

# EVALUACION DE *Trichoderma* spp. (Promot. Plus) COMO AGENTE DE CONTROL BIOLOGICO CONTRA *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri* EN GERBERA (*Gerbera jamesonii*)

Cobos P., N.H.<sup>1</sup>; J. Sahagún C.<sup>1</sup>; S. Romero C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Depto. de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. C.P. 56230.

<sup>2</sup> Depto. Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. C.P. 56230

**RESUMEN.** Entre los problemas que enfrenta la producción de flores de gerbera en México destacan los de origen fitosanitario causados por *Phytophthora drechsleri* y *Fusarium oxysporum*; el daño que producen estos hongos puede significar hasta la pérdida total de este cultivo ornamental. Aunque el control químico es positivo, sus efectos colaterales negativos han estimulado la búsqueda de otros tipos de control. Entre ellos, el uso de *Trichoderma* spp. se ha sugerido como un medio de control biológico. Con el objetivo principal de estudiar el efecto de *Trichoderma* como un agente de control biológico de enfermedades fungosas en el cultivo de gerbera en invernadero, se realizó un experimento usando un diseño en bloques al azar con ocho repeticiones en el que se estudiaron tres factores con dos niveles cada uno. Los resultados indicaron que el porcentaje de plantas sanas se incrementa en forma estadísticamente significativa tanto por el efecto de la aplicación de *Trichoderma*, en su formulación de "Promot Plus" como por la utilización de un medio de cultivo a base de tezontle en lugar de uno combinado. Los efectos de los niveles del (infestación con *P. drechsleri* o con *F. oxysporum*) no difirieron estadísticamente. Entre las interacciones sólo la de los factores relativos al tipo de sustrato y al control con *Trichoderma* spp. resultó ser estadísticamente significativa.

**PALABRAS CLAVE:** Patógenos del suelo, suelos supresivos, control biológico, hongos benéficos.

## EVALUATION OF *Trichoderma* spp. (Promot Plus) AS BIOLOGICAL CONTROL AGENT OF *Fusarium oxysporum* AND *Phytophthora drechsleri* IN GERBERA (*Gerbera jamesonii*).

**SUMMARY.** Among the problems that production of flowers of gerbera has to face in Mexico are those related to the diseases caused by *Phytophthora drechsleri* and *Fusarium oxysporum*. These can cause a total loss. Although chemical control is effective, negative collateral effects have stimulated the search for biological control. To study the effect of *Trichoderma* spp. as a biological control of these diseases of gerbera an experiment was conducted to study three factors, each with two levels, using a randomized complete block design and eight replicates. Results indicate that percentages of healthy plants is significantly increased by the application of *Trichoderma* spp. and by the use of "tezontle" as substrate. The effects of the levels of (infestation with *P. drechsleri* or *F. oxysporum*) were not significantly different. The only one statistically significant interaction was that between the two factors.

**KEY WORDS.** Soil borne pathogens, suppressive soils, biological control.

### INTRODUCCION

Una planta de gerbera produce de 15 a 20 flores por año, pero este rendimiento puede verse afectado por ciertos factores como son: los problemas fitosanitarios causados por plagas, deficiencias nutrimentales, competencia de malezas y enfermedades. Dentro de las enfermedades fungosas, la gerbera es especialmente susceptible a patógenos del suelo, como *Phytophthora cryptogea*, *Verticillium* spp., *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. Estos han sido tradicionalmente controlados por fungicidas, con las desventajas que presentan al ocasionar daños a los cultivos por malos manejos (sobredosisificación), aparición

de especies resistentes a los agroquímicos, contaminación del ambiente, entre otros (Herrerros, 1976). Ante estos problemas, varios investigadores (Chet y Baker, 1981; Liu y Baker, 1980) han contemplado otra alternativa, el uso de *Trichoderma* spp. como agente de control biológico. La evaluación de esta característica constituye el objeto de estudio del presente trabajo. En virtud de que el desarrollo de enfermedades fungosas está muy asociado con la disponibilidad de humedad que, a su vez, se relaciona con el tipo de sustrato, esta investigación fue diseñada con el fin de estudiar, además del efecto de *Trichoderma* spp., el efecto de dos tipos de sustratos en la sanidad de plantas de gerbera respecto a *P. drechsleri* y *F. oxysporum*.

## REVISION DE LITERATURA

El género *Trichoderma* se caracteriza por: micelio de crecimiento rápido, colonias hialinas, conidióforos ramificados que terminan en macizos con divergencias, a menudo inclinados irregularmente, con fiálides en forma de botella, en algunas especies los conidióforos pueden terminar en apéndices estériles y, entonces las fiálides nacen de ramas laterales; los conidios son hialinos o más comúnmente verdes con paredes rugosas o lisas; las clamidosporas son hialinas, y generalmente se encuentran presentes en el micelio de cultivos viejos (Domsch *et al.*, 1980).

Las especies de *Trichoderma* se encuentran ampliamente distribuidas en todo el mundo y en casi todos los suelos. Se encuentran también sobre la superficie de las raíces de varias plantas (Parkinson *et al.*, 1963); sobre corteza en descomposición, especialmente cuando se daña por otro hongo (Danielson y Davey, 1973); y sobre esclerocios o propágulos de otros hongos (Wells *et al.*, 1972).

*Trichoderma* spp. es un antagonista natural de varios hongos patógenos que se desarrollan en los suelos y ha sido aplicado con buen éxito como agente de control biológico en invernaderos y en condiciones de campo. Es un eficiente micoparásito de un amplio número de patógenos fungosos, incluyendo *Armillaria mellea*, *Phytophthora* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Heterobasidion annosum* y *Chondrostereum purpureum* (Anónimo, 1986). Las especies de *Trichoderma* usadas comúnmente dentro del control biológico son: *T. viride*, *T. hamatum*, *T. polysporum*, *T. Koningii* y *T. harzianum*.

En 1990, Hsu, citado por Pryor (1991), desarrolló una técnica para obtener cultivares de *Trichoderma* resistentes a fungicidas, a partir de dichos procedimientos obtuvo un nuevo producto a base de *T. koningii* y *T. harzianum* el cual fue registrado bajo el nombre de "Promot Plus".

El mecanismo de *Trichoderma* para el control biológico es principalmente un micoparasitismo y competencia agresiva contra los patógenos. *Trichoderma* ataca al hongo hospedero envolviéndolo con sus hifas, y atrapándolo. Las hifas también suelen penetrar al micelio del hongo hospedero degradando parcialmente la pared celular; si bien esta penetración puede o no ocurrir, la hifa susceptible es vacuolada, colapsada y, finalmente, desintegrada. *Trichoderma* spp. puede producir glucanasa, quitinasa y celulasa para lizar y solubilizar el micelio del hongo hospedero.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en un invernadero del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo. Utilizándose el cultivar Marie Louise, de la Compañía Florist de Kwakel, localizada en Aalsmeer, Holanda. Las plantas de gerbera se sembraron el día 21 de mayo de 1994 en bolsas de polietileno negro, calibre 600, de tamaño 40 x 45 cm, de 18 litros de capacidad. Este cultivar se caracteriza por capítulos florales de 10 cm de diámetro, color lila de centro negro, pedúnculos largos y una producción de 1.7 flores por planta al mes. Se utilizaron dos tipos de sustratos; uno consistió en una mezcla de 60% de germinaza, 25% de agrolita y 15% de grava de tezontle rojo y el otro sustrato fue sólo grava de tezontle rojo. Antes de ser utilizados se desinfectaron usando bromuro de metilo (Fumigran) a una concentración de 48 g·m<sup>-3</sup>. El cultivo se manejó en hidroponía, utilizando solución nutritiva: 300 ppm de N; 60 ppm de P; 300 ppm de K; 400 ppm de Ca; 75 ppm de Mg; 1.0 ppm de Fe; 0.5 ppm de B; 0.5 ppm de Mn; 0.05 ppm de Cu. Para suministrar las concentraciones anteriores se emplearon fertilizantes comerciales. El pH de la solución se mantuvo en un intervalo de 6 a 6.5, que es el óptimo para este cultivo.

### Diseño experimental

El experimento se realizó utilizando un diseño de bloques al azar con tres factores, cada uno con dos niveles (aplicación o no de *Trichoderma*, tipo de sustrato y tipo de patógeno *P. drechsleri* y *F. oxysporum*). De la combinación de los factores y sus respectivos niveles se obtuvieron ocho tratamientos. El número de repeticiones fue de ocho resultando 64 unidades experimentales, cada una con cinco plantas de gerbera.

### Obtención y preparación del inóculo

Para obtener propágulos de *F. oxysporum* y *P. drechsleri* se realizaron muestreos de plantas que presentaban los síntomas producidos por estas enfermedades. Estos muestreos se llevaron a cabo en la empresa Zumpafior, en Villa Guerrero, Edo. de México y en los invernaderos del Departamento de Fitotecnia de la UACH. Con las raíces y corona del material enfermo se realizaron los procedimientos de aislamiento y purificación, sembrando estas muestras de cajas de petri con papa-dextrosa-agar y jugo de tomate agar como medios de cultivo. Después de 72 horas de incubación se tomaron pequeñas muestras del micelio de las cajas para su identificación al microscopio. De acuerdo con

las características de las estructuras fructíferas observadas, y con la ayuda de las claves Brooth (1971), Newhook *et al.* (1978) y Steets (1975), se determinó la presencia de *Phytophthora drechsleri*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*.

### Aplicación de los tratamientos

*Trichoderma* spp. en formulación de "Promot Plus", fue aplicada a las raíces de la plántulas de gerbera en el momento del trasplante, diluyendo 42.5 g del producto en 4 litros de agua, y sumergiendo las raíces de las plantas en esta suspensión. *Fusarium oxysporum* se aplicó a 160 plantas, se prepararon 2 litros de suspensión de conidios del patógeno, de manera que recibieran 12.5 ml de esta preparación, la cual fue inoculada a la raíz y corona con la ayuda de un riego ligero. Para inocular *Fusarium oxysporum* se hicieron pequeñas heridas en las raíces y corona de las plantas para facilitar la infección por el hongo. *Phytophthora drechsleri* se aplicó a 160 plantas; cada una recibió 12.5 ml de suspensión de zoosporas, la cual fue inoculada a la raíz y corona con la ayuda de un riego ligero. Mientras *Trichoderma* spp. fue aplicada al trasplante, la inoculación con *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri* se realizó 90 días más tarde.

### Variable de respuesta

La característica estudiada fue el porcentaje de plantas sanas, después de inocular las cepas de *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri*. Esta característica se evaluó cuando aproximadamente un 100% de las plantas que no recibieron aplicación de *Trichoderma* spp. presentaban síntomas de enfermedad.

### Reaislamiento de *Trichoderma*, *Fusarium* y *Phytophthora*

Con el fin de verificar, que los agentes causales del marchitamiento de las plantas habían sido los patógenos inoculados y, para comprobar la presencia de *Trichoderma* en las plantas sanas se tomaron 10 muestras de las raíces y corona de todos los tratamientos. En éstas se realizaron los procedimientos de aislamiento y purificación, sembrándose en cajas petri con PDA y jugo de tomate-agar como medio de cultivo. Después de 72 horas de incubación se tomaron muestras del micelio desarrollado para su identificación.

### Análisis de los datos

Con la información generada se realizó un análisis de varianza. Previamente se realizó una prueba de hipótesis con el fin de determinar si la variable que se

analizó seguía una distribución normal, o no. La prueba utilizada fue la Kolmogorov-Smirnov (SAS, 1979).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de la prueba de normalidad señalan que los datos tomados provienen de muestreos al azar practicados en poblaciones que se pueden representar adecuadamente mediante una distribución normal.

Por otra parte, los resultados producidos por el procedimiento seguido para el reaislamiento de *Trichoderma* spp., *P. drechsleri* y *F. oxysporum* confirmaron que los agentes causales de la marchitez de las plantas fueron los hongos patógenos inoculados y asimismo se comprueba la presencia de *Trichoderma* spp. en las plantas sanas.

El análisis de varianza realizado para la variable estudiada señala que los factores *Trichoderma* y sustrato tuvieron diferencias significativas ( $P = 0.05$ ) y altamente significativas ( $P = 0.01$ ), respectivamente. La interacción entre estos dos factores también resultó ser significativa (Cuadro1). No hubo significancia estadística en ninguna otra fuente de variación.

Las pruebas de comparación de medias de Tukey indica que la aplicación de *Trichoderma* spp. (promedio por parcela = 4), evitó que las plantas de gerbera fueran atacadas por *P. Drechsleri* y *F. oxysporum*, obteniendo un 83% de plantas sanas, mientras que en los tratamientos donde no se aplicó *Trichoderma* spp. (testigos), el porcentaje de plantas sanas fue de 0%.

Con respecto al sustrato, se obtuvo un mayor porcentaje de plantas sanas (45.6%) al utilizar tezontle, en comparación con un 37.5% de plantas sanas, cuando se utilizó la mezcla de sustratos. Este resultado pudo deberse a que dicha mezcla tiene mayor capacidad de retención de agua que el tezontle, y por tanto los hongos patógenos se vieron favorecidos por este medio húmedo.

En cuanto a la interacción entre sustratos y *Trichoderma*, que resultó ser significativa, se observa cómo el comportamiento relativo de un tipo de sustrato con respecto al del otro cambia cuando no se aplica, a cuando si se aplica *Trichoderma* spp. En ausencia de *Trichoderma* spp. el número medio de plantas resultó ser igual a cero en ambos sustratos; sin embargo, cuando se aplicó *Trichoderma* se observa cómo el sustrato de tezontle fue el que mejor uso hizo de tal aplicación, generando una media de plantas sanas por parcela de 4.56 (91%), que fue superior a la que se ob-

CUADRO 1. Análisis de varianza del porcentaje de plantas sanas de gerbera.

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrado medio	
Bloque	7	0.2834	NS
Sustrato (S)	1	2.6406	*
Trichoderma (T)	1	276.3906	**
Patógeno (P)	1	0.7656	NS
S x T	1	2.6406	*
T x P	1	0.7656	NS
S x P	1	0.1406	NS
S x T x P	1	0.1406	NS
Error	49	0.4722	
Total	63		
Coeficiente de variación = 33 %		Plantas sanas promedio = 2	

\*\* = Diferencias altamente significativas ( $P = 0.01$ ) ; N.S. = Diferencias no significativas ( $P = 0.05$ )

tuvo con la mezcla de sustratos de 3.7 (74.5%), Cuadro 2.

Este resultado confirma que el mejor sustrato, para la obtención de plantas sanas, independientemente del patógeno inoculado, fue el tezontle. Esta superioridad del tezontle sobre el sustrato formado por una mezcla de materiales, sólo se presenta cuando se aplica *Trichoderma* spp.

La no significancia de la interacción *Trichoderma* x patógeno, indica que la diferencia entre los efectos en número de plantas sanas obtenidas, aplicando y no *Trichoderma*, no cambia significativamente en presencia de *Phytophthora* o *Fusarium*. La interacción observada entre sustrato y *Trichoderma* se mantiene constante independientemente de la presencia de *Fu-*

*sarium* o *Phytophthora*.

## CONCLUSIONES

En las condiciones y con el tipo de materiales con que se desarrolló la presente investigación, fundamentalmente se encontró que:

La aplicación de *Trichoderma* spp., en su formulación de "Promot Plus" incrementó en forma altamente significativa el porcentaje de plantas sanas.

La utilización de sustrato de tezontle, en relación a la mezcla de sustratos, produjo un incremento significativo en el porcentaje de plantas sanas, en presencia de *Trichoderma* spp.

CUADRO 2. Medias de número y porcentajes de plantas sanas, después de inocular *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri*, en dos tipos de sustratos y con aplicación o no de *Trichoderma* spp.

<i>Trichoderma</i> spp.	SUSTRATO	
	Tezontle	Mezcla de sustratos
Presente	4.56 (91%)	3.72 (74.5%)
Ausente	0	0

## LITERATURA CITADA

- ANONIMO 1986. PROMOT PLUS, Biological Growth Promoter. J.H. Biotech, INC., Ventura, California, USA. 6 p.
- OOTH, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 237 p.
- CHET, I.; R. BAKER. 1981. Insolation and biocontrol potencial of *Trichoderma hamatum* from soil naturally supressive to *Rhichoderma solani*. *Phytopathology* 71:286-290.
- DANIELSON, R. M.; C.B. DAVEY. 1973. The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 5:485-494.
- DOMSCH, K.H.; W. GAMS; T.H. ANDERSON. 1980. Compendium of Soil Fungi. Vol. 1, London Academic, 859 p.
- HERREROS D., L.M. 1976. Cultivo de la gerbera. Hojas divulgadoras del Ministerio de Agricultura. Madrid, España. 16 p.
- LIU, S.D.; R. BAKER. 1980. Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70:404-412.
- NEWHOOK, J.F.; WATERHOUSE, M.G.; J.D. STAMPS. 1978. Tabular key to the species of *Phytophthora*. De Bary. Mycological Papers, no. 143. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey. England, 20 p.
- PARKINSON, D.; G. S. TAYLOR; R. PEARSON 1963. Studies on fungi in the root region. I. The development of fungi on young roots. *Plant Soil* 19:322-349.
- PRYOR, A. 1991. Plant Propellant. Researchers evaluate substances showing an ability to promote growth and combat plant disease. *California Farmer* 11:18-20.
- SAS. 1979. SAS, Users Guide. SAS Institute Inc. Cary, Nort Carolina, USA.
- STREETS, B.R. 1975. The diagnosis of plant diseases. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona. 1111 p.
- WELLS, H.D.; D. K. BELL; C.A. JAWORSKI. 1972. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 62:442-447.