad *et al.*, 1980) y en Agar Papa Dextrosa (PDA), según se requiriera.

**Hongos fitopatógenos:** colección de hongos fitopatógenos formadores de esclerocios los cuales se encontraban en la Unidad de Biotecnología y Control Biológico de la CIB; *Sclerotinia* proveniente de habichuela (*Phaseolus vulgaris*), *Sclerotinia* proveniente de repollo (*Brassica oleracea var. capitata*), *Sclerotinia* proveniente de pimentón (*Capsicum* spp.), *Rhizoctonia* proveniente de arroz (*Oriza sativa*), *Rhizoctonia* proveniente de fríjol (*Phaseolus vulgaris*); la cual fue recuperada de plántulas de fríjol, su identificación se realizó de acuerdo con las características descritas por Barnett y Hunter (1998). Estos aislamientos fueron cultivados en PDA (tabla 2).

**Pruebas de antagonismo *in vitro*:** cada uno de los aislamientos de *Trichoderma* spp. y cada fitopatógeno se evaluó según la metodología descrita a continuación. En una caja de Petri con PDA se pone un disco de 5 mm de diámetro de un cultivo del hongo fitopatógeno durante el tiempo necesario para que este inicie su crecimiento micelial. Transcurrido éste periodo de acondicionamiento, se siembra al lado opuesto, a una distancia de 3 cm, un disco de 5 mm de diámetro de un cultivo de cada aislamiento de *Trichoderma* spp. Se prepararon tres réplicas por cada pareja de disco y se dejaron en incubación hasta la toma de datos; bajo condiciones de 25 a 30°C. Como control, se utiliza un disco de micelio del patógeno sin el antagonista.

**Tabla 1. Aislamientos de *Trichoderma* spp. probados como antagonistas en sistemas *in vitro* sobre aislamientos de *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp.**

Código	Especie	Municipio – Localidad	País	Hábitat
CIB T01	<i>T. koningiopsis</i>	Antioquia, Marinilla	Colombia	Rizósfera de <i>Impatiens</i>
CIB T02	<i>T. harzianum</i>	Antioquia, Marinilla	Colombia	Rizósfera de <i>Cyphomandra betacea</i>
CIB T03	<i>T. harzianum</i>	Antioquia, Carmen de V.	Colombia	Rizósfera de <i>Jasminum</i>
CIB T04	<i>T. asperellum</i>	Tolima, Ibagué	Colombia	Rizósfera de <i>Oriza sativa</i>
CIB T05	<i>T. asperellum</i>	Tolima, Ibagué	Colombia	Rizósfera de <i>Oriza sativa</i>
CIB T06	<i>T. virens</i>	Tolima, Espinal	Colombia	Rizósfera de <i>Oriza sativa</i>
CIB T07	<i>T. harzianum</i>	Tolima, Espinal	Colombia	Rizósfera de <i>Gossypium</i> sp.
CIB T08	<i>T. virens</i>	Santander, Villanueva	Colombia	Rizósfera de <i>Nicotiana tabacum</i>
CIB T09	<i>T. asperellum</i>	Antioquia, Marinilla	Colombia	Rizósfera de <i>Cyphomandra betacea</i>
CIB T10	<i>T. viridescens</i>	Antioquia, Caldas	Colombia	Rizósfera de <i>Impatiens</i>
CIB T11	<i>T. harzianum</i>	Antioquia, Caldas	Colombia	Rizósfera de <i>Impatiens</i>
CIB T12	<i>T. asperellum</i>	Risaralda, Pereira	Colombia	Rizósfera de <i>Morus</i> sp.
CIB T13	<i>T. longibrachiatum</i>	Risaralda, Marsella	Colombia	Rizósfera de <i>Musaceae</i>
CIB T14	<i>T. longibrachiatum</i>	Risaralda, Marsella	Colombia	Rizósfera de <i>Musaceae</i>
CIB T15	<i>T. harzianum</i>	Antioquia, Marinilla	Colombia	Rizósfera de <i>Impatiens</i>
CIB T16	<i>T. harzianum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T17	<i>T. harzianum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T18	<i>T. longibrachiatum</i>	Antioquia, Caldas	Colombia	Rizósfera de <i>Guadua angustifolia</i>
CIB T19	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T21	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T25	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T26	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T28	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T29	<i>T. longibrachiatum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T30	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T31	<i>T. asperellum</i>	Antioquia, El Peñol	Colombia	Rizósfera de <i>Cyphomandra betacea</i>
CIB T32	<i>T. asperellum</i>	Antioquia, Entrerrios	Colombia	Rizósfera de <i>Impatiens</i>
CIB T33	<i>T. asperellum</i>	Antioquia, Entrerrios	Colombia	Rizósfera de <i>Brassica oleracea</i>
CIB T34	<i>Trichoderma</i> spp.	Chocó, Riosucio	Colombia	Rizósfera de <i>Carica papaya</i>
CIB T35	<i>T. harzianum</i>	Chocó, Riosucio	Colombia	Rizósfera de <i>Zingiber officinale</i>
CIB T36	<i>T. harzianum</i>	Antioquia, Entrerrios	Colombia	Rizósfera de <i>Cyphomandra betacea</i>
CIB T37	<i>T. brevicompactum</i>	Magdalena, Tayrona	Colombia	Suelo de nido de hormiga arriera
CIB T38	<i>T. asperellum</i>	Antioquia, Medellín	Colombia	Fruto de <i>Persea americana</i>
CIB T39	<i>T. asperellum</i>	Antioquia, Caldas	Colombia	Rizósfera de <i>Coffea</i>
CIB T40	<i>T. harzianum</i>	Antioquia, Caldas	Colombia	Rizósfera de <i>Impatiens</i>
CIB T41	<i>T. harzianum</i>	Antioquia, Caldas	Colombia	Rizósfera de <i>Impatiens</i>

Continúa en la siguiente página→

**Tabla 1. Continuación**

Código	Especie	Municipio – Localidad	País	Hábitat
CIB T42	<i>T. harzianum</i>	Antioquia, Caldas	Colombia	Suelo de jardín
CIB T43	<i>T. harzianum</i>	Antioquia, Marinilla	Colombia	Rizósfera de <i>Impatiens</i>
CIB T44	<i>T. harzianum</i>	Magdalena, Tayrona	Colombia	Hojarasca
CIB T45	<i>T. asperellum</i>	Antioquia, Sabaneta	Colombia	Rizósfera de <i>Citrus sinensis</i>
CIB T46	<i>T. asperellum</i>	Risaralda, Marsella	Colombia	Rizósfera de <i>Musa paradisiaca</i>
CIB T47	<i>T. asperellum</i>	Risaralda, Marsella	Colombia	Rizósfera de <i>Musa paradisiaca</i>
CIB T48	<i>T. asperellum</i>	Antioquia, Caldas	Colombia	Rizósfera de <i>Impatiens</i>
CIB T49	<i>T. harzianum</i>	Antioquia, Caldas	Colombia	Rizósfera de <i>Musa paradisiaca</i>
CIB T50	<i>T. asperellum</i>	Antioquia, Caldas	Colombia	Rizósfera de <i>Musa paradisiaca</i>
CIB T51	<i>T. asperellum</i>	Cotopaxi	Ecuador	Pastizal
CIB T52	<i>T. harzianum</i>	Macchu Picchu	Perú	Pastizal
CIB T53	<i>T. harzianum</i>	Santander, Capitanejo	Colombia	Rizósfera de <i>Nicotiana tabacum</i>
CIB T55	<i>T. harzianum</i>	Santander, Pinchote	Colombia	Rizósfera de <i>Nicotiana tabacum</i>
CIB T56	<i>T. harzianum</i>	Santander, Villanueva	Colombia	Rizósfera de <i>Nicotiana tabacum</i>
CIB T57	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T59	<i>T. harzianum</i>	Santander, Villanueva	Colombia	Rizósfera de <i>Nicotiana tabacum</i>
CIB T60	<i>T. harzianum</i>	Santander, Pinchote	Colombia	Rizósfera de <i>Nicotiana tabacum</i>
CIB T61	<i>T. harzianum</i>	Santander, Villanueva	Colombia	Rizósfera de <i>Nicotiana tabacum</i>
CIB T62	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T63	<i>T. harzianum</i>	Santander, Villanueva	Colombia	Rizósfera de <i>Nicotiana tabacum</i>
CIB T71	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T73B	<i>T. brevicompactum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T83	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T84	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T98	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T109	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T110	<i>T. asperellum</i>	Región incierta	Colombia	Suelo
CIB T113	<i>T. asperellum</i>	Cesar, San Alberto	Colombia	Rizósfera de <i>Elaeis</i> spp.
CIB T114	<i>T. asperellum</i>	Cesar, San Alberto	Colombia	Rizósfera de <i>Elaeis</i> spp.
CIB T115	<i>T. asperellum</i>	Cesar, San Alberto	Colombia	Rizósfera de <i>Elaeis</i> spp.
CIB T116	<i>T. koningiopsis</i>	Cesar, San Alberto	Colombia	Rizósfera de <i>Elaeis</i> spp.
CIB T117	<i>T. asperellum</i>	Cesar, San Alberto	Colombia	Rizósfera de <i>Elaeis</i> spp.
CIB T118	<i>H. jecorina</i>	Cesar, San Alberto	Colombia	Rizósfera de <i>Elaeis</i> spp.
CIB T119	<i>H. jecorina</i>	Cesar, San Alberto	Colombia	Rizósfera de <i>Elaeis</i> spp.
CIB T120	<i>T. asperellum</i>	Cesar, San Alberto	Colombia	Rizósfera de <i>Elaeis</i> spp.
CIB T121	<i>T. asperellum</i>	Antioquia, Cisneros	Colombia	Rizósfera de <i>Saccharum officinale</i>
CIB T124	<i>T. asperellum</i>	Antioquia, La Unión	Colombia	Rizósfera de <i>Solanum tuberosum</i>

**Tabla 2. Aislamientos de *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp. usados para pruebas de antagonismo con *Trichoderma* spp.**

Código	Género	Hospedero	Localidad
Sp 1	<i>Sclerotinia</i> spp.	Pimentón ( <i>Capsicum annuum</i> var. <i>annuum</i> )	Rionegro, Antioquia
Sh 2	<i>Sclerotinia</i> spp.	Habichuela ( <i>Phaseolus vulgaris</i> var. <i>vulgaris</i> )	Santuario, Antioquia
Sr 3	<i>Sclerotinia</i> spp.	Repollo ( <i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> )	Santuario, Antioquia
Ra 1	<i>Rhizoctonia</i> spp.	Arroz ( <i>Oriza sativa</i> )	Palmira, Cali
Rf 2	<i>Rhizoctonia</i> spp.	Fríjol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	Santuario, Antioquia

**Lectura de ensayos:** en cada ensayo se evalúan los criterios de porcentaje de inhibición del crecimiento micelial del patógeno (Royse y Ries, 1978). Después de sembrar el antagonista en las cajas, la actividad de los aislamientos de *Trichoderma* se clasifica de acuerdo con el grado basado en una escala de 1 a 5 en la cual 1 es el 100% de micoparasitismo y 5 es 0% de micoparasitismo. Un aislamiento se considera antagonista contra el patógeno si el promedio es  $\geq 3$ . A un tratamiento que obtenga un promedio entre 2 y 3 no se le asigna clasificación.

**Análisis estadísticos:** para determinar diferencias en el efecto de las cepas de *Trichoderma* sobre la inhibición del radio micelial del patógeno ( $P \leq 0,05$ ) se analiza con la prueba de Kruskal-Wallis (estadística no paramétrica) y para detectar diferencias entre tratamientos se hacen gráficos de Box and Wisker plots, en los que se determina cuáles de los tratamientos (aislamientos de *Trichoderma*) presentan mayor grado de micoparasitismo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según la técnica descrita por Royse y Ries (1978) para la realización de pruebas de antagonismo, debe haber un periodo de acondicionamiento del hongo fitopatógeno, el cual se ve reflejado en el crecimiento sobre el medio de cultivo y varía con respecto a la tasa de crecimiento de cada fitopa-

tógeno; para *Sclerotinia* 48 h (los tres aislamientos), para *Rhizoctonia* de arroz menos de 12 h, y para *Rhizoctonia* de fríjol 24 h.

En los resultados obtenidos de los análisis estadísticos en la prueba de Kruskal-Wallis, un valor de  $P \leq 0,05$  indica que en todos los tratamientos se encontraron diferencias significativas, como se muestra en la tabla 3. Según los análisis Box and Wister plots, se encontró que los aislamientos *T. asperellum* T51 y *T. harzianum* T53 resultaron tener antagonismo *in vitro* sobre cinco de los seis aislamientos de fitopatógenos evaluados. Estos aislamientos antagonicos pertenecen a especies diferentes y proceden de hábitats muy diferentes del que fueron tomados los fitopatógenos. También puede afirmarse que la mayoría de hongos con actividad antagonica especifica sobre los diferentes fitopatógenos corresponde a aislamientos de *T. asperellum*, especie que constituye el 49% de aislamientos probados, así como *T. harzianum*, que es el 31,5%.

En contraste, el aislamiento que demostró tener un grado de antagonismo mas bajo en las pruebas realizadas corresponde a *T. harzianum* T21, lo que indica que aislamientos de una misma especie de *Trichoderma* son específicos en su actividad micoparasítica, por tanto, no se puede generalizar al decir que determinadas especies de *Trichoderma* son buenas antagonistas, ya que esto depende del aislamiento en particular y su capacidad de atacar de forma concreta a cepas

**Tabla 3. Aislamientos de *Trichoderma* con alto grado de antagonismo in vitro sobre *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp. según prueba Kruskal-Wallis.**

Código	Género	Valor P	Aislamientos de <i>Trichoderma</i> con mayor grado de micoparasitismo <sup>1</sup>
Sp 1	<i>Sclerotinia</i> spp.	0,00	T2, T4, T5, T6, T7, T9, T16, T17, T25, T26, T28, T31, T32, T33, T34, T35, T36, T40, T46, T50, <b>T51, T53</b> , T56, T83.
Sh 2	<i>Sclerotinia</i> spp.	169x10 <sup>-12</sup>	T2, T4, T5, T6, T9, T16, T17, T25, T26, T28, T31, T32, T33, T34, T35, T36, T40, T46, T50, <b>T51, T53</b> .
Sr 3	<i>Sclerotinia</i> spp.	3.818x10 <sup>-10</sup>	T3, T7.
Ra 1	<i>Rhizoctonia</i> spp.	4.61x10 <sup>-5</sup>	T3, T4, T6, T7, T10, T11, T12, T14, T17, T19, T25, T26, T28, T32, T33, T34, T35, T36, T37, T40, T46, T47, T49, T50, T51, T53, T55, T57, T59, T60, T71, T84, T98, T110, T113, T114, T115, T119, T123.
Rf 2	<i>Rhizoctonia</i> spp.	3.229x10 <sup>-10</sup>	T43, <b>T51, T53</b> , T55, T56, T62, T63, T98, T114, T115, T116, T117, T118, T119, T123.

<sup>1</sup> Según escala Royse y Ries (1978).

Aislamientos en negrilla son antagonísticos para la mayoría de fitopatógenos evaluados.

determinadas de hongos fitopatógenos. Esto es soportado por numerosos reportes de literatura en los cuales diversas especies de *Trichoderma* han sido reportadas como antagonistas en hongos formadores de esclerocios y es claro que son atributos de aislamientos particulares, no de especies (Elad *et al.*, 1980; Elad 1983; Hjeljord y Tronsmo, 1998; Howell, 2006).

En cuanto a *T. brevicompactum* T37, *T. koningiopsis* y *T. reesei* T118 y T119, presentan antagonismo contra un único aislamiento de los fitopatógenos probados. De éstas, *T. brevicompactum* es una especie recientemente descrita en la literatura (Krauss *et al.*, 2004), que se halla restringida al Caribe y de la cual no existen antecedentes como micoparásito de fitopatógenos.

En este estudio se probaron 73 aislamientos de *Trichoderma* spp. mediante ensayos *in vitro* que presentaron grado de micoparasitismo variable, calificado con la escala diseñada para tal efecto (figura 1), en los cuales se observó que la tasa de crecimiento del fitopatógeno no afecta la actividad micoparasítica de las especies de *Trichoderma* spp., es decir, una invasión temprana del medio

de crecimiento por parte del fitopatógeno no impide o compite por crecimiento con *Trichoderma*, por el contrario, este crecimiento micelial precoz del hongo fitopatógeno puede ser rápidamente colonizado y parasitado por *Trichoderma* spp. Pero esta observación sólo puede llevarse a cabo excediendo los tiempos de lectura recomendados por los autores de la escala de micoparasitismo (Royse y Ries, 1978), como se observó en los ensayos con los aislamientos de *Rhizoctonia* spp.

Aunque generalmente las especies de *Trichoderma* son de crecimiento rápido y en pocas horas pueden cubrir la superficie de la caja de Petri, que un aislamiento sea de crecimiento lento no lo excluye como buen antagonista, ya que según Cundom *et al.* (2002), dicha característica, la tasa de crecimiento, no es obstáculo para que en tales hongos puedan encontrarse aislamientos de buen potencial antagonístico.

Por tanto, las pruebas *in vitro* para determinar la capacidad antagonística de un microorganismo con respecto a otro no representan necesariamente el grado de antagonismo y de control biológico en condiciones naturales, pero reflejan la capacidad



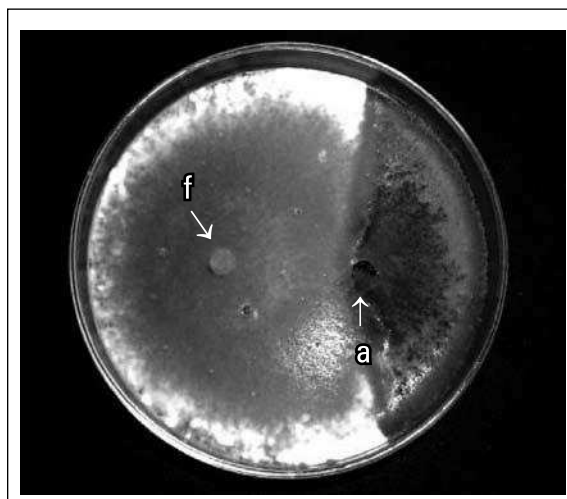
y la variabilidad genética del antagonista y la del fitopatógeno de invadir o crecer en una caja de Petri o en condiciones *in vitro*. Es de anotar que dichas pruebas y la escala planteada permiten básicamente cuantificar competencia por nutrientes en el medio controlado, mas no cuantificar como tal el micoparasitismo o antagonismo; porque en

tal caso se podría afirmar que si un aislamiento fitopatógeno tiene una tasa de crecimiento mas rápida que el aislamiento del *Trichoderma*, entonces éste sería antagonista evaluado como grado 3, 4 y 5 en la escala de Royse y Ries (1978) (tabla 4 y figura 1). Las pruebas de antagonismo *in vitro* permiten realizar la selección preliminar de

**Tabla 4. Escala de micoparasitismo, según Royse y Ries (1978).**

Grado	Micoparasitismo	Porcentaje de cubrimiento del antagonista de la superficie del medio
1	El antagonista cubre en un 100% el micelio del fitopatógeno.	100 %
2	El antagonista cubre en un 75% el micelio del fitopatógeno.	75%
3	El antagonista cubre en un 50% el micelio del fitopatógeno.	50%
4	El antagonista cubre en un 25% el micelio del fitopatógeno.	25%

aislamientos con rápido crecimiento en sistemas controlados, es decir, miden competencia, no así micoparasitismo, para el cual se requieren observaciones microscópicas en las que se vea una interacción directa entre estructuras del antagonista y del fitopatógeno y, en virtud a esto, evaluar la capacidad micoparasítica. Invariablemente, las pruebas de antagonismo *in vitro* requieren ser corroboradas en condiciones de invernadero y campo, porque no siempre los hongos que actúan como antagonistas bajo condiciones controladas tienen la capacidad potencial de usarse en el control biológico, como se ha demostrado en otros experimentos con aislamientos usados en este estudio (Hoyos-Carvajal *et al.*, 2008). Esto se debe a que el hongo antagonista puede modificar o actuar diferente de acuerdo con las características del suelo y las sucesiones microbianas particulares en sistemas *in vivo* (Garveba *et al.*, 2004).



**Figura 1. Colonización *Trichoderma* spp. (a) sobre micelio de *Sclerotinia* (f).**




---

## AGRADECIMIENTOS

A la Unidad de Biotecnología y Control Biológico de la Corporación para Investigaciones Biológicas (CIP), Medellín, por la financiación de este estudio.




---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. 2005. Fitopatología. 2a ed. Editorial Limusa, México D.F.
- Barnett, H.L. y B.B. Hunter. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4<sup>th</sup> ed. American Phytopathological Society, New York, NY.
- Benítez, T.; A.M. Rincón; M.C. Limón y A.C. Codón. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. Intl. Microbiol. 7(4), 249-260.
- Castro, B.L. 1995. Antagonismo de algunos aislamientos de *Trichoderma koningii*, originados en suelo colombiano contra *Rosellinia bunodes*, *Sclerotinia sclerotium* y *Pythium ultimum*. Fitopatol. Colomb. 19(2), 7-18.
- Chincholkar, S. y K.J. Mukerji. 2007. Biological control of plant diseases. Haworth Press, New York, NY.
- Cundom, M.A.; S.M. Mazza de Gaiad; M.A. Mazzati de Castañon; S.A. Gutiérrez de Arriola y M. Coutinho. 2002. Actividad antagónica *in vitro* de Hongos saprófitos sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. En: <http://www.unne.edu.ar/cyt/agrarias/a-037.pdf>; consulta: abril de 2008.
- Elad, Y.; I. Chet y J. Katan. 1980. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotinia rolfisii* and *Rhizoctonia solani*. Phytopathol. 70(2), 119-121.
- Elad, Y.; I. Chet; P. Boyle y Y. Henis. 1983. Parasitismo of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfisii* scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. Phytopathol. 73, 85-88
- Fravel, D.R. 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. Annu. Rev. Phytopathol. 43(2), 337-359.
- Garveba, P.; J.A. van Veen y J.D. van Elsas. 2004. Microbial diversity in soil: Selección of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. Annu. Rev. Phytopathol. 42(2), 243-270
- Gilligan, C.A.; S.A. Simons y H.A. Hide. 1996. Inoculum density and spacial pattern of *Rhizoctonia solani* in field crops of *Solanum tuberosum*: effects of cropping frequency. Plant Pathol. 45(2), 232-244.
- Harman, G. 2000. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. Plant. Dis. 84(4), 377-393.
- Hjeljord, L. y A. Tronsmo. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. pp. 131-151. En: Harman, G.E. y C.P. Kubicek (eds.). *Trichoderma* and *Gliocladium*. Vol. 2. Enzymes, biological control and commercial applications. Taylor & Francis, London.
- Hoyos-Carvajal, L.; P. Chaparro; M. Abramsky; I. Chet y S. Orduz. 2008. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfisii* bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. Agron. Colomb. 26(3), 451-458.
- Howell, C.R. 2006. Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. Phytopathol. 96(2), 178-180
- Kraus, G.F.; I. Druzhinina; W. Gams; J. Bissett; D. Zafari; G. Szakacs; A. Koptchinski; H. Prillinger; R. Zare y C.P. Kubiek. 2004. *Trichoderma brevicompactum* sp. nov. Mycol. 96(5), 1059-1073.
- Nico, A.I.; C.I. Mónaco; G. Dal Bello y H. Alippi. 2005. Efecto de la adición de enmiendas orgánicas al

- suelo sobre la capacidad patogénica de *Rhizoctonia solani*: ii. Micoflora asociada y antagonismo *in vitro* de los aislados más frecuentes. Rev. Inv. Agrop. 34(1), 29-44.
- Royse, D.J. y S.M. Ries. 1978. The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. Phytopathol. 68, 603-607
- Samuels, G.J. 2006. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. Phytopathol. 96(2), 195-206.
- Schwartz, H.F. y M. Pastor-Corrales. 1988. El moho blanco del frijol y su control. Guía de estudio. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.
- Strange, R.N. y P.R. Scott. 2005. Plant disease: A threat to global food security. Annu. Rev. Phytopathol. 43(2), 83-116.
- Ulloa, M. y R.T. Hanlin. 2000. Illustrated dictionary of mycology. APS Press, St. Paul, MI.