



UTILIZACIÓN DE MICROORGANISMOS PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES EN HORTALIZAS

Ing. Agr. Pablo González

Microorganismos

- *Trichoderma* spp
- *Clonostachi* spp
- *Bacillus* spp
- *Penicillium rugulosum*
- *Pseudomonas fluorescens*



UTILIZACIÓN DE MICROORGANISMOS PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES EN HORTALIZAS

Ing. Agr. Pablo González

Sector hortícola

- *Sector mas intensivo de la agricultura,*
- *Gran demanda de mano de obra,*
- *Alto requerimiento de insumos,*
- *Cuidado de los recursos naturales,*
- *Manejo de poblaciones,*
- *Rol del técnico en este nuevo escenario.*

¿Por qué *Trichoderma* spp.?

- El género *Trichoderma* es fácil de aislar, alta velocidad de crecimiento, produce abundante esporulación, gran cantidad de enzimas que lo hacen un saprófito eficiente y un agente de control biológico en diferentes suelos agrícolas.
- Controla gran cantidad de fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Fusarium roseum*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia* spp., *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Alternaria* spp.

CUADRO: Fitopatógenos controlados por *Trichoderma* spp.

HONGOS CONTROLADOS POR <i>Trichoderma</i> spp.	ENFERMEDAD	CULTIVO
<i>Aspergillus</i> spp.	Putridión de raíces	Frutales
<i>Botrytis cinerea</i>	Moho gris	Amplio rango de cultivos como: papa, tomate, frijol, mora, flores, tomate de árbol y pudriciones en poscosecha.
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Antracnosis	Amplio rango de cultivos como: arveja, papa, tomate, frijol, mora, flores, tomate de árbol y pudriciones en poscosecha.
<i>Cylindrodium scoparium</i>	Volcamiento	Pino
<i>Fusarium moniliforme</i>	Putridión	Maíz
<i>Fusarium oxysporum</i>	Putridión	Papa, tomate, frijol, tomate de árbol, berenjena, arveja, maíz, cítricos, entre otros.
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Carbón de las raíces	Maíz, frijol, melón, ajonjolí.
<i>Phytophthora infestans</i>	Gota	Papa, pepino de agua.
<i>Phytophthora</i> spp.	Putridión	Tabaco, flores, frutales, etc.
<i>Pythium</i> spp.	Putridión Algodonosa, volcamiento	Amplio rango de cultivos.
<i>Rhizoctonia solani</i>	Putridión algodonosa, volcamiento	Zanahoria, tomate, lechuga, repollo, café, papa, arveja, cebolla, ajo, pimentón, etc.
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Putridión algodonosa, volcamiento	Habichuela, tomate, lechuga, repollo, café, papa, arveja, cebolla, ajo, pimentón, etc.
<i>Rosellinia bunodes</i>	Llaga estrellada	
<i>Rosellinia necatrix</i>	Putridión blanca de raíces	Aguacate, manzano.
<i>Verticillium</i> spp.	Marchitez por <i>Verticillium</i>	Papa

Fuente: Adaptado de Herrera - Estrella y Casallo, 1998 y Chait and Inbar, 1994

Control eficiente de patógenos que afectan tomate con *Trichoderma* spp.

<i>Alternaria solani</i>	Papa
<i>Botrytis cinerea</i>	<i>In vitro</i> , fresa, frijol, uva, Tomate
<i>Fulvia fulva</i>	Girasol
<i>Fusarium graminearum</i>	<i>In vitro</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> fsp <i>radicis lycopersici</i>	<i>In vitro</i>
<i>Fusarium solani</i>	<i>In vitro</i>
<i>Geotrichum candidum</i>	Cítrico
<i>Phytophthora cactorum</i>	Manzana
<i>Pythium aphanidermatum</i>	<i>In vitro</i>
<i>Pythium</i> spp.	Semilla
<i>Rhizoctonia damping-off</i>	Plantines
<i>Rhizoctonia solani</i>	Tomate, Berenjena, Pepino
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Tomate
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Tomate, Lechuga
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Cebolla, Melón, Tomate
<i>Verticillium dahliae</i>	Manzana

Trichoderma spp.

- La mayoría de las especies de *Trichoderma* presentan clamidosporas son estructuras de sobrevivencia. Se forman con humedad (> 75%) y temperatura (28-30°C).
- Trichoderma* produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios

Trichoderma spp. temperatura

- *Trichoderma* es un hongo aeróbico, la temperatura óptima para el crecimiento es de 20°C, aunque varía entre 25 y 30°C .
- Nico (1999) estudiaron seis especies de *Trichoderma* frente a *Sclerotinia* spp. y *Sclerotium rolfii* obtuvieron mayor colonización a 25-30°C, con diferencias entre los aislamientos. Cuando las temperaturas del suelo oscilaron entre 10°C y 15°C *Trichoderma* no creció y disminuyó su actividad antagónica.

Trichoderma spp. humedad

- El desarrollo de *Trichoderma* necesita la presencia de humedad, con un óptimo de 60% de la capacidad de retención de humedad del suelo.
- A porcentajes mayores de saturación, la colonización y sobrevivencia disminuyen por baja disponibilidad de oxígeno. Es favorecido en suelos con abundante materia orgánica.

Trichoderma spp.

- La luz y su espectro influyen en el desarrollo de *Trichoderma*, fundamentalmente sobre la esporulación y la producción de metabolitos secundarios.
- Las especies de *Trichoderma* no son exigentes con relación al pH del sustrato. Pueden crecer en suelos con pH entre 5,5 a 8,5 , aunque los valores óptimos se encuentran entre 5,5-6,5, es decir en un ambiente ligeramente ácido.

Trichoderma spp.

- Rápido crecimiento y desarrollo, produce una gran cantidad de enzimas, se desarrolla en una amplia gama de sustratos, tolera condiciones ambientales extremas,
- No se conoce como patógeno de ninguna planta,
- Puede sobrevivir en medios con contenidos significativos de pesticidas y otros químicos.

Trichoderma spp.

- El género *Trichoderma* puede degradar pesticidas organoclorados, clorofenoles, DDT, endosulfán, pentacloronitrobenzeno, aldrin y dieldrin, herbicidas como trifluralin y glifosato.
- Ya que posee enzimas tales como celulasas, hemicelulasas y xylanases que ayudan a la degradación inicial del material vegetal y por último enzimas de mayor especialización que contribuyen a la simplificación de moléculas complejas como son las de biopesticidas.

Mecanismos de acción

- Los mecanismos por los que las cepas del género *Trichoderma* desplazan al fitopatógeno son fundamentalmente;
- Competición directa por espacio o nutrientes. Parasitismo directo sobre hongos fitopatógenos. Producción de metabolitos antibióticos, ya sean de naturaleza volátil o no volátil. Inducción de resistencia.

Competencia

- Competición directa por el espacio o por los nutrientes fue estudiado ampliamente Elad et al 1983, Ahmad 1987, Chet y Ibar 1994, Belanger et al. 1995.
- La competencia se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento reduciendo la cantidad o espacio disponible para los demás.

Competencia

- Es favorecida por las características del agente control biológico como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento, tipo de suelo, pH, temperatura, humedad.
- La competencia por nutrientes puede ser por nitrógeno y microelementos o carbohidratos: azúcares celulosa, quitina, pectinas, entre otros.

Parasitismo

- Parasitismo directo de determinadas especies de *Trichoderma* sobre los hongos fitopatógenos fue estudiado por Yedidia et al. 1999, Ezziyyani et al. 2003.
- El hongo crece hacia el patógeno por quimiotropia positiva adhiriéndose a las hifas del mismo y las penetran.
- Las investigaciones han demostrado que existe un reconocimiento específico a través de interacciones lectinas-carbohidratos.

Producción de metabolitos

- Producción de metabolitos antibióticos, ya sean de naturaleza volátil o no volátil fue estudiado Chet et al. 1997, Sid Ahmed et al. 2000, Leal (2000), Sid Ahmed et al. 2003 .
- La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos.
- La antibiosis no debe ser el principal mecanismo de acción del antagonista, ya que existe el riesgo de aparición de cepas resistentes.

Producción de metabolitos

- La producción metabólica presenta especificidad. Existen un grupo de cepas de *Trichoderma* denominado "Q" que produjeron gliotoxina y fueron efectivas frente a *R. solani*, pero no frente a *Pythium ultimum*; mientras que otro grupo de cepas "P", que excretaron gliovirina mostraron resultados opuestos.
- La enzima endoquitinasa (Ech42) que causa hidrólisis en las paredes de *B. cinerea* inhibe la germinación de conidios y el crecimiento de los tubos germinativos

Producción de metabolitos

- Se identificaron los antibióticos trichodermina, gliotoxina y viridina.



Inducción de resistencia

- Inducción de resistencia fue investigada por Benitez et al. 2004, Hartman 2004 .
- Inducen mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos. Activa compuestos relacionados con la resistencia.
- Detoxificación de toxinas excretadas por patógenos y desactivación de enzimas de estos durante el proceso de infección.

Inducción de resistencia

- Solubilización de elementos nutritivos, que en su forma original no son accesibles para las plantas.
- Capacidad de crear un ambiente favorable al desarrollo radical lo que aumenta la tolerancia de la planta al estrés

Mecanismos de acción

La producción del factor inhibidor en *Trichoderma* depende más del aislamiento que de la propia especie. Aspecto este, que reafirma una vez más la búsqueda constante de nuevos aislamientos de este antagonista.

- Martínez (2008), observaron al evaluar 59 aislamientos de *Trichoderma*, En casi todos los aislamientos determinaron al menos un tipo de interacción hifal bien definida, y algunos de ello presentaron hasta cuatro tipos de interacción sobre *R. solani*. Esto favorece el control por un lado y disminuye la posibilidad de que surja resistencia en el patógeno al antagonista

Compatibilidad



Compatibilidad

- Para clasificar el efecto tóxico provocado sobre el crecimiento micelial de los hongos antagonistas se utilizó la escala recomendada por Martínez y Figueroa:
- Grado 1. Compatible, menos del 10% de afectación del crecimiento micelial (ACM)
- Grado 2. Moderadamente compatible, de 10% a 30% ACM
- Grado 3. No compatible, más del 30% ACM

Compatibilidad

Fungicida	Compatibilidad
Carbendazim	Compatible
Tebuconazol	Compatible
Azoxistrobina	Compatible
Oxícloruro de cobre	Compatible
Metalaxyl,	Compatible
Dimethomorph	Compatible
Benomil	Incompatible
Mancozeb	Medianamente compatible
Azufre	Compatible
Sulfato de cobre pentahidratado	Compatible
Fosetil de aluminio	Compatible
Abamectina	Incompatible

Compatibilidad



Se concluye que el fungicida curasemilla Carboxin +Thiram es el más compatible con el biocontrolador *Trichoderma* spp.

Principales usos

- Estimulador del crecimiento de las plantas
- Estimulador de germinación de semillas
- Protección de semillas y plantas contra el ataque de hongos patógenos
- Protección directa a suelos

Sociedad de Fomento Rural
Los Arenales
 Ruta 81 km 60.500 - Los Arenales - Canelones
 Teléfono + 53105712 sociedadfomentoarenales@gmail.com



Trichoderma Arenales

200 g

Trichoderma harzianum • Agente biológico controlador de enfermedades de cultivos hortícolas causadas por hongos que persisten en el suelo.

Producido en la SFR Arenales para distribución interna entre sus asociados, en el marco del Proyecto Más Tecnologías (MGAP-DGDR) y con el apoyo de Facultad de Agronomía.




Aplicación al sustrato en la producción de plantines

Dosis • Una bolsita de “Trichoderma Arenales” (200g) para el sustrato de 30 bandejas de celdas grandes (104 celdas de 80 cm³, bandeja de celdas grandes) equivalente a 250 litros de sustrato.

Procedimiento • Se mezclan bien el sustrato y el “Trichoderma Arenales”. Humedecer la mezcla, y cubrirla por ejemplo, con nylon de silo blanco. Dejar la pila unos cinco días para favorecer el desarrollo de “Trichoderma Arenales”. Remover el sustrato diariamente. A los cinco días el sustrato esta pronto para su utilización.

Aplicación al suelo de almácigos (producción de plantines)

Dosis • Una bolsita de “Trichoderma Arenales” (200g) por cada 100 m² de cantero de cebolla y otros cultivos (equivalente a unas 1000 esporas de Trichoderma por gramo de suelo).

Procedimiento • **1.** Mezclar una bolsita de “Trichoderma Arenales” cada 100 L de agua, con 5 cm³ de adherente dispersante o jabón. El agua debe ser de buena calidad y libre de cloro. **2.** Dejar reposar durante dos horas. **3.** Remover la mezcla y regar sobre el cantero con la mezcla. En caso de aplicar con pulverizadora filtrar con una tela o media de nylon. **4.** Se recomienda aplicar con anticipación a la siembra, unos diez días antes de plantar.

Aplicación al suelo de cultivos en invernáculo

Dosis • Para un invernáculo de 1000 m² (se estiman 500 a 600 m lineales de cantero), aplicar 5 a 6 bolsitas de “Trichoderma Arenales” (200 g cada una) si se riega sobre el ancho del cantero, o aplicar 2 a 3 bolsitas por cada 1000 m² se se aplica a través del riego.

Procedimiento • **1.** Mezclar una bolsita de “Trichoderma Arenales” cada 100 L de agua, con 5 cm³ de adherente dispersante o jabón. El agua debe ser de buena calidad y libre de cloro. **2.** Dejar reposar durante dos horas. **3.** Remover la mezcla y regar sobre el cantero con la mezcla. En caso de aplicar con pulverizadora o mediante las cintas de riego filtrar con una tela o media de nylon. **4.** Se recomienda aplicar con anticipación a la siembra, unos diez días antes de plantar.

Aplicación al cuello de las plantas de cultivos instalados

Dosis • Una bolsita de “Tricoderma Arenales” (200g) cada 30 litros de agua (concentración de 7×10^6 esporas/mL).

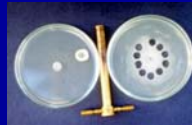
Procedimiento • 1. Mezclar una bolsita de “Tricoderma Arenales” en 30 de agua. El agua debe ser de buena calidad y libre de cloro. Agregar unas gotas de adherente dispersante o jabón líquido. 2. Dejar reposar durante 2 horas. 3. Regar con la mezcla al cuello de cada planta, 50 a 100 mL por planta. 4. En caso de usar pulverizadora de mochila filtrar con una tela o media de nylon, o aplicar sin “pastilla” para aumentar el volumen de aplicación.

Aplicación para enfermedades foliares

Dosis • Una bolsita de “Tricoderma Arenales” (200g) cada 30 litros de agua (concentración de 7×10^6 esporas/mL).

Procedimiento • 1. Mezclar una bolsita de “Tricoderma Arenales” en 30 de agua. El agua debe ser de buena calidad y libre de cloro. Agregar unas gotas de adherente dispersante o jabón líquido. 2. Dejar reposar durante 2 horas. 3. Revolver la mezcla y filtrar con una tela o media de nylon. 4. Diluir en el tanque de aplicación en 100 a 200 litros según el estado de desarrollo del cultivo.

CONTROL DE CALIDAD



Evaluación de cepas de Trichoderma spp

- Frutilla
- Morrón



Formulaciones disponibles



Bibliografía

- AHMAD JS, BAKER R. (1987) Rhizosphere Competence of *Trichoderma Harzianum*. *Phytopathology* 77:182-189
- CHET I, INBAR J. (1994) Biological control of fungal pathogens. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 48:37-43
- ELAD Y, CHET I, BOYLE P, HENNIES Y. 1983 Parasitism of *Trichoderma* sp. On *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*
- scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. *Phytopathol.*73:78.
- HARMAN GE. (2004) Mythos and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derive from research on *Trichoderma harzianum*. *Plant Disease*. 84:977-993.
- INFANTE, D, MARTINEZ, B., GONZALEZ, N., REYES Y. (2009) Mecanismos de acción de *trichoderma* frente a hongos fitopatógenos *trichoderma* mechanisms of action against phytopathogen fungi
- MARTINEZ, B., GONZALEZ, N., REYES Y, HEYKER, C. (2008) Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp.en arroz. *Rev Protección Veg.* 23(2):118-125
- NICO L, MONACO C, ROLLÁN M. Investigación agraria. Producción y protección de vegetales. 1999;14(1-2):33-48.