

Compatibilidad de *Trichoderma harzianum* Rifai con fungicidas del arroz y su efecto sobre tres fitopatógenos fúngicos.

Manuel Francisco Rodríguez Saldaña¹, Pausides Milanés Virelles², Ernesto Pérez Torres³ & Yurisandra Sierra Reyes⁴

Fecha de recibido: 29 de abril de 2016

Fecha de aceptado: 1 de junio de 2016

RESUMEN

La investigación se realizó en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal en Camagüey, en la etapa comprendida de septiembre de 2013 a septiembre de 2015, en condiciones in vitro donde se determinó la compatibilidad y capacidad antagónica frente a pesticidas usados en el arroz, de *Trichoderma harzianum* Rifai cepa A-34 sobre los patógenos del arroz (*Bipolaris oryzae* Breda de Haan, *Saracladium oryzae* (Sawada) w. Gams & D.Hawksworth y *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr). Las evaluaciones mediante métodos tradicionales de aislamiento microbiológico del crecimiento micelial, la esporulación y la germinación conidial del antagonista para determinar si ejerce los mecanismos de acción de antibiosis, competencia, y parasitismo ante los patógenos fúngicos se efectuaron a partir desde las 24 hasta las 216 horas empleando. Para el análisis estadístico se empleó un diseño bifactorial en el cultivo dual, además de las escalas para la determinación de la capacidad antagónica de los microorganismos. Los ingredientes activos tebuconazol + procloraz, trifloxistrobin+ ciproconazol, y epoxiconazol + kresoxim- metil, afectaron el crecimiento micelial del antagonista, por otra parte el antagonista frente a los ingredientes activos carbendazim, oxiclóruo de cobre, azoxistrobina y tebuconazol + triadimenol tuvo crecimiento micelial, esporulación e interacción con los patógenos afectándose el crecimiento de los mismos a través de los mecanismos de acción de enrollamiento, penetración, granulación, y lisis celular desde las 96 hasta las 216 horas.

PALABRAS CLAVES: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma harzianum*, *Bipolaris oryzae*, *Saracladium oryzae*, *Magnaporthe grisea*, *Oryza sativa*, compatibilidad, fungicidas químicos, biopesticidas, arroz

***Trichoderma harzianum* Rifai compatibility with fungicides and its effect on three fungal plant rice pathogens.**

¹ Ing. Agr., Departamento de Agronomía, Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz Cuba: manuel.rodriguez@reduc.edu.cu

² Ing. Agr., Dr. C., Profesor Titular, Departamento de Agronomía, Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz : pausides.milanes@reduc.edu.cu

³ Ing. Agr., Dr. C., Profesor Auxiliar, Departamento de Agronomía, Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz: ernesto.perez@reduc.edu.cu

⁴ Ing. Agr., M. Sc., Asistente, Departamento de Agronomía, Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz : yurizandra.reyes@reduc.edu.cu

ABSTRACT

The research was conducted at the Provincial Laboratory of Plant Protection in Camagüey, in the fall period September 2013 to September 2015, under in vitro conditions where compatibility and antagonistic capacity was determined against used in rice pesticides, *Trichoderma harzianum* Rifai strain A-34 on rice pathogens (*Bipolaris oryzae* Breda de Haan, *Sarocladium oryzae* (Sawada) w. Gams & D.Hawksworth and *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr). Evaluations by traditional methods of microbiological isolation of mycelial growth, sporulation and conidial germination of the antagonist to determine whether to exercise the mechanisms of action of antibiosis, competition and parasitism against fungal pathogens were made from from 24 up to 216 hours. For statistical analysis, a two-factor design was used in the dual culture, plus scales for determining the ability of microorganisms antagonistic. The ingredients tebuconazole active + prochloraz, trifloxystrobin + cyproconazole, epoxiconazole + kresoxim- methyl, affected mycelial growth of the antagonist on the other hand the antagonist against the active ingredients carbendazim, copper oxychloride, azoxystrobin and tebuconazole + triadimenol had mycelial growth, sporulation and interaction with pathogens thereby affecting the growth of the same through the winding mechanisms of action, penetration, granulating, and cell lysis from 96 to 216 hours.

KEY WORDS: *Trichoderma harzianum*, *Bipolaris oryzae*, *Sarocladium oryzae*, *Magnaporthe grisea*, *Oryza sativa*, compatibility, chemical fungicides, biopesticides, rice

INTRODUCCIÓN

El arroz constituye la base de la población cubana, con un consumo per cápita anual muy superior al de los restantes países de la región; sin embargo, la producción nacional satisface solamente una tercera parte de la demanda. Dada la situación de emergencia alimentaria mundial se hace necesario enfrentar las causas fundamentales que afectan el rendimiento del cereal. Rivero *et al.* (2009).

En Cuba el cultivo del arroz se realiza a todo lo largo y ancho de su territorio, teniendo en cuenta que en casi todas las provincias existen producciones estatales y además esta lleva a cabo el programa de popularización en el cual están inmersos todos aquellos ciudadanos con posibilidades para realizar esta producción.

Dentro los agentes biológicos que inciden negativamente en el cultivo del arroz, que se destacan por su alta incidencia las enfermedades fungosas producidas por *Pyricularia grisea* Sacc, *Bipolaris oryzae* Breda de Haan y *Sarocladium oryzae* (Sawada) W. Gams & D. Hawksworth. Los principales

métodos para su control se centran en el uso de variedades resistentes y la lucha química. En la actualidad se aplican otros métodos como la lucha biológica que son capaces de conservar y mantener el equilibrio en el agroecosistema. Dentro de estos se encuentra la lucha biológica, que emplea hongos con la capacidad de hiperparasitar a otros hongos como en el género *Trichoderma*, el cual se utiliza para controlar diferentes patógenos de plantas (Rodríguez y Harman, 1991).

El biocontrol actualmente ocupa un lugar importante dentro de las prácticas de manejo de enfermedades de las plantas causadas por los patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Phytophthora* y *Fusarium* entre otros. Las especies de *Trichoderma* poseen buenas posibilidades en este sentido como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas a los que se les atribuyen los cambios estructurales a nivel celular, tales como vacuolación, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular (Harman, 2001)

En este artículo se evalúa la compatibilidad de *T. harzianum* con pesticidas que se utilizan en el cultivo del arroz y su capacidad antagónica ante tres fitopatógenos fúngicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en el Departamento de Micología del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal (LPSV) de Camagüey, ubicado en las coordenadas; 73°80' de Latitud Norte y 135°60' de Longitud Oeste a 98 m s.n.m.m.

Las siembras del antagonista y de los patógenos se realizaron según los métodos tradicionales de aislamiento microbiológico, cuyas muestras proceden de áreas de arroz del Complejo de Granos Ruta Invasora en Vertientes. Se tomaron discos de 5.0 mm de diámetro de los aislamientos de cada patógeno y del antagonista procedentes de medio envenenado y sin envenenar se depositaron en placas Petri (70mm de diámetro) con medio Papa – Dextrosa – Agar (PDA) a PH 5.5 y se incubaron a una temperatura de 27±2°C, utilizando la técnica del cultivo dual y siguiendo las indicaciones de Rincón *et al.* (1992). De igual forma las siembras del antagonista en medio PDA envenenado con pesticidas se realizaron por el mismo método de aislamiento microbiológico, tomando discos de 5.0 mm de diámetro procedentes de medio sin envenenar utilizándose las dosis por cada producto que se reflejan en la (tabla 2) .

Para evaluar el efecto sobre el crecimiento micelial y la esporulación se utilizó el método de envenenamiento del medio agarizado, al cual se le incorporó el plaguicida a las concentraciones deseadas (Pozo, 1987). Se preparó solución en agua destilada estéril a la cual se le agregó la concentración del pesticida y posteriormente se incorporó al medio. Se utilizaron placas Petri (70 mm) contentivas medio PDA envenenado, y se colocó en el centro un disco de 5 mm de diámetro tomado de la zona de crecimiento activo de *Trichoderma*, las que se incubaron a 28 ± 1°C. La evaluación del crecimiento micelial se realizó

diario por espacio de 9 días, se midió el diámetro de las colonias, a partir del cual se determinó el efecto de los productos sobre el mismo con relación al testigo. La esporulación se evaluó a los nueve días.

Se empleó un diseño factorial para el ensayo del crecimiento dual, donde se analizaron el factor tratamiento (1. Interacción *T. harzianum* procedente de medio PDA envenenado con pesticidas - *Bipolaris oryzae*, 2.- Interacción *Trichoderma harzianum* procedente de medio envenenado - *Sarocladium oryzae*, 3.- Interacción *Trichoderma harzianum* procedente de medio envenenado - *Magnaporthe grisea*.

Tratamiento (4. Testigo *Bipolaris oryzae*, 5- Testigo *Sarocladium oryzae*) y 6- Testigo *Magnaporthe grisea*, de igual forma 7- Testigo *Trichoderma harzianum* procedente medio sin envenenar - *Bipolaris oryzae*, 8- Testigo *Trichoderma harzianum* procedente medio sin envenenar - *Sarocladium oryzae*, 9 - Testigo *Trichoderma harzianum* procedente de medio sin envenenar - *Magnaporthe grisea*, y 10- Testigo *Trichoderma harzianum*, el factor tiempo (en un intervalo entre 24 horas y 216 horas) empleándose un diseño completamente aleatorizado replicando cuatro veces los factores tratamiento y tiempo.

Tabla 1. Escala para la determinación de la capacidad antagónica de los microorganismos (Bell et al. 1982)

| Grado | Capacidad antagónica (grado de crecimiento del antagonista) |
|--------------|--|
| 1 | Sobrecrece completamente el patógeno y cubre totalmente la superficie del medio. |
| 2 | Sobrecrece las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo. |
| 3 | Ocupa mitad de la superficie del medio de cultivo. |
| 4 | Ocupa la tercera parte del medio de cultivo. |
| 5 | No crece |

Se evaluaron los mecanismos de acción, de competencia por el sustrato, micoparasitismo y titulación.

La competencia por el sustrato se evaluó el diámetro del crecimiento radial del patógeno y el antagonista con una regla graduada en cada uno de los tratamientos durante el tiempo que transcurrió el experimento (entre 24 horas y 216 horas). Para determinar la capacidad antagónica de la cepa A-34 de *T. harzianum*, utilizándose la escala de cinco grados planteada por Bell et al. (1982) según se refiere en la (tabla 1). Se evaluó el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR), mediante la fórmula de Samaniego (1989), citada por Bernal et al. (2004). $PICR = [(R2-R1)/R2] \times 100$. Donde R1 es el crecimiento

radial del tratamiento con la interacción entre el antagonista y el patógeno y R2 es el crecimiento radial del testigo.

Para evaluar el micoparasitismo se tomaron 4 muestras por cada tratamiento con interacción del sitio de contacto entre el antagonista con los patógenos, para determinar el tipo o tipos de interacción hifal dígase (penetración, vacuolación, granulación, lisis y enrollamiento) observando al microscopio óptico con aumento de 40x.

La titulación se evaluó 4 muestras en discos de 5.0 mm de diámetro con peso de 1.0 g de biomasa por cada tratamiento, se preparó solución madre en agua destilada estéril con Twin, en tubos de ensayo agregando 1,0 ml de esta en 0,9 ml de agua destilada estéril preparando diluciones de 10^1 y 10^2 para conteo de esporas en cámara de Neubauer.

La antibiosis de la cepa A-34 de *T. harzianum* se evaluó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (PICR) en cultivo dual a las 24 horas.

La sensibilidad de de *T. harzianum* frente a los siete plaguicidas empleados se evaluó por la escala recomendada por Martínez y Figueroa (2007), donde se consideran tres niveles de toxicidad:

Grado 1. Compatible, menos de 10% de afectación del crecimiento micelial (ACM)

Grado 2. Moderadamente compatible, de 10% a 30% ACM

Grado 3. No compatible, más de 30 % ACM

Tabla 2. Fungicidas y concentraciones utilizadas en los ensayos de compatibilidad

| Ingredientes activos | Concentración mg i.a /l |
|--------------------------------|------------------------------------|
| tebuconazol + triadimenol | 140,150,160,170 |
| tebuconazol + procloraz | 150,160,170,180 |
| azoxistrobina | 100,110,120,130 |
| trifloxistrobin+ cyproconazol | 167,177,187,197 |
| epoxiconazol + kresoxim- metil | 135,145,155, 165 |
| carbendazim | 305,315,325,335 |
| Oxicloruro de cobre | 433,443,453,463 |

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los plaguicidas sobre el crecimiento micelial de *T. harzianum*

En el tratamiento 1 tebuconazol+ triadimenol (Tabla 3) se pudo apreciar que a las 24 horas *T. harzianum* no presentó crecimiento micelial comenzando a observarse a partir de las 48 horas con un crecimiento promedio de 1,0 mm en cada una de las concentraciones y replicas estudiadas de este fungicida, con un gradiente de crecimiento (GC) de 0,02 mm-hora y un PICR del 95%; a las 216 horas el crecimiento micelial en todas las dosis se comportaron en el rango entre 6,75 y 9,25 mm de crecimiento y un GC entre 0,03 y 0,04 mm-hora y un PICR entre el 76 y 83%.

En las primeras horas de exposición del antagonista frente al ingrediente activo este afectó el crecimiento micelial y en sentido general hasta las 216 horas lo cual puede estar relacionado con la residualidad del producto que es de 14 días, independientemente del crecimiento alcanzado después, al eliminar el efecto del producto en el medio, el hongo se recupera, si no han sido afectadas de forma permanente las estructuras vegetativas del mismo. Esto reviste importancia al definir el momento a incorporar el antagonista en el manejo del cultivo y el tiempo necesario que debe mediar entre una y otra aplicación.

En el caso de los ingredientes activos tebuconazol + procloraz, trifloxistrobin+ ciproconazol, y epoxiconazol + kresoxim- metil, afectaron de forma muy marcada el crecimiento micelial de *T. harzianum* (cepa A-34) en todas las concentraciones probadas, mostrando un PICR de 100 %.

El ingrediente activo carbendazim en las diferentes concentraciones afectó el crecimiento micelial del antagonista a las 24 horas con 100 %, ya a las 72 horas no hubo inhibición del crecimiento, pues el antagonista alcanza cubrir la placa con un crecimiento radial de 30 mm, estos resultados difieren con lo planteado por Reyes (2011) al reportar el efecto fungistático frente a aislados de *Trichoderma asperellum* Rifai

Con relación al ingrediente activo oxiclóruo de cobre empleado frente a *T. harzianum* A-34, a las 24 horas del enfrentamiento no se observa crecimiento micelial, a partir de las 48 horas este se incrementa, a las 72 horas cubre por completo la placa y a las 120 horas ya no se observa inhibición, lo que concuerda con los resultados de Morera (2009) plantea que *T. harzianum* y *Trichoderma viride* Rifai, resisten bien el efecto de mezclas con fungicidas y se recuperan con facilidad después del contacto con dosis subletales de plaguicidas.

Tabla 3 Compatibilidad química de *Trichoderma* con plaguicidas aplicados en el cultivo del arroz.

| Grupos | Productos | <i>T. harzianum</i> (cepa A-34) | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|-----------------------|
| | | Grado de escala | PICR (%) 120 horas |
| Fungicida | tebuconazol + triadimenol | 3 | 88.06 |
| | tebuconazol + procloraz | 3 | 99.06 |
| | azoxistrobina | 3 | 77.62 |
| | trifloxistrobin + cyproconazol | 3 | 98.68 |
| | epoxiconazol + kresoxim-metil | 3 | 99.5 |
| | carbendazim | 3 | 0 |
| | Oxicloruro de cobre | 2 | 0 |
| 1-Compatible; 2-Moderadamente compatible; 3-No compatible | | | E± = 0.04 |

Efecto de los plaguicidas sobre la esporulación

En el caso de los fungicidas que no se relatan sus resultado se debe a que no hubo crecimiento micelial por tanto la esporulación es cero.

Reyes (2007) informó desecación y constricción de los conidios, lisis de las paredes celulares y expulsión del contenido citoplasmático de *Trichoderma* spp. frente al fungicida procloraz. En este caso está combinado con tebuconazol, por lo que atribuimos sea por estos efectos la respuesta de *T. harzianum* cepa A-34 durante y después del contacto con este producto, de igual forma ocurrió con epoxiconazol + kresoxim- metil y trifloxistrobin + cyproconazol.

La esporulación de *T. harzianum* expuestas a los diferentes fungicidas no fue afectada en ningún caso, respecto al testigo (Tabla 4), a pesar que en su mayoría inhibieron el crecimiento micelial en más de 45%.

T. harzianum frente a tebuconazol + triadimenol alcanza una esporulación en todas sus concentraciones superior a $5,0 \times 10^8$, mientras que el testigo llegó a $2,68 \times 10^8$; por tanto no se observa diferencias significativas entre las concentraciones aunque sí entre estas y el control, esto ocurre a partir que en las primeras horas el antagonista se vio afectado en su crecimiento micelial pero logra recuperarse y degradar al ingrediente activo llegando a acelerar los procesos

En el caso de azoxistrobina se observa en el tratamiento sobre PDA envenenado con respecto al tratamiento control, se comportó ligeramente superior, mientras que el crecimiento micelial presentó una inhibición del 60 %, esto coincide con lo planteado por Plant Health Care de México, 2009 citado por Reyes (2007), la compatibilidad que se informa para azoxistrobina, ya que, aunque este fungicida mostró los porcentajes más bajos de afectación al crecimiento micelial, mientras que sí causó daños en la esporulación y germinación en relación al testigo. La diferencia encontrada en la compatibilidad asumimos está dada por ser diferente la especie referida en el artículo y la evaluada en el presente trabajo.

Tabla 4. Efecto de los fungicidas sobre la esporulación (conidios.mm⁻²) de *T. harzianum* (cepa A-34).

| Plaguicidas | Concentracion | Titulación | Titulación control |
|-----------------------------|---------------|-----------------------|-----------------------|
| tebuconazol +triadimenol | 140 mg ia | 8,20x10 ⁸ | 2,68 x10 ⁸ |
| | 150 mg ia | 5,75x10 ⁸ | 2,48 x10 ⁸ |
| | 160 mg ia | 9,12 x10 ⁸ | 2,68 x10 ⁸ |
| | 170 mg ia | 5,65 x10 ⁸ | 2,48 x10 ⁸ |
| azoxistrobina | 100 mg ia | 1,68 x10 ⁸ | 2,15 x10 ⁸ |
| | 110 mg ia | 1,80 x10 ⁸ | 2,19 x10 ⁸ |
| | 120 mg ia | 1,12 x10 ⁸ | 2,54 x10 ⁸ |
| | 130 mg ia | 4,06x10 ⁸ | 3,22 x10 ⁸ |
| carbendazim | 305 mg ia | 1,42 x10 ⁸ | 2,01 x10 ⁸ |
| | 315 mg ia | 2,84x10 ⁸ | 2,30 x10 ⁸ |
| | 325 mg ia | 1,30 x10 ⁸ | 3,0 x10 ⁸ |
| | 335 mg ia | 1,62x10 ⁸ | 2,63x10 ⁸ |
| Oxicloruro de cobre | 433 mg ia | 2,18x10 ⁸ | 2,54 x10 ⁸ |
| | 443 mg ia | 4,68 x10 ⁸ | 3,0 x10 ⁸ |
| | 453 mg ia | 3,18 x10 ⁸ | 3,22 x10 ⁸ |
| | 463 mg ia | 2,56 x10 ⁸ | 2,63x10 ⁸ |

En el caso de carbendazim y oxicloruro de cobre la esporulación se comportó de manera similar entre las concentraciones de ambos, coincidiendo además con el tratamiento control el cual fue ligeramente superior a los tratamientos en PDA envenenado respectivamente, destacar que estos tuvieron buen crecimiento micelial, donde la inhibición a partir de las 96 horas fue 0, ya que

el tratamiento control y el medio envenenado alcanzaron a cubrir la placa completamente a las 72 horas.

Germinación conidial y viabilidad.

Se observó en el tratamiento con azoxistrobina que fue donde mayor afectación se presentó sobre la germinación conidial alcanzó un 57.04 %, este resultado difiere con lo planteado por (Reyes, 2007); donde expone que se aprecia que azoxistrobina afectó en menor cuantía la germinación conidial. Hay que destacar en ese caso que el experimento fue realizado con otra especie del género *Trichoderma*. Por otro lado hubo diferencias significativas entre los fungicidas, mientras que entre las concentraciones no.

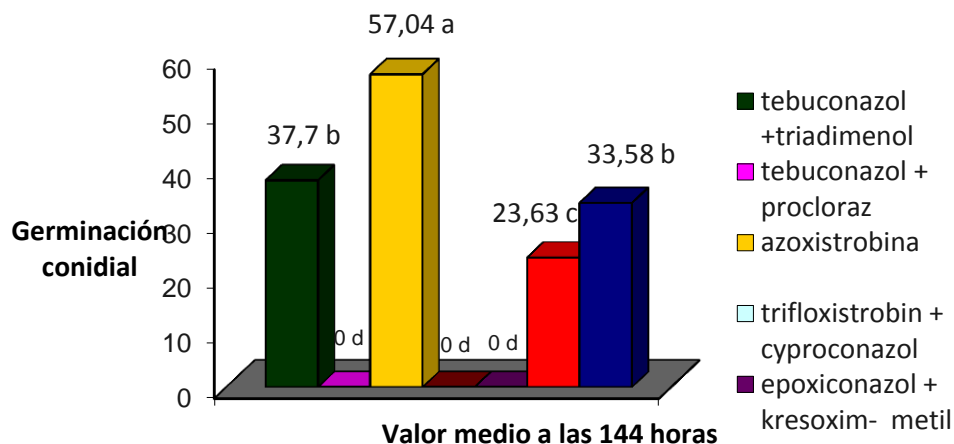


Figura 1 Evaluación de la germinación conidial a las 144 horas.

Cultivo dual

En la interacción entre patógenos se observa que hay diferencias significativas, y entre las concentraciones no, los ingredientes activos Tebuconazol + procloraz, trifloxistrobin + cyproconazol, epoxiconazol + kresoxim- metil no tuvieron crecimiento micelial y por tanto el valor es 0; en el caso de tebuconazol+ triadimenol, azoxistrobina, Oxiclورو de cobre y carbendazim que sí presentaron crecimiento, el valor medio original entre sus concentraciones no difieren.

Acción antagónica de *Trichoderma harzianum* Rifai frente a *Bipolaris oryzae* Breda de Haan ante siete fungicidas

A las 24 horas y 48 horas el patógeno mantuvo niveles bajos de inhibición frente al antagonista y al control, solo en el caso de tebuconazol + procloraz, carbendazim y azoxistrobina se observó inhibición significativa y es a partir de las 72 horas que se observan valores significativos en la inhibición del patógeno con relación al control, el cual se incrementa hasta las 216 horas,

llegando a alcanzar los valores más altos frente a oxiclورو de cobre 66.44 % y carbendazim 77 %.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Agüero,(2012) en ensayos de enfrentamiento dual sobre PDA sin envenenar entre *B. oryzae* y *T. harzianum* cepa A-34 donde plantea que, el PICR aumentó hasta alcanzar el valor de 67,0%. Manifestándose un limitado crecimiento radial del patógeno en interacción, proceso que se va acentuando a medida que se incrementó el número de horas de exposición debido a la colonización del antagonista, mientras que el crecimiento radial del testigo es acelerado.

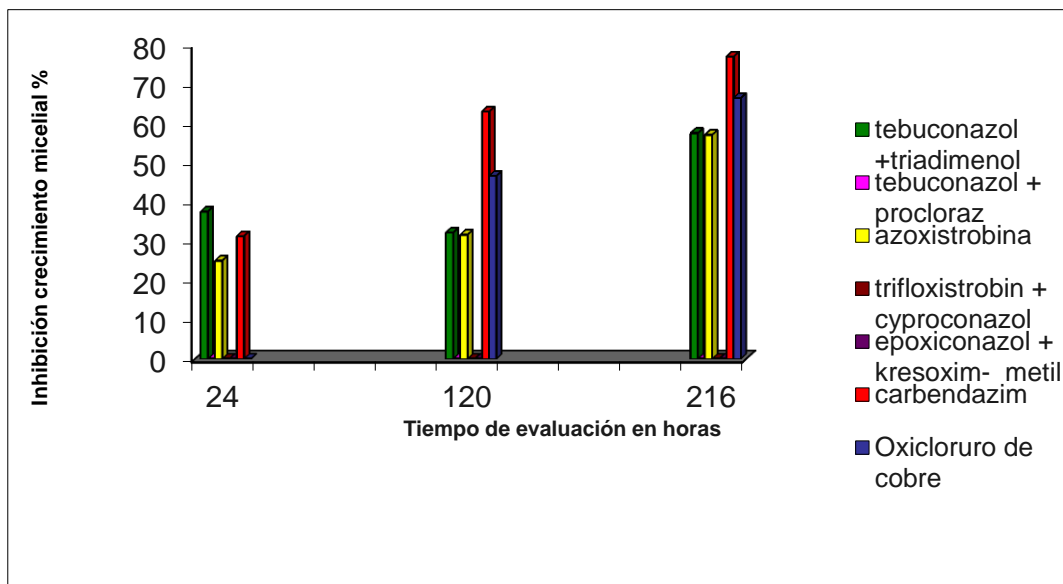


Figura 2. Inhibición del crecimiento micelial de *B. oryzae* ante *T. harzianum* (cepa A-34) Competencia de *Trichoderma harzianum* Rifai frente a *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker.

De acuerdo con las pruebas *in vitro* *T. harzianum* mostró elevados niveles de competencia por el sustrato, hiperparasitó las colonias del patógeno parcial o total en prácticamente todos los fungicidas, produciendo en la mayoría de los casos sobrepoblación .

Estos resultados concuerdan con Ghisalverti *et al.*(1990) y Agüero, (2012) quienes manifiestan la potencialidad hiperparasítica de las especies del género *Trichoderma* de ser buenos competidores por el sustrato, con una actividad metabólica muy particular que les permite ser eficientes en la destrucción de las estructuras fúngicas de los hongos.

Micoparasitismo de *Trichoderma harzianum* Rifai frente a *Bipolaris oryzae* Breda de Haan.

La interacción hifal entre el patógeno y el antagonista ocurrió a las 72 horas de enfrentamiento en la mayoría de los fungicidas, solo en el caso de tebuconazol + triadimenol la interacción inicia a las 96 horas, manifestándose el tipo de micoparasitismo a través del enrollamiento o estrangulamiento del contenido citoplasmático de las hifas del antagonista sobre las del patógeno y por penetración provocando sobre el patógeno granulación, vacuolación y lisis celular, al respecto Santana *et al.* (1995) encontraron que las cepas A-34 *T. harzianum* manifestaron micoparasitismo evidente sobre *Sclerotium. Rolfsii* Sacc. También obtuvieron resultados similares Lobato y Cañar (2009) con enfrentamientos de *T. harzianum* cepa A-34 con los patógenos del arroz *B. oryzae* y *S. oryzae*



Figura 3. Penetración *T. harzianum* al patógeno *B. oryzae*. Antagonista proveniente del medio envenenado con carbendazim.

Competencia de *Trichoderma harzianum* Rifai frente a *Sarocladium oryzae* (Sawada) W. Gams & D. Hawksworth.

Las hifas de *Trichoderma* logran colonizar al disco de *S. oryzae* a las 144 horas, detienen el crecimiento micelial del hongo patógeno, lo cual muestra que el antagonista *T. harzianum* Rifai es un excelente competidor por un mismo sustrato, nutriente y espacio. Resultados similares los obtuvieron Sundara y Saksena (1988) citado por Lobato y Cañar (2009), los cuales plantean que este hongo tiene la capacidad de establecer un efecto fungistático en el lugar donde es aplicado e impide la proliferación de hifas de otras especies de hongos, principalmente fitopatógenos, también coinciden con los resultados alcanzados por (Agüero, 2012).

Micoparasitismo de *Trichoderma harzianum* Rifai frente a *Sarocladium oryzae* (Sawada) W. Gams & D. Hawksworth.

En el transcurso de este período se observó que las colonias del patógeno detienen su crecimiento debido a la acción antagónica de *T. harzianum*, observándose microscópicamente a partir de las 120 horas hasta las 216 horas en la interacción hifal del antagonista y el patógeno, ocurriendo micoparasitismo por enrollamiento y penetración en los cuatro ingredientes activos que presentaron crecimiento y se enfrentaron en el ensayo dual

(Figura 4), coincidiendo dichos resultados con los obtenidos por Lobato y Cañar, (2009) con los patógenos del arroz *S. oryzae* y *B. oryzae*.

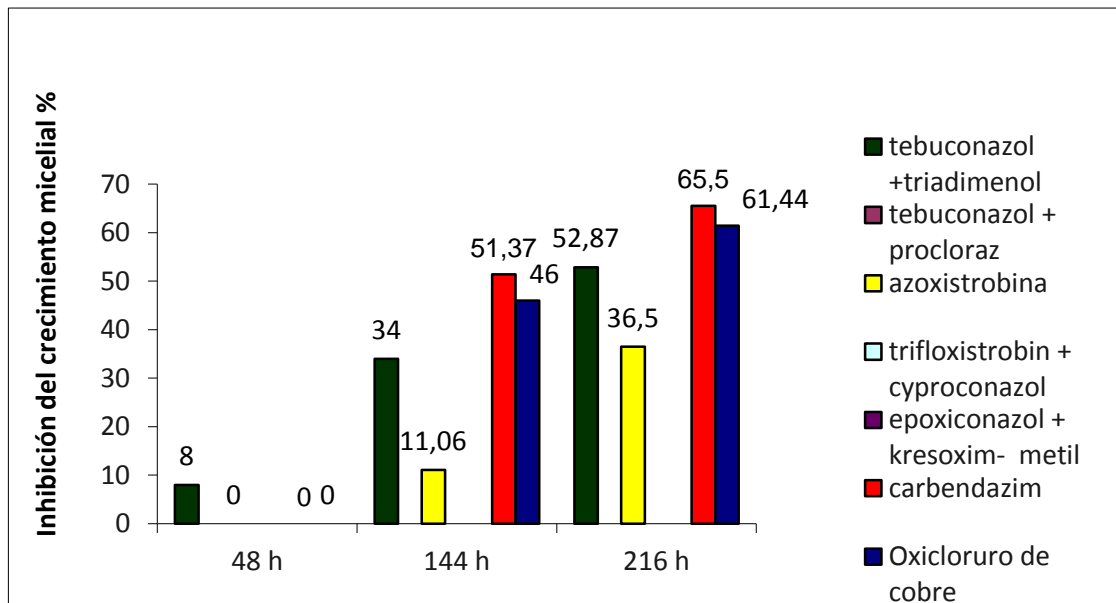


Figura 4. Inhibición del crecimiento micelial en interacción dual *T. harzianum* – *S. oryzae*

Es necesario destacar que los mecanismos de vacuolación, granulación y lisis se manifestaron en todos los patógenos y frente a cada uno de los fungicidas, con singular regularidad se observó más la granulación sobre todo hacia las 192 y 216 horas de cada ensayo.

Acción antagónica de *Trichoderma harzianum* Rifai frente a *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr ante siete fungicidas.

Con relación al enfrentamiento dual con *M. grisea* debemos destacar que este ensayo se realizó solo con los ingredientes activos carbendazim y oxicloruro de cobre; en el caso de tebuconazol + procloraz, trifloxistrobin + cyproconazol y epoxiconazol + kresoxim-metil no tuvieron crecimiento por tanto no fue necesario montarlo.

A las 24 horas en todos los caso no hubo inhibición del crecimiento del patógeno, elementos estos que revelan no existió capacidad antagónica en las primeras horas de evaluación de *T. harzianum* sobre el patógeno.

A partir de las 48 horas se observa un PICR del patógeno en carbendazim de 50 % y oxicloruro de cobre 34,75 % estos valores van incrementándose en la medida que el tiempo de interacción aumenta, alcanzando a las 216 horas carbendazim 77 % y oxicloruro de cobre 78,37 %.

Por lo que *T. harzianum* demuestra al establecerse, aun procediendo de discos de PDA envenenado con los ingredientes activos ya descritos, con alta capacidad antagónica sobre el patógeno *M. grisea*, coincidiendo estos resultados con los obtenidos en pruebas *In Vitro* por Reyes *et al.* (2007) con los patógenos del arroz, *R. solanis* y *P. grisea*; Lobato y Cañar, (2009) con los patógenos *B. oryzae*, *S. oryzae*, y Reyes, (2011) con el patógeno *R. solanis*, los mismos plantean que *Trichoderma* tiene buena efectividad antagónica contra los patógenos en competencia por un mismo sustrato.

Competencia de *Trichoderma harzianum* Rifai frente a *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr .

Las hifas de *Trichoderma* logran colonizar el disco de *M. grisea* a las 96 horas, detienen el crecimiento micelial del patógeno, lo cual muestra que el antagonista *T. harzianum* es un excelente competidor por un mismo sustrato, nutriente y espacio.

El testigo a las 96 horas obtuvo un crecimiento de la colonia de 4.75cm, mientras que el crecimiento del patógeno en la interacción con el antagonista fue de 2,0cm; alcanzando un PICR del 58%

Micoparasitismo de *Trichoderma harzianum* Rifai frente a *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr .

A partir de las 120 horas hasta las 216 horas, se observó microscópicamente la capacidad antagónica de *Trichoderma* por micoparasitismo donde se aprecia la presencia de enrollamiento de la hifa del antagonista sobre la del patógeno, formación de gránulos, y lisis celular aun cuando está frente a discos procedentes de PDA envenenado. Estos eventos, como plantea Harman (2001), son viabilizados por la acción enzimática, que facilita la penetración del antagonista, y que además como notificó el autor causan deformación, desintegración y muerte de las hifas del patógeno. Como se evidenció la actividad micoparasítica de *T. harzianum* frente a *M. grisea* es un proceso con una serie de eventos concatenados, que finaliza con la destrucción de las hifas del patógeno, lo que corrobora lo planteado por Harman (2006) y Vinale *et al.*, (2008).

CONCLUSIONES

Se comprobó que *T. harzianum* conserva la capacidad antagónica mediante los mecanismos de acción antibiosis, competencia por el sustrato y micoparasitismo ante los patógenos *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr., *Sarocladium oryzae* (Sawada) W. Gams & D. Hawksworth y *Bipolaris oryzae* Breda de Haan en interacción con los cuatro fungicidas donde tuvo crecimiento micelial.

REFERENCIAS

Agüero, G. (2012). Compatibilidad invitro de *Trichoderma harzianum* con *Metarhizium anisopliae* en el cultivo del arroz. Tesis en opción al título de ingeniero agronomo

- Bell, K., Wells, D., Markham, R. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, 72, 379-382.
- Ghisalberti, E. L., Narbey, J. M., Dewan, M. M and K. Sivasithamparan. (1990). Variability among strains of *Trichoderma harzianum* in their ability to reduce take-all and to produce pyrones. *Plant Soil*, 121 (2), 287-291.
- Harman, G. E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96:190-194
- Lobato, P. L., Cañar, M. L. (2009). Interacción in vitro de *Trichoderma harzianum* con los patógenos de arroz *Sarocladium oryzae* y *Bipolaris oryzae*. Trabajo de diploma. Ing. Agronómica, Universidad Ignacio Agramante, Camaguey, Cuba.
- Martínez, B., Fernández, L., y Solano, T. (2007). Antagonismo de cepas de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos de la caña de azúcar, tomate y tabaco. *Cultivos Tropicales*, 15 (3), 54.
- Morera, J. (2009). TricoFung. Producto biológico a base de *Trichoderma* spp. Dossier informativo. [en línea] Recuperado el 2 de febrero de 2009, de www.morera.com
- Pozo, E. (1987). Aspectos biológicos y sensibilidad a plaguicidas de tres biorreguladores de Homópteros de cítricos y cafeto. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, La Habana, Cuba.
- Reyes, T., Rodríguez, G., Pupo, A. D., Alarcón. L., Limonta, Y. (2007). Efectividad in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai para el biocontrol de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Pyricularia grisea* Sacc. Aislados en el cultivo del arroz. *Revista Fitosanidad*, 11 (1), 29-33
- Rifai, M.A. (1969). A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers*. 116:1-56
- Rivero, D., Cruz, A., Martínez, B., Ramírez, Á. M. y Rodríguez, T. A. (2009). Actividad antifúngica in vitro de la quitosana sigma frente a hongos fitopatógenos causantes del manchado del grano en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.). *Revista Fitosanidad*, 13(2), 101- 107.
- Rodríguez H., y Harman, A. (1991). Las enfermedades del arroz y su control. *Fonaiap Divulga*, 35(1) 24-36.
- Santana, T., y Lorenzo, M. (1995). Acción antagónica que ejercen diferentes cepas de *Trichoderma* contra *Sclerotium rolfsii* Sacc. Aislado de Topinambur (*Helianthus tuberosum* L.). En *Resúmenes. Ponencia presentada en III encuentro Nacional Científico Técnico de bioplaguicidas EXPO CREE*. La Habana, Cuba.
- Vinale. F., Sivasithamparan, K., Ghisalberti, E. L., Marraa, R., Woo y L., Lorito, M. (2008). *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology & Biochemistry*, 40:1-10