

## MECANISMO DE ACCIÓN DE *TRICHODERMA* SPP. PARA EL BIOCONTROL DE LA SEPTORIOSIS DEL TRIGO

**Stocco<sup>12</sup>, M.; Mónaco<sup>12</sup>, C.; Kripelz<sup>1</sup>, N.; Segarra<sup>4</sup>, C.; Lampugnani<sup>3</sup>, G.; Abramoff<sup>3</sup>, C.; Laporte<sup>3</sup>, G.; Arteta<sup>3</sup>, N.; y Cordo<sup>1</sup>, C.**

<sup>1</sup> Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Bs As; <sup>2</sup> UNLP-Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales-Cátedra de Fitopatología. <sup>3</sup> UNLP-FCAyF-Cátedra de Terapéutica Vegetal. 60 y 119 CC31. La Plata; <sup>4</sup> Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Instituto de Investigaciones Biológicas. E-mail: [marinastocco343@yahoo.com.ar](mailto:marinastocco343@yahoo.com.ar)

### RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue conocer los posibles mecanismos biológico desencadenados por *Trichoderma* spp como biocontrolador de la Septoriosis del trigo. El aislamiento de las especies de *Trichoderma* spp se realizó a partir de suelos cultivados con trigo de La Plata. Se obtuvieron y caracterizaron 30 cepas. Para los bioensayos en invernáculo, se realizaron los siguientes tratamientos: plantas control; plantas inoculadas con *S. tritici*; semillas de trigo "pelleteadas" con *Trichoderma* spp y semillas de trigo "pelleteadas" con *Trichoderma* spp y posteriormente inoculadas con *S. tritici*. A los 21 días de la inoculación, en la primera hoja de cada planta se registró el porcentaje de necrosis y de picnidios desarrollado. De aquellas cepas que demostraron mejor efecto biocontrolador se realizaron pruebas de la actividad antifúngicas del fluido proteolítico intercelular y el peso seco de las raíces y de la parte aérea. Los resultados obtenidos indican que las cepas 2, 4, 5 y 8 produjeron tanto una reducción del área necrosada como una disminución de la superficie cubierta con picnidios. Por lo tanto se las señala como cepas con un potencial biocontrolador frente a la enfermedad. A estas cepas se les investigó el mecanismo de acción. Las cepas 8 y 2 demostraron una elevada actividad proteolítica lo que indicaría que estarían relacionadas con un aumento en la resistencia sistémica inducida en la planta. La cepa 5 aumentó el peso seco aéreo y la 4 el peso seco de la raíz, produciendo plantas más robustas y como consecuencia la reducción de la enfermedad.

**Palabras claves: Control Biológico; antagonismo, actividad proteolítica.**

### ABSTRACT.

#### MODE OF ACTION OF *TRICHODERMA* SPP. INVOLVED IN BIOLOGICAL CONTROL OF SEPTORIA LEAF BLOTCH IN WHEAT

In the present work, experiments were carried out to determine the possible mechanisms of action of isolates of *Trichoderma* spp as a biocontrol agent of leaf blotch of wheat. The *Trichoderma* spp. isolates were coming from soil cultivated with wheat in La Plata area. Thirty isolates were characterized. For the greenhouse bioassay the following treatments were done: control plants, plants inoculated with *S. tritici*, wheat seeds pelleted with *Trichoderma* spp. and wheat seed pelleted with *Trichoderma* spp and inoculated with *S. tritici*. After 21 days of inoculation, in the first leaf the necrotic area and pycnidial coverage were evaluated. The leaf apoplast antifungal proteolytic activity and dry weight of aerial parts and roots was measured in plants treated with the strains that demonstrated the best behaviour as biocontrol agents. The results showed that the strains 2, 4, 5 y 8 decreased significantly the necrotic area and the pycnidial coverage. Thus, these strains have biocontrol activity against the disease. The mechanism of action of those strains were investigated. Plants grown from seed coated with 8 and 2 isolates of *Trichoderma* spp. demonstrated an increased antifungal proteolytic activity, it could be related with systemic induced resistance in plants. On the other hand, The strains 4 and 5 they produced an increase of dry weight of roots and aerial parts respectively producing plant more robust and as a consequence the disease reduction.

**Key words: Biological Control, antagonism, proteolytic activity.**

## INTRODUCCIÓN

La mancha de la hoja del trigo, causada por *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Shroeter, in Cohn (anamorfo *Septoria tritici* Rob. et Desm.) es una importante enfermedad en nuestra región triguera. Annone et al. (1993) registró pérdidas de rendimiento desde un 20 a un 50%, mientras Simón et al. (1996) encontró desde 3 a 13 % de reducción en el peso de 1000 granos. En los últimos años se han utilizado cepas de *Trichoderma* spp. para el biocontrol de enfermedades foliares del trigo (Perelló et al., 2006 y 2009). Las especies de *Trichoderma* basan sus propiedades antagónicas en la activación de mecanismos muy diversos. Pueden ejercer el biocontrol de hongos fitopatógenos indirectamente estimulando el crecimiento de las plantas y sus mecanismos de defensa. Previamente, se encontró una serin-proteasa activa en el apoplasto de la primera hoja de plantas de trigo que es capaz de inhibir la germinación de esporas de *S. tritici*. Esta actividad puede incrementar casi cuatro veces en las hojas de cultivares resistentes y disminuir en los susceptibles (Segarra et al., 2002). El objetivo de este trabajo fue conocer los posibles mecanismos biológico desencadenados por *Trichoderma* spp como biocontrolador de la Septoriosis del trigo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de muestras recolectadas de la rizosfera de trigo de Los Hornos (La Plata) se realizaron los aislamientos de cepas de *Trichoderma* sp. utilizando la técnica de dilución en placas con el medio de cultivo selectivo para *Trichoderma* (TSM). Se realizaron ensayos biológicos mediante inoculaciones artificiales de *S. tritici* en el invernáculo siguiendo la técnica que descripta por Cordo et al. (2007). Se seleccionaron 30 cepas de *Trichoderma* aisladas, se peletearon semillas con el micelio y conidios del antagonista. El peleteado de la semilla se realizó agitando las semillas por 30 minutos en una suspensión preparada con 90 ml de agar agua al 0,25 % al que se le adicionó 10 ml de una suspensión de conidio de la *Trichoderma* con 1 gota de tensioactivo. Una vez finalizado el peleteado, se las dejó secar a temperatura ambiente por 24hs. Los tratamientos fueron los siguientes: plantas control; plantas inoculadas con *S. tritici*; semillas de trigo "peleteadas" con *Trichoderma* spp y semillas de trigo "peleteadas" con *Trichoderma* spp y posteriormente inoculadas con *S. tritici*.

Se evaluó el potencial antagonista de la cepas ensayadas estimando la reducción del área necrosada y de la superficie cubierta con picnidios, en ambas primera y segunda hoja. Plantas de trigo de un cultivar susceptible (Buck Guapo) se inocularon con una mezcla de 2 cepas virulentas de *Septoria tritici*. Esto se comparó con un testigo sin antagonistas y con una única aplicación del patógeno. También se determinó el peso seco aéreo y de las raíces de cada cepa y se comparó con el trigo control. De aquellas cepas que demostraron mejor efecto biocontrolador frente a la Septoriosis del trigo se realizaron pruebas de la actividad antifúngica del fluido proteolítico intercelular. Se peletearon semillas con cada una de las cepas y se sembraron en bandejas bajo condiciones de invernáculo. Luego dichas plantas fueron inoculadas con el patógeno; a los 14 días fueron cortadas y se realizaron las pruebas bioquímicas. La extracción del fluido intercelular se practicó desde las hojas tal como describe Segarra et al. (2003). El fluido intercelular es sometido a 70 °C por 30 minutos para purificar parcialmente las muestras de algunos inhibidores de proteasas obteniéndose el FI 70. Este se utilizó posteriormente para determinar la actividad proteolítica como describe Segarra et al (2003).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Solo la primera hoja presento diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo, tanto para la reducción del porcentaje de la necrosis en hoja como para porcentaje de reducción del área cubierta por picnidios. Las cepas de *Trichodermas* que presentaron mejor comportamiento como agente biocontrolador, fueron las 2, 4, 5 y 8 con una disminución de la superficie cubierta con picnidios del 78%, 54%, 65% y el 65% respectivamente. Estas cepas también presentaron una reducción del área necrosada en un 35%, 44%, 36% y 38% respectivamente en comparación con el testigo (trigo sin peletear e inoculado con *Septoria tritici*). Las cepas 5 y 2 aumentaron un 29% y un 30% el peso seco

aéreo respectivamente y la 4 en un 33% el peso seco de la raíz, comparados con el testigo, produciendo plantas más robustas y como consecuencia la reducción de la enfermedad. Se observó que las cepas 8 y 2, demostraron una alta actividad proteolítica respecto al testigo, de 150 y 80 % respectivamente, o que indicaría que estarían relacionadas con un aumento en la resistencia sistémica inducida en la planta. Viterbo et al., (2002) puntualizaron que en el control biológico indirecto no hay contacto entre el agente patógeno y su biocontrolador. Las hojas de plantas crecidas de semillas peleteadas con *Trichoderma* spp. no contienen al hongo. Por lo tanto, el control de la septoriosis en este trabajo podría ser indirecto capaz de causar cambios morfológico y bioquímicos.

#### LITERATURA CITADA

- Annone J, Conta O, Polidoro A, Calzadori A 1993. Información adicional sobre el efecto de "mancha de la hoja" causada por *Septoria tritici* sobre los rendimientos. INTA EEA Pergamino. Informe N° 146, 5 pp.
- Cordo, C., Mónaco, C., Segarra, C., Simón M.R., Mansilla, Y. A., Perelló, A., Kripelz, N., Bayo, D. & Conde, R.D. 2007. *Trichoderma* spp. as elicitors of wheat plant defense responses against *Septoria tritici*. *Biocontrol Science and Technology*. 17,687-698.
- Perelló A., Mónaco C., Moreno V., Cordo C. and Simón MR. 2006. The effect of *Trichoderma harzianum* and *T. koningii* on the control tan spot (*Pyrenopeziza tritici-repentis*) and leaf blotch (*Mycosphaerella graminicola*) of wheat under field conditions in Argentina. *Biocontrol Science and Technology*. 16,803-813.
- Perelló A., Moreno V., Mónaco C. and Simón MR. 2009. Biocontrol of *Septoria tritici* Blotch on wheat by *Trichoderma* spp. under field conditions in Argentina. *BioControl*. 54, 113- 122.
- Segarra, C., Casalongue, C. Pinedo M., Cordo C., Conde R. 2002. Changes in wheat leaf extracellular proteolytic activity after infection with *Septoria tritici*. *Journal of Phytopathology*. 150,105-111.
- Segarra, C., Casalongue, C. Pinedo M., Ronchi, V., Conde R. 2003. A germin-like protein of wheat leaf apoplast inhibit serine proteases. *Journal of Experimental Botany*. 54,1335-1341.
- Simón MR, Perelló A, Cordo C, Arriaga H 1996 Influencia de la infección tardía de *Septoria tritici* Rob. Ex Desm. Sobre el peso de mil granos y algunos parámetros de calidad en *Triticum aestivum* L. *Investigación Agraria*. 11, 161-171.
- Viterbo A., Ramot O., Chemin L., Chet I. 2002. Significance of lytic enzymes from *Trichoderma* spp in the biocontrol of fungal plant pathogens. *Journal of Antonie van Leeuwenhoek*. 81,549-556