

CAPITULO VII

ESTUDIO DEL ANTAGONISMO DE ALGUNAS ESPECIES DE *Trichoderma* AISLADAS DE SUELOS COLOMBIANOS EN EL CONTROL DE *Fusarium oxysporum* Y *Rhizoctonia solani*.

Ricardo Elías¹ (q.e.p.d.), Omar Arcos¹ y Germán Arbeláez²

INTRODUCCIÓN

El estudio de las relaciones existentes entre los organismos del suelo ha permitido modificar ciertos factores para controlar la actividad de algunos patógenos que ocasionan enfermedades de importancia económica en diversos cultivos. El control biológico de algunos patógenos es un fenómeno natural, común en los suelos; prácticamente, todos éstos contienen organismos con potencial para suprimir el desarrollo de las enfermedades de las plantas (Linderman *et al*, 1983).

Los diversos organismos responsables del control biológico de los fitopatógenos actúan mediante los procesos de antagonismo y protección cruzada. El antagonismo ocurre mediante los mecanismos de antibiosis, competencia, lisis, predación y parasitismo (Baker, 1985).

Diversos investigadores han encontrado que ciertas especies de *Trichoderma* tienen una gran actividad antagonista sobre patógenos, como *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Sclerotium rolfsii* y *Sclerotinia sclerotiorum*, causando una reducción importante de las enfermedades que ocasionan (Elad *et al*, 1980; Sivan y Chet, 1985).

El género *Trichoderma* es un hongo muy común en casi todo tipo de suelo y sus diferentes especies se caracterizan por ser colonizadores secundarios, muy abundantes en materia orgánica en descomposición y en la superficie de las raíces de diversos tipos de plantas (Papavizas, 1985).

Rifai (1969), en la revisión taxonómica del género *Trichoderma* incluyó nueve especies; de estas especies, *T. harzianum* ha sido la más efectiva en el control biológico de diversos patógenos del suelo, seguida por las especies *T. hamatum* y *T. viride*

(Cook y Baker, 1983).

Las diferentes especies de *Trichoderma* se caracterizan por tener un crecimiento micelial rápido y una abundante producción de esporas, lo cual ayuda a la colonización de diversos sustratos y del suelo. Además, algunas especies producen antibióticos, compiten muy bien por nutrientes, son micoparásitos muy activos y son competidoras muy eficientes de la rizosfera (Papavizas, 1985; Ahmad y Baker, 1987).

Las especies *Trichoderma harzianum* y *T. hamatum* han sido especialmente eficientes en el control de *Rhizoctonia solani* (Liu y Baker, 1980; Chet, 1987). Diversos aislamientos de *Trichoderma harzianum* se registran en el control de algunas enfermedades ocasionadas por *Rhizoctonia solani* en tomate y berenjena (Hadar *et al*, 1978), frijol (Elad *et al*, 1980), fresa (Elad *et al*, 1981), clavel (Elad *et al*, 1981; Chang, 1982), habichuela (Marshall, 1982) y café (Rincón *et al*, 1992).

Aunque el control ejercido por especies de *Trichoderma* de diversas enfermedades ocasionadas por *Fusarium oxysporum* es inferior al encontrado para las enfermedades causadas por *R. solani*, se tienen algunos pocos ejemplos. Marois *et al* (1981) lograron, con una mezcla conidial de *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus ochraceus* y *Penicillium funiculosum*, una reducción apreciable de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicislycopersici* en tomate. Sivan y Chet (1985) encontraron con algunos aislamientos de *Trichoderma harzianum* una reducción de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* en algodón y *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* en melón. Kim y Jee (1988) lograron con *Trichoderma harzianum*, una reducción de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* en pepino cohombro. Locke *et al* (1982) encontraron, una reducción importante de *Fusarium oxysporum* f.sp. *chrysanthemi* en crisantemo con algunos aislamientos de *Trichoderma viride*.

Además, se ha encontrado que algunas especies de *Trichoderma* y en especial *Trichoderma harzianum*, tienen el potencial de aumentar el cre-

¹ Biólogo, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Santafé de Bogotá D.C.

² Profesor Titular, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Santafé de Bogotá D.C.

cimiento y desarrollo de las plantas; ésto parece deberse a la inhibición de patógenos menores y a la producción de factores que estimulan el crecimiento de la planta y favorecen la toma de nutrientes (Widham *et al*, 1986; Chang *et al*, 1986; Chet, 1987; Baker, 1990).

El objetivo de este trabajo fué el estudio del antagonismo de diferentes aislamientos del hongo *Trichoderma*, obtenidos de algunos suelos colombianos, sobre los patógenos *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* y *Rhizoctonia solani*.

MATERIALES Y METODOS

Los ensayos se realizaron en los laboratorios de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia en Bogotá.

Obtención e identificación de los aislamientos de *Trichoderma* y de los patógenos.

Los aislamientos de *Trichoderma* utilizados en la investigación se obtuvieron de varias muestras de suelo procedentes de la Sabana de Bogotá y del Valle de Rionegro (Antioquia), usando el medio selectivo para el genero *Trichoderma* desarrollado por Elad *et al* (1981) y el medio de cultivo Papa dextrosa agar (PDA). Para la identificación taxonómica de las especies de *Trichoderma*, cada aislamiento obtenido se desarrolló en cajas de Petri con el medio de cultivo agar-avena y se incubó a 24°C durante 2 semanas; luego, se realizaron mediciones de 100 conidias por cada aislamiento y se identificaron utilizando la clave de Rifai (1969). Para el trabajo, se seleccionaron finalmente 17 aislamientos del antagonista.

Como ayuda en la identificación taxonómica de las especies de *Trichoderma*, se realizaron pruebas de compatibilidad vegetativa entre cada uno de los aislamientos utilizando cajas de Petri con el medio agar-avena. En el centro de la caja se colocaron dos discos de agar de seis milímetros de diámetro, procedentes de aislamientos de *Trichoderma*, separados, el uno del otro, tres centímetros; las cajas se incubaron a 24°C durante 3 semanas y se replicaron 3 veces.

Como patrón de comparación, se utilizó el aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum* (identificado inicialmente como *Trichoderma hamatum*), el cual ha mostrado un gran poder antagonico contra algunos hongos fitopatogénos. Inicialmente, dicho aislamiento fué obtenido por Baker (Chet y Baker, 1981) de un suelo colombiano naturalmente supresivo a *Rhizoctonia solani* y, posteriormente

mediante mutación química se hizo tolerante a Benomil.

El aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum* fué suministrado por el profesor Ralph Baker de la Universidad Estatal de Colorado, Fort Collins, Colorado, Estados Unidos y el aislamiento de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* fué aislado de plantas de pepino cohombro cultivadas en Fusagasugá, Cundinamarca y el aislamiento RS-7-80 de *Rhizoctonia solani* provino del Programa de Frijol del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) de Palmira, Valle del Cauca.

Pruebas de antagonismo *in vitro*.

Para determinar la capacidad inhibidora y de colonización de los diferentes aislamientos de *Trichoderma* sobre los hongos patógenos *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* y *Rhizoctonia solani*, se realizaron pruebas de antagonismo *in vitro*. En cajas de Petri con PDA, se colocaron dos discos de agar de seis milímetros de diámetro, un disco procedente de un aislamiento de *Trichoderma* y el otro procedente de colonias de uno de los patógenos. Para evaluar su capacidad invasora, el diámetro de las colonias de cada uno de los hongos se registró diariamente. Las cajas de Petri se incubaron a 24°C.

Pruebas de micoparasitismo *in vitro*.

Para observar el posible parasitismo entre los aislamientos de *Trichoderma* sobre los dos hongos patógenos, se realizaron pruebas *in vitro* utilizando la técnica de microcultivos de Riddell; sobre el portaobjeto, se colocaron dos discos estériles de PDA de 4 mm de diámetro y 0,5 mm de espesor, a una distancia de 10 mm entre ellos. Sobre uno de los discos, se colocaron esporas de uno de los aislamientos de *Trichoderma* y, en el otro, se colocó una porción de micelio de uno de los patógenos y, luego, los dos discos se cubrieron con un cubreobjeto estéril. Las cajas de Petri se incubaron a 24°C y se replicaron tres veces. Posteriormente, cada ocho horas, se hicieron observaciones al microscopio.

Pruebas de Antagonismo en Plantas.

Para evaluar la capacidad antagonica de los 18 aislamientos de *Trichoderma* y su potencialidad para controlar enfermedades de plantas, se hicieron varios ensayos utilizando plantas de pepino cohombro de la variedad "Straigh Eight" inoculadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* y de plantas de frijol de la variedad "Porriño Sintético", inoculadas con *Rhizoctonia solani*.

Para estos ensayos, los aislamientos de *Trichoderma* se propagaron en cajas de Petri con PDA y se incubaron a 24°C durante 10 días; luego, se prepararon suspensiones de conidias en agua destilada estéril a una concentración de $1,5 \times 10^6$ conidias por mililitro.

El inóculo de *Fusarium oxysporum* se preparó agregando trozos de micelio a erlenmeyers de 2.000 mililitros que contenían 600 gramos estériles de avena y se incubaron a 24°C durante 30 días; luego, el inóculo se secó al aire, se trituró en una licuadora y se tamizó utilizando una malla de un milímetro.

El inóculo de *Rhizoctonia solani* se preparó en un medio compuesto por suelo, papa cortada y agua en proporciones de 4:1:10; el medio se colocó en erlenmeyers de 1000 mililitros, los cuales se llenaron hasta la mitad de su capacidad y se esterilizaron a 121°C durante 1 hora por tres días consecutivos; luego, el medio se inoculó con trozos de micelio y se incubó a 24°C durante dos semanas, agitando diariamente.

Para el ensayo con plántulas de pepino cohombro, el patógeno *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* se inoculó en proporción de 1% por peso y se colocó en materos plásticos con 300 gramos de suelo estéril, mezclándolo uniformemente; posteriormente cada uno de los aislamientos de *Trichoderma* se inoculó en materos separados a una concentración de $1,5 \times 10^6$ conidias por gramo de suelo, para un total de 18 tratamientos; además, se aplicó otro tratamiento que consistió en 60 ppm del fungicida Benomil y, también, la combinación del aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum* más 60 ppm de Benomil.

Los materos se sembraron con siete semillas de pepino cohombro y, cuando se presentó la emergencia de las plántulas, se eliminaron las menos vigorosas y se dejaron cinco plántulas por matero; los materos se colocaron en el laboratorio bajo luz fluorescente continua y a una temperatura entre 22 y 30°C. Cada tratamiento se replicó tres veces. Durante un mes, se realizaron observaciones diarias de las plantas y se registró el número de plantas enfermas.

Para el ensayo con plántulas de frijol, el patógeno *Rhizoctonia solani* se inoculó a razón de 1% por peso en forma simultánea con el inóculo del antagonista a una concentración de $1,5 \times 10^6$ conidias por gramo de suelo. También, se aplicó otro tratamiento con el fungicida Pentacloronitrobenzeno (PCNB, Brassicol) a una concentración de 1 ppm. Se utilizaron materos plásticos con 300 gramos de suelo estéril, los cuales se incubaron después de inoculados con el patógeno y el antagonista, durante

cinco días a 24°C y, posteriormente, se sembraron con siete semillas de frijol; cuando ocurrió la germinación se eliminaron las plántulas más débiles y se dejaron 5 plantas por matera; éstas se mantuvieron en el laboratorio bajo las mismas condiciones del ensayo anterior. Durante los 35 días del ensayo, se efectuaron observaciones diarias de las plantas, y se registraron la enfermedad y la altura de las plantas.

RESULTADOS

Aislamiento del hongo *Trichoderma*.

Los 17 aislamientos obtenidos se identificaron, de acuerdo al tamaño y forma de las conidias dentro de las especies *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma viride* y *Trichoderma aureoviride*. Los resultados encontrados en las pruebas de compatibilidad vegetativa confirman la identificación taxonómica realizada. Entre especies diferentes, se observó incompatibilidad entre los aislamientos, con formación de zonas de inhibición que impedían la mezcla entre las colonias, mientras que, entre las mismas especies, no se presentó inhibición y las dos colonias se entremezclaron fácilmente (Fotografías 7.1 y 7.2).

Los aislamientos estudiados presentaron tasas de crecimiento de micelio diferentes, siendo parecidos los valores de los diferentes aislamientos de *Trichoderma* y de *Rhizoctonia solani* y con una tasa mucho menor para *Fusarium oxysporum* (Figura 7.1).

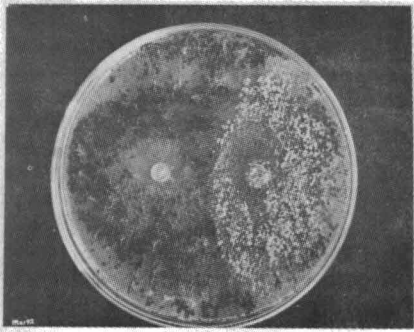
Ensayos de Antagonismo *In Vitro*.

Con estos ensayos se determinó la actividad antagónica de los aislamientos de *Trichoderma* sobre los dos patógenos. El mayor antagonismo se observó sobre *Rhizoctonia solani*, en donde todos los aislamientos del antagonista redujeron, en forma apreciable, el desarrollo del patógeno y, además, algunos de ellos esporularon en forma abundante sobre la superficie de la colonia del patógeno (Cuadro 7.1 y Fotografía 7.3).

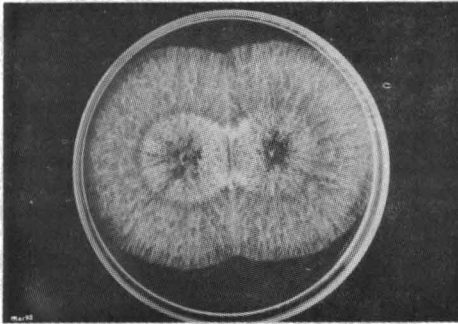
El antagonismo sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* fué menos marcado y, solamente, cinco aislamientos de *Trichoderma* lograron afectar, de una manera importante, el desarrollo de la colonia del patógeno; solo dos de estos antagonistas esporularon sobre la superficie de la colonia del patógeno (Cuadro 7.2 y Fotografía 7.4).

Pruebas de Micoparasitismo *In vitro*.

En estas pruebas se observó una gran interacción



Fotografía 7.1. Reacciones de incompatibilidad vegetativa entre aislamientos de diversas especies de *Trichoderma*.



Fotografía 7.2. Reacciones de compatibilidad vegetativa entre dos aislamientos pertenecientes a la misma especie de *Trichoderma*

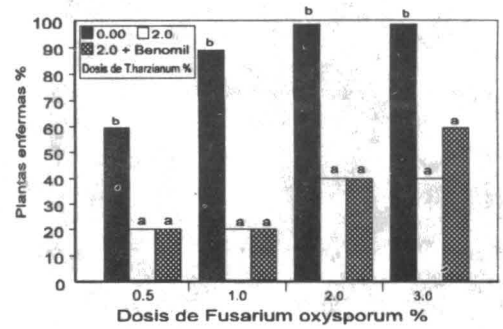


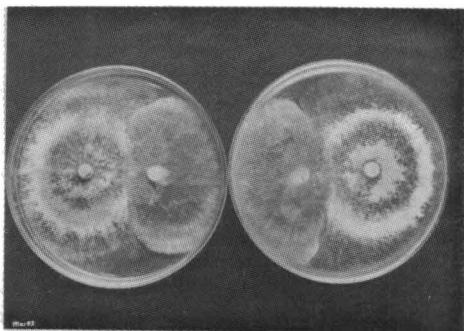
Figura 7.1. Tasa de crecimiento del micelio de algunos de los aislamientos de *Trichoderma* y de los patógenos en el medio de cultivo Papa-dextrosa-agar, incubados a 24°C.

entre algunos aislamientos de *Trichoderma* y *Rhizoctonia solani*. Once de los 18 aislamientos desarrollaron un parasitismo expresado en diversos grados de enrollamiento del micelio del patógeno por el micelio del antagonista; algunos de estos aislamientos ocasionaron fragmentación y lisis del micelio, una clara penetración del micelio del patógeno y formación de divertículos laterales (Fotografías 7.5 y 7.6 y Cuadro 7.3).

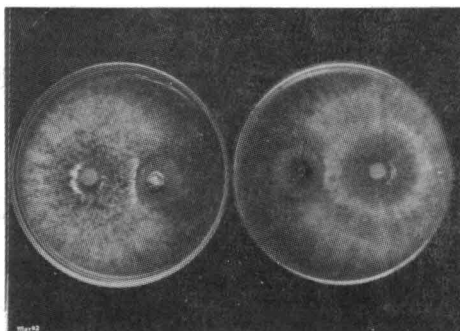
La mayor actividad parasítica se presentó con aislamientos de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma hamatum*, muy poca, con *Trichoderma viride* y ninguna, con *Trichoderma aureoviride*.

Cuadro 7.1. Tipo de antagonismo *in vitro* entre los aislamientos de *Trichoderma* y el patógeno *Rhizoctonia solani*.

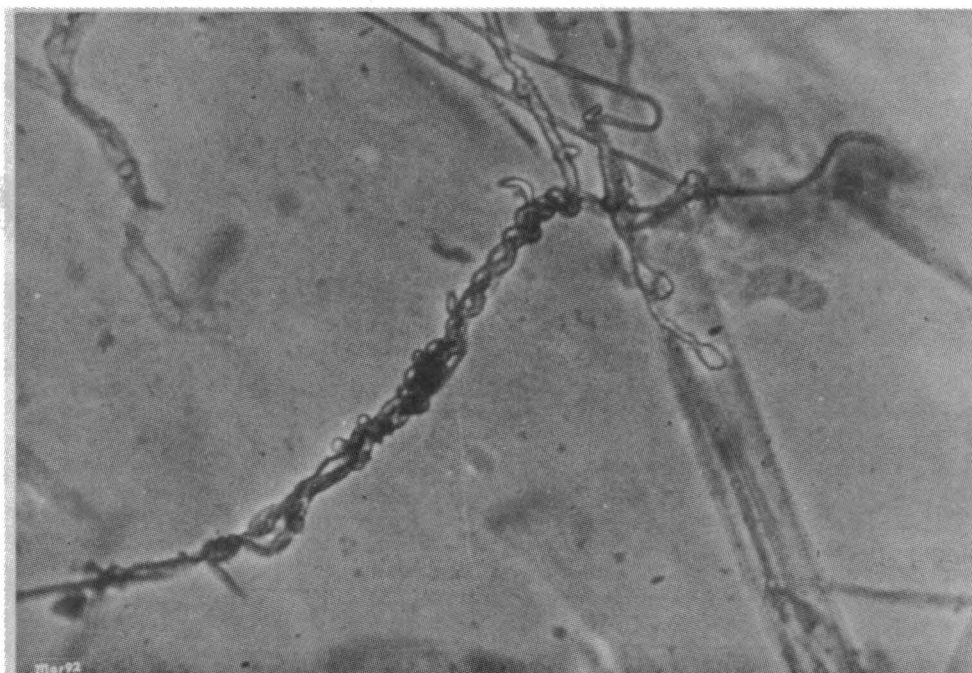
ESPECIE	<i>Trichoderma harzianum</i>									<i>Trichoderma hamatum</i>				<i>Trichoderma aureoviride</i>			<i>Trichoderma viride</i>		
	T1	T2	T3	T4	T7	T8	T9	T13	T14	T15	T17	T95	T11	T12	T16	T5	T6	T10	
CARACTERÍSTICA																			
Invasión de 1/4 de la superficie de la colonia del patógeno																			
Invasión de 1/2 de la superficie de la colonia del patógeno																			
Invasión total de la colonia del patógeno	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	
Esporulación sobre la colonia del patógeno	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	
Ninguna invasión de la colonia del patógeno												X							



Fotografía 7.3. Antagonismo observado en las pruebas de antagonismo *in vitro* entre los aislamientos T 8 y T 15 de *Trichoderma harzianum* y *Rhizoctonia solani*, después de 72 horas de incubación



Fotografía 7.4. Antagonismo observado en las pruebas *in vitro* entre los aislamientos T 15 y T 17 de *Trichoderma harzianum* y *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*, después de 10 días de incubación.



Fotografía 7.5. Parasitismo entre el micelio del aislamiento T 17 de *Trichoderma harzianum* y el micelio de *Rhizoctonia solani* (160 aumentos).

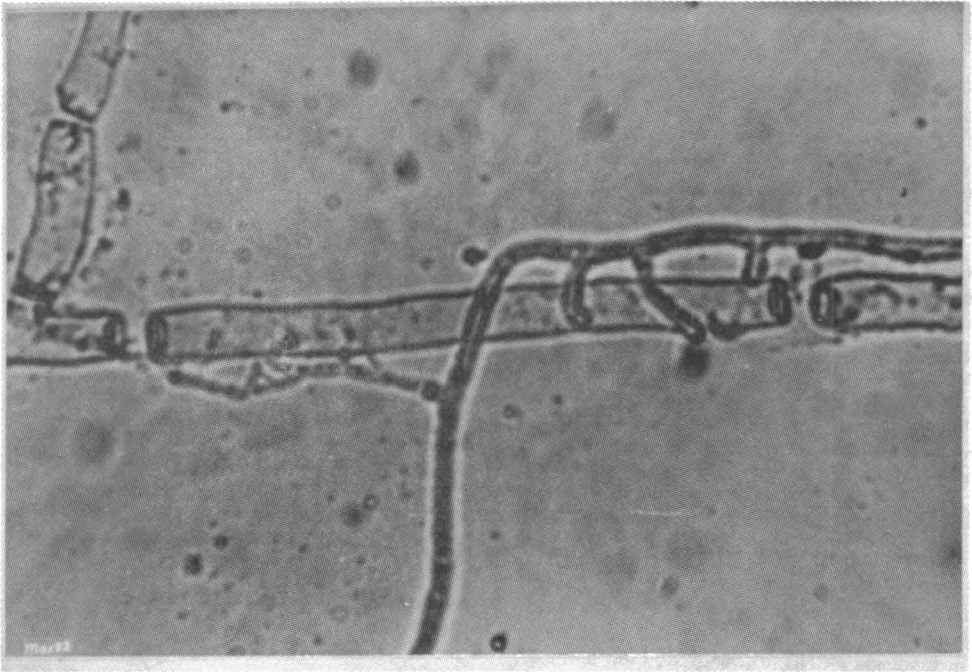
En las pruebas realizadas entre los aislamientos de *Trichoderma* y *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*, no se observó entre los dos organismos, ninguna actividad parasítica importante, pues, apenas, se apreció, por algunos aislamientos de *Trichoderma harzianum*, cierta vacuolación de algunas células de la hifa del patógeno.

Pruebas de Antagonismo en Plantas Pepino Cohombro y Frijol.

En el ensayo donde se inoculó el patógeno *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* al suelo, todos los

aislamientos de *Trichoderma* ocasionaron un menor índice de la enfermedad en las plantas de pepino cohombro, en comparación con el Testigo y con la aplicación del fungicida Benomil, los cuales presentaron los valores más altos. Sin embargo, la mayoría de los aislamientos de *Trichoderma* ocasionaron un retardo en la aparición de los síntomas, con un menor número de plantas enfermas, una disminución en la severidad de la enfermedad y un menor índice de infección, en comparación con el Testigo inoculado únicamente con el patógeno (Cuadro 7.4 y Fotografía 7.7).

Los aislamientos T 13 y T 17 de *Trichoderma*



Fotografía 7.6. Parasitismo de una hifa del aislamiento T 13 de *Trichoderma harzianum* sobre una hifa de *Rhizoctonia solani*. Se observa fragmentación y vacuolización de la hifa del patógeno y formación de divertículos laterales por la hifa de *Trichoderma harzianum* (640 aumentos).

Cuadro 7.2. Tipo de antagonismo *in vitro* entre los aislamientos de *Trichoderma* y el patógeno *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*.

ESPECIE	<i>Trichoderma harzianum</i>								<i>Trichoderma hamatum</i>		<i>Trichoderma aureoviride</i>		<i>Trichoderma viride</i>					
	T1	T2	T3	T4	T7	T8	T9	T13	T14	T15	T17	T95	T11	T12	T16	T5	T6	T10
CARACTERISTICA Invasión de 1/4 de la superficie de la colonia del patógeno							X				X				X	X	X	
Invasión de 1/2 de la superficie de la colonia del patógeno																		X
Invasión total de la colonia del patógeno														X				X
Esporulación sobre la colonia del patógeno							X				X							
Ninguna invasión de la colonia del patógeno	X	X	X	X	X	X			X	X	X		X	X				

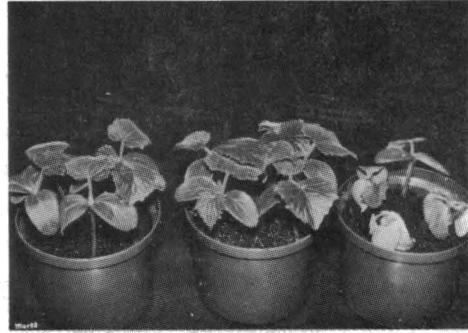
harzianum fueron los aislamientos de mayor antagonismo y los que presentaron los menores índices de infección en las plantas de pepino cohombro.

La aplicación del fungicida Benomil solo o en forma conjunta con el aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum*, el cual es tolerante al fungicida, no ocasionó una reacción apreciable de control.

En el ensayo donde se inoculó *Rhizoctonia solani* suelo y se sembraron semillas de frijol, los aislamientos de *Trichoderma* estimularon una mayor germinación de las semillas y una mayor emergencia de las plántulas, en comparación con el Testigo, que presentó los valores más altos de infección; igualmente ocasionaron una disminución en la necrosis de los tallos, cuyo valor máximo ocurrió en el Testigo y, al final del experimento, las plantas presentaron un mayor tamaño (Cuadro 7.5).

Los aislamientos T 17, T 13 y T 3 de *Trichoderma harzianum* y los aislamientos T 12 y T 16 de *Trichoderma hamatum* fueron los tratamiento más efectivos para el control de la enfermedad, seguidos por el fungicida PCNB, disminuyendo, en forma muy significativa la enfermedad, en comparación con el Testigo inoculado únicamente con el patógeno (Cuadro 7.5 y Fotografía 7.8).

Todos los aislamientos de *Trichoderma* utilizados y el fungicida PCNB aumentaron el tamaño de las plantas de frijol, en comparación con el Testigo sin inocular y con las plantas inoculadas solamente con



Fotografía 7.7. Efecto del control del marchitamiento vascular ocasionado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* con el aislamiento T 13 de *Trichoderma harzianum*, 13 días después de la siembra. Izquierda: *F. oxysporum* + *T. harzianum*. Centro: Testigo sin inocular. Derecha: *F. oxysporum*.

el patógeno. Sin embargo, los aislamientos T 13, T 1 y T 3 de *Trichoderma harzianum* fueron los que estimularon un mayor crecimiento de las plantas (Cuadro 7.5).

DISCUSION

La identificación de las especies de *Trichoderma* utilizadas en esta investigación fué relativamente fácil, utilizando la clave de Rifai (1969). Además, las pruebas de compatibilidad vegetativa realizadas ayudaron a confirmar la identificación taxonómica

Cuadro 7.3. Actividad parasítica de los aislamientos de *Trichoderma* sobre el micelio de *Rhizoctonia solani*.

ESPECIE	<i>Trichoderma harzianum</i>									<i>Trichoderma hamatum</i>					<i>Trichoderma aureoviride</i>		<i>Trichoderma viride</i>	
	T1	T2	T3	T4	T7	T8	T9	T13	T14	T15	T17	T95	T11	T12	T16	T5	T6	T10
Enrollamiento moderado	X		X		X	X												
Enrollamiento acentuado		X					X	X		X	X				X			
Fragmentación de la hifa						X		X		X	X			X	X			
Penetración de la hifa						X				X								
Formación de divertículos laterales	X	X	X	X	X	X	X	X		X				X	X			X
Ninguna actividad									X				X			X	X	

Cuadro 7.4. Índice de infección en plantas de pepino cohombro inoculadas con *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* y tratadas con diferentes aislamientos de *Trichoderma* y con el fungicida Benomil.

TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	INDICE DE INFECCION*
Testigo sin inocular		0,00a
<i>T. harzianum</i>	T 13	1,48b
<i>T. harzianum</i>	T 17	1,76b
<i>T. harzianum</i>	T 3	1,86b
<i>T. harzianum</i>	T 8	1,89b
<i>T. harzianum</i>	T 14	2,07b
<i>T. hamatum</i>	T 16	2,13b
<i>T. harzianum</i>	T 15	2,20b
<i>T. hamatum</i>	T 12	2,51b
<i>T. viride</i>	T 10	2,66c
<i>T. harzianum</i>	T 2	2,71c
<i>T. aureoviride</i>	T 5	2,74c
<i>T. harzianum</i>	T 4	2,85c
<i>T. harzianum</i>	T 7	2,94c
<i>T. aureoviride</i>	T 6	2,97c
<i>T. harzianum</i> +Benomil	T 95	3,07c
<i>T. harzianum</i>	T 9	3,23c
<i>T. harzianum</i>	T 1	3,74d
<i>T. harzianum</i>	T 95	3,91d
Benomil		4,22d
<i>Fusarium oxysporum</i>		4,38d

* Los promedios con letras iguales no son diferentes significativamente de acuerdo con la prueba de rango múltiple de Duncan ($p=0.5$). Cada cifra corresponde al promedio de tres replicaciones.

efectuada en este trabajo, la cual fué confirmada, posteriormente, por el profesor G.L. Hennebert del Laboratorio de Micología Sistemática y Aplicada de la Universidad Católica de Lovaina, Bélgica.

El aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum*, usado como patrón de comparación en las diferentes pruebas de antagonismo, fué uno de los aislamientos que mostró menor actividad antagónica, ocupando el último lugar entre los aislamientos de *Trichoderma* utilizados en el control de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*, y ocupando lugares intermedios en el control de *Rhizoctonia solani*. Estos hechos muestran la gran potencialidad de los suelos colombianos para albergar aislamientos de diversas especies de *Trichoderma* y, principalmente, de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma hamatum* con gran capacidad antagónica contra diversos hongos del suelo.

La capacidad antagónica de diversas especies y aislamientos de *Trichoderma* coincide con lo observado por Bell *et al* (1982) quienes, según el aislamiento utilizado, encontraron una gran variabilidad.



Fotografía 7.8. Control de *Rhizoctonia solani* en plantas de frijol de la variedad "Porrillo Sintético" con el aislamiento T 17 de *Trichoderma harzianum*. Izquierda: *Rhizoctonia solani*. Centro: Testigo sin inocular. Derecha: *Rhizoctonia solani* + *Trichoderma harzianum*.

El antagonismo en cajas de Petri, presentado por los aislamientos de *Trichoderma*, en comparación con los dos patógenos utilizados, se debe, en parte, a su mayor tasa de crecimiento micelial y, por lo tanto, a su mayor capacidad de colonización del sustrato (Figura 7.1).

La metodología usada en los ensayos de micoparasitismo *in vitro*, utilizando la técnica de los microcultivos de Riddel, fué muy sencilla y eficiente para estudiar la capacidad antagónica de algunas especies de *Trichoderma* sobre *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. Esta metodología fué mucho más eficiente que el método del papel celofán utilizado por Borda y Arbeláez (1985) y, posteriormente, ha sido utilizado con gran éxito para observar el micoparasitismo de algunos aislamientos de *Trichoderma* sobre *Rhizoctonia solani* (Rincón *et al*, 1992) y sobre *Rosellinia bunodes* (Esquivel *et al*, 1992), patógenos del café.

La gran actividad micoparasítica presentada por algunos aislamientos de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma hamatum* sobre el patógeno *Rhizoctonia solani* coincide con lo observado por otros investigadores como, Hadar *et al* (1978), Elad *et al* (1983) y Chet *et al* (1991).

Aunque los resultados de las pruebas de parasitismo *in vitro* no mostraron mayor actividad de *Trichoderma* sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*, en las pruebas con plantas de pepino cohombro se observaron distintos grados de protección de dichas plantas por acción del antagonista al ataque del patógeno, resultados similares a los observados por Borda y Arbeláez (1985) en Colombia y por Kim y Jee (1988) en Corea. Esto muestra la poca utilidad de los ensayos de antagonismo *in vitro*, en comparación con los ensayos con plantas vivas.

Cuadro 7.5. Efecto de diversos tratamientos sobre la enfermedad ocasionada por *Rhizoctonia solani* en plantas de frijol.

TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	PUDRICION DE SEMILLAS ³	PLANTAS CON NECROSIS ⁴	ALTURA DE PLANTAS ²
Testigo sin inocular		0,00 ^{5a}	0,00 ^{3a}	5,7 ^{3a}
<i>T. harzianum</i>	T 13	0,00 a	0,33 a	7,3 a
<i>T. harzianum</i>	T 17	0,00 a	0,33 a	6,8 a
<i>T. hamatum</i>	T 12	0,00 a	0,13 a	7,0 a
<i>T. hamatum</i>	T 16	0,00 a	0,06 a	6,9 a
<i>T. harzianum</i>	T 2	0,00 a	0,40 a	6,8 a
PCNB		0,00 a	0,26 a	5,5 a
<i>T. harzianum</i>	T 15	0,33 a	0,06 a	6,4 a
<i>T. harzianum</i>	T 3	0,33 a	0,33 a	7,6 a
<i>T. harzianum</i>	T 1	0,60 a	0,33 a	7,9 a
<i>T. aureoviride</i>	T 5	0,60 a	0,06 a	7,0 a
<i>T. harzianum</i>	T 95	0,60 a	0,26 a	6,4 a
<i>T. hamatum</i>	T 11	0,60 a	0,13 a	6,8 a
<i>T. harzianum</i>	T 9	1,00 a	0,13 a	5,8 a
<i>T. harzianum</i>	T 8	1,00 a	0,26 a	5,4 a
<i>T. harzianum</i>	T 7	1,00 a	0,26 a	7,3 a
<i>T. harzianum</i>	T 14	1,33 a	0,26 a	7,0 a
<i>T. aureoviride</i>	T 6	1,33 a	0,33 a	5,8 a
<i>T. harzianum</i>	T 4	1,66 b	0,80 b	8,5 a
<i>R. solani</i> RS	7-80	3,30 b	0,80 b	4,7 a

Los aislamientos T 13 y T 17 de *Trichoderma harzianum* fueron los dos aislamientos más efectivos en las pruebas realizadas y, por esta razón, se utilizaron en trabajos posteriores en pruebas de campo para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en clavel y de otras enfermedades ocasionadas por diversos patógenos del suelo.

El control muy bajo del marchitamiento vascular del pepino cohombro con el fungicida Benomil coincide con lo encontrado por Borda y Arbeláez (1985) y con resultados posteriores en investigaciones en el control del marchitamiento vascular del clavel ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* en Colombia (Arbeláez, 1987).

El mayor crecimiento de las plantas de pepino cohombro, cuando se inocularon con los diferentes aislamientos de *Trichoderma* y el patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, parece que se debe al control de la enfermedad obtenido y al estímulo en el crecimiento y desarrollo de las plantas por parte del antagonista, situación similar a la observada por Borda y Arbeláez (1985) y Kim y Jee (1988) y en otros tipos de plantas por Chang *et al* (1986) y por Baker (1988).

BIBLIOGRAFIA

1. Ahmad, J.S. and R. Baker. Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 77: 182-189. 1987.

2. Arbeláez, G. Control of *Fusarium oxysporum* and *Phialophora cinerescens* on carnation by combined soil treatment and application of antagonists. *Acta Horticulturae* 216: 77-84. 1987.

3. Baker, R. Biological control of plant pathogens: definitions. p. 25-39. In M.A. Hoy and D.C. Herzog (Eds.). *Biological control in agricultural IPM systems*. Academic Press. New York. 1985.

4. Baker, R. *Trichoderma* spp. as plant growth stimulants. *CRC Critical Reviews* 7: 97-106. 1988.

5. Bell, D.K., H.D. Well and C.R. Markham. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72: 379-382. 1982.

6. Borda, F. y G. Arbeláez. Control del marchitamiento del pepino ocasionado por *Fusarium oxysporum* Schl. con el aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum* Rifai. *Fitopatología Colombiana*. 11: 10-15. 1985.

7. Chang, Y.C. Biological and integrated control for *Rhizoctonia* caused diseases in some ornamental plants. Master of Science Thesis. Colorado State University. Fort Collins, Colorado, U.S.A. 1982.

8. Chang, Y.C., Y.C. Chang, R. Baker, O. Kleinfeld and I. Chet. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. *Plant Disease* 70: 145-148. 1986.

9. Chet, I. and R. Baker. Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 71: 286-290. 1981.

10. Chet, I., G. Harman and R. Baker. *Trichoderma*, its hyphal interaction with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* sp. *Microbial Ecology* 7: 29-38. 1981.
11. Chet, I. *Trichoderma*. Applications, mode of action, and potential as a biological agent of soilborne plant pathogenic fungi. p. 137-160. In I. Chet (Ed.). *Innovative approaches to plant disease control*. John Wiley & Sons. New York. 1988.
12. Elad, Y., I. Chet and J. Katan. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70: 119-121. 1980.
13. Elad, Y., I. Chet and Y. Henis. A selective medium improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil. *Phytoparasitica* 9: 59-67. 1981a.
14. Elad, Y., I. Chet and Y. Henis. Biological control of *Rhizoctonia solani* in strawberry fields by *Trichoderma harzianum*. *Plant and Soil* 60: 245-254. 1981b.
15. Elad, Y., Y. Hadar, E. Hadar, I. Chet and Y. Henis. Biological control of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in carnation. *Plant Disease* 65: 675-677. 1981.
16. Elad, Y., I. Chet, P. Boyle and Y. Henis. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. Scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. *Phytopathology* 73: 85-88. 1983.
17. Esquivel, V.H., J. Leguizamón y G. Arbeláez. Búsqueda y evaluación de antagonistas a *Rosellinia bunodes* agente causal de la llaga negra del café. *Cenicafé*. 43: 33-42. 1992.
18. Hadar, Y., I. Chet and Y. Henis. Biological control of *Rhizoctonia solani* damping off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology* 69: 64-68. 1978.
19. Kim, H.K. and H.J. Jee. Influence of rhizosphere antagonists on suppression of cucumber wilt, increase cucumber growth and density fluctuation of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*. *Korean Journal of Plant Pathology* 4: 10-18. 1988.
20. Linderman, R.G., L.W. Moore, K.F. Baker and D.A. Cooksey. Strategies for detecting and characterizing system for biological control of soilborne plant pathogens. *Plant Disease* 67: 1058-1064. 1983.
21. Liu, S.B. and R. Baker. Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70: 404-412. 1980.
22. Locke, J.C., J.J. Marois and G.C. Papavizas. Biological control of *Fusarium* wilt of greenhouse grown chrysanthemums. *Phytopathology* 72: 709. 1982.
23. Marois, J.J., D.J. Mitchell and R.M. Sanoda. Biological control of crown rot of tomato under field conditions. *Phytopathology* 71: 1257-1260. 1981.
24. Marshall, D.S. Effect of *Trichoderma harzianum* seed treatment and *Rhizoctonia solani* inoculum concentration on damping off of snap bean in acidic soils. *Plant Disease* 66: 788-789. 1982.
25. Papavizas, G.C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology* 23: 23-54. 1985.
26. Rifai, M.A. A revision of the genus *Trichoderma*. Commonwealth Mycological Institute. *Mycological Papers* 116: 1-56. 1969.
27. Rincón, A.A., J. Leguizamón y G. Arbeláez. Control biológico de *Rhizoctonia solani* con *Trichoderma* spp. en semilleros de café. *Cenicafé* 43: 73-383. 1992.
28. Sivan, A. and I. Chet. Biological control of *Fusarium* spp. in cotton, wheat and muskmelon by *Trichoderma harzianum*. *J. Phytopathology* 116: 39-47. 1985.
29. Windham, M.T., Y. Elad and R. Baker. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 76: 518-521. 1986.