

## HIPERPARASITISMO DE *TRICHODERMA HARZIANUM*, *T. VIRIDE* Y *T. PSEUDOKONINGII* SOBRE DIFERENTES HONGOS FITOPATÓGENOS

Ileana Sandoval y María O. López

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

### RESUMEN

Se estudió el hiperparasitismo de cinco aislamientos de *Trichoderma* spp. que fueron efectivos en las pruebas *in vitro*, *in vivo* y campo para el biocontrol de *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora nicotianae*, *P. capsici*, *Pythium aphanidermatum* y *Pythium* sp. en los cultivos de tomate, tabaco y pimiento. El estudio microscópico reveló la capacidad hiperparasítica de los aislamientos utilizados en el biocontrol. Las características del hiperparasitismo detectados con mayor frecuencia fue la adherencia vigorosa de las hifas del patógeno, enrollamiento de las hifas, alteraciones citoplasmáticas con presencia de vacuolas y granulaciones, ruptura de las paredes celulares y fragmentación de las hifas a nivel del septo. Esta última característica predominó en los aislamientos de *R. solani*, mientras que los primeros se presentaban para las restantes especies estudiadas.

Palabras claves: biocontrol, pruebas *in vitro*, pruebas *in vivo*, hiperparasitismo, *Trichoderma* spp.

### ABSTRACT

Five effective isolates of *Trichoderma* spp. against *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora nicotianae*, *P. capsici*, *Pythium aphanidermatum* and *Pythium* spp. in tomato, tobacco and pepper were tested *in-vitro* in order to know their hyperparasitic activity. The hyphal interactions observed were the *Trichoderma* hyphal growing over and along hyphae of the pathogen; hyphal coiling; vacuolation; granulation and disintegration of the cytoplasm and lysis of the host cells walls at the septa. This last characteristic was frequently observed in the *R. solani* isolates, meanwhile the other hyphal interactions were detected in the rest of the pathogenic species. This microscopic study confirms the hyperparasitic action of the tested *Trichoderma* isolates.

Key words: biocontrol, *in vitro* test, *in vivo* test, hyperparasitism, *Trichoderma* spp.

### INTRODUCCIÓN

La capacidad que tienen algunos hongos de parasitar a otros se conoce como hiperparasitismo o micoparasitismo, demostrado para el género *Trichoderma* hacia diferentes patógenos de plantas como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfii*, especies de los géneros *Pythium*, *Phytophthora*, *Armillaria*, entre otros, lo cual ha sido demostrado por numerosos estudios realizados en este sentido [Ferrara y Cerrato, 1976; Dumas y Bovonosky, 1992; Loreto *et al.*, 1993].

Las características microscópicas del hiperparasitismo entre especies de *Trichoderma* e hifas de diferentes patógenos se manifiesta por la presencia de haustorios, enrollamiento vigoroso de la hifa, vacuolación, formación de gránulos, desintegración del citoplasma y lisis celular [Wilson *et al.*, 1988; Branhanbahatt *et al.*, 1989; Tong-Kwee y Boonkeng, 1990].

Se ha comprobado experimentalmente mediante pruebas de laboratorio y campo la efectividad del biocon-

trol de algunos aislamientos de *Trichoderma* contra diversos patógenos de tabaco, tomate y pimiento. Las pruebas *in vitro* han demostrado su capacidad hiperparasítica al crecer y esporular abundantemente sobre dichos patógenos. Sin embargo, el estudio microscópico a nivel celular se desconoce, por lo que este trabajo tiene como objetivo conocer las características del hiperparasitismo de dichos aislamientos sobre *Phytophthora nicotianae*, *P. capsici*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium* sp. y *R. solani*.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron cinco aislamientos de *Trichoderma* procedentes de diferentes sustratos, los cuales han sido efectivos *in vitro*, *in vivo* y en fase de ampliación en campo para el biocontrol de las enfermedades pata prieta en tabaco, *damping-off* del tomate y marchitez del pimiento. Los aislamientos correspondían con tres cepas de la

sección *Pachybasium* identificadas como *T. harzianum* (cepas A34, A53 y A84); un aislamiento de *T. viride* (A86); y un aislamiento de *T. pseudokoningii* (PR-617). Todas las cepas se identificaron según los criterios de Bissett (1991).

Las pruebas de hiperparasitismo se efectuaron en placas de Petri en sustrato agar papa dextrosa en cultivo dual. Se utilizó la técnica del celofán según lo recomendado por Tronsmo y Dennis (1978). Las placas preparadas según la técnica se incubaron entre 5-7 días a 25°C. Las observaciones del micelio afectado por la acción de *Tri-*

*choderma* spp. fue teñido con azul algodón para describir las características de las hifas hiperparasitadas por la acción de este antagonista.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las observaciones realizadas en este estudio demostraron que las cepas de *Trichoderma* utilizadas en el biocontrol de patógenos son capaces de afectar las hifas de los diferentes hongos de diversas maneras (Tabla 1).

Tabla 1. Tipo de hiperparasitismo producido por *Trichoderma* sobre las hifas del patógeno

Patógeno	Características del hiperparasitismo				
	<i>T. harzianum</i> (A34)	<i>T. harzianum</i> (A53)	<i>T. harzianum</i> (A84)	<i>T. viride</i> (A86)	<i>T. pseudokoningii</i> (PR617)
<i>R. solani</i> (tomate)	1	1	1	1	1
<i>R. solani</i> (tabaco)	—	1	1	—	—
<i>P. nicotianae</i>	3	2,3,6	3,7	3	2,4
<i>P. capsici</i>	3,4,5	3,6	3,6	2,6	8
<i>P. aphanidermatum</i>	5,6	3,7,8	2,8	3,6,7	6
<i>Pythium</i> sp. (tabaco)	6	3	8	3,6	2,8

- 1: Fragmentación de la hifa a nivel del septo  
 2: Enrollamiento de la hifa del patógeno por *Trichoderma*  
 3: Hifa de *Trichoderma* fuertemente adherida al patógeno  
 4: Hifa de *Trichoderma* dentro de la del patógeno  
 5: Destrucción de la pared celular  
 6: Porciones de la hifa con citoplasma vacuolado  
 7: Deformación de la hifa del patógeno  
 8: Presencia de septos adventicios  
 —: No se observa

Las observaciones sugieren que hay una mayor tendencia entre los aislamientos de *T. harzianum* y *T. viride* de provocar, principalmente a los integrantes de la clase Oomycetes, alteraciones citológicas como son vacuolación del citoplasma, deformación o destrucción de las paredes celulares, así como la adherencia de la hifa de *Trichoderma* a las del patógeno. El aislamiento *T. pseudokoningii* por el contrario se presentó fuertemente enrollado en las hifas del patógeno, indujo formación de septos adventicios y provocó la formación de vacuolas en el citoplasma. Solamente fueron observadas hifas de *Trichoderma* dentro del micelio de *P. capsici* y *P. nicotianae* por parte de *T. harzianum* y de *T. pseudokoningii* respectivamente. El tipo de hiperparasitismo producido por las diferentes cepas de *Trichoderma* en los patógenos se encuentra representado en la Fig. 1.

Se destaca la fragmentación o lisis a nivel del septo que inducen todos los aislamientos de *Trichoderma* ha-

cia *R. solani*, lo cual coincide con lo descrito por Elías *et al.* (1993) en las observaciones realizadas entre *Trichoderma* y *R. solani* procedente de posturas de café con damping-off.

Otras alteraciones como el enrollamiento de la hifa con lisis y destrucción de la pared celular ha sido registrada para *R. solani* [Wilson *et al.*, 1988], lo cual no fue observado en nuestros aislamientos.

Las alteraciones citológicas registradas en general coinciden con lo informado en este sentido para el hiperparasitismo de *Trichoderma* spp. hacia los hongos fitopatógenos, lo cual lleva implícito la formación de haustorios y producción de antibióticos [Dennis y Webster, 1971; Tong-Kwee y Boonkeng, 1990].

Aunque en nuestras observaciones no se precisaron haustorios ni se estudió el mecanismo de producción de metabolitos, antibióticos, enzimas líticas, lo cual

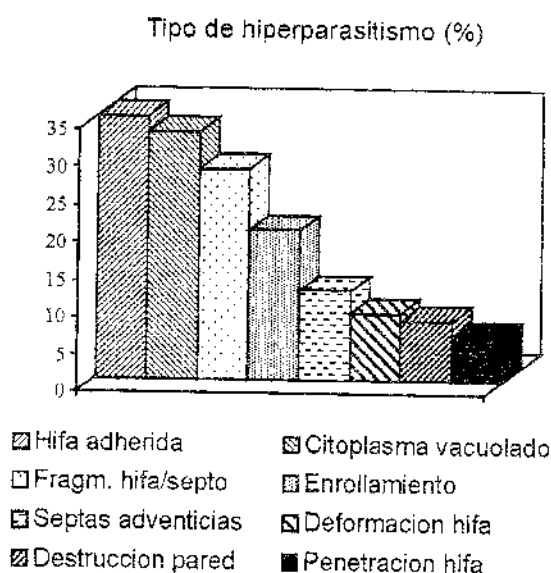


Figura 1. Frecuencia de observación de las características del hiperparasitismo de *Trichoderma* hacia los hongos

está estudiado para este grupo de hongos [Ghisalverti y Sivasithamparam, 1991; Deane *et al.*, 1993; Huang *et al.*, 1995], consecuentemente provocaron alteraciones derivadas de estos fenómenos, que apoyan las características citológicas observadas en el micelio de las especies hiperparasitadas por los aislamientos de *Trichoderma* estudiados.

Una de las vías que permite analizar la efectividad de *Trichoderma* spp. con respecto al control de los hongos fitopatógenos, es mediante el análisis celular de su actividad hiperparasítica, por lo que estos estudios apoyan los registros favorables obtenidos en el biocontrol de *R. solani*, *P. nicotianae*, *P. capsici* con la aplicación de biopreparados de *Trichoderma* spp. en tomate, tabaco, pimiento, ornamentales y numerosas hortalizas en huertos, hidropónicos y organopónicos del país [Sandoval *et al.*, 1995; 1998; Rodríguez y Sandoval, 1998].

## CONCLUSIONES

- Los estudios microscópicos demostraron que los aislamientos de *Trichoderma* son hiperparasitos de *R. solani*, *P. capsici* y *Pythium* sp.
- Las características del hiperparasitismo detectado con mayor frecuencia fue la adherencia de las hifas hacia las del patógeno, citoplasma vacuolado y granuloso, enrollamiento de la hifa y lisis celular principalmente a nivel del septo.
- Los aislamientos de *T. harzianum* y *T. viride* produjeron más alteraciones citoplasmáticas en los aislamientos de la clase *Oomycetes* que el aislamiento de *T. pseudokoningii*.

## REFERENCIAS

- Bissett, J.: «A Revision of the Genus *Trichoderma* II Infrageneric Classification», *Can. J. Bot.* 69:2357-2372, 1991.
- Branhanbhatt, A. B. A. N. Mukhopadhyay; K. K. Patel: «*Trichoderma harzianum* a Potential Biocontrol Agent for Tobacco damping-off», *Res. J.* 13 (2): 170-172, 1989.
- Deane, E.; J. Whipps Reberdy; J. Lynch: «Isolation and Cloning of a Chitinase Gene from *Trichoderma harzianum*». Abstracts 6<sup>th</sup> International Congress of Plant Pathology, July 28- August 5, Palais de Montreal, Canada, 1993, p. 295.
- Dennis, C.; J. Webster: «Antagonistic Properties of Species Groups of *Trichoderma* III. Hyphal Interactions», *Trans. Br. Mycol. Soc.* 57: 363-369, 1971.
- Dumas, M. T.; N. W. Boonovsky: «Scanning Electron Microscopy of Mycoparasitism of *Armillaria* rhizomorphs by Species of *Trichoderma*», *European Journal of Forest Pathology* 22 (6-7): 379-383, 1992.
- Elias, R.; O. Arcos; G. Arbeláez: «Estudio del antagonismo de algunas especies de *Trichoderma* aisladas de suelos colombianos en el control de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*», *Agronomía Colombiana* 10 (1): 51-56, 1993.
- Ferrara-Cerrato, R.: «Hiperparasitismo de *Trichoderma viride* (Fungi Hyphomycetes) sobre hongos fitopatógenos y saprofitos», *Revista Latinoamericana Microbiología*, 18: 77-81, 1976.
- Ghisalverti, E. L.; K. Sivasithamparam: «Antifungal Antibiotics Produced by *Trichoderma* spp.», *Soil Biol. Biochem.*, 23: 1010-1020, 1991.
- Huang, Q.; Y. Tezuka; T. Kikuchi; A. Nishi; K. Tubaki; K. Tanaka: «Studies on Metabolites of Mycoparasitic Fungi. Metabolites of *Trichoderma koningii*», *Chem. Pharm. Bull.*, 43: 223-229, 1995.
- Loreto, M.; C.H. Hayes; C. Peterbauer; G. E. Harman: «Synergistic Antifungal Activity of Cell Wall Degrading Enzymes Produced by Biocontrol Fungi of the Genera *Trichoderma* and *Gliocladium*», Abstracts 6<sup>th</sup> International Congress of Plant Pathology, July 28- August 5, Palais de Montreal, Canada, 1993, p. 265.
- Rodríguez, F.; I. Sandoval: «Efectividad de diferentes productos químicos y del biopreparado de *Trichoderma harzianum* contra enfer-

- medades fúngicas del tomate en hidropónico», *Revista Fitosanidad* 2 (1-2): 51-56, 1998.
- Sandoval, I.; M. O. López; D. García: «*Trichoderma harzianum*: un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y del pimiento», *Boletín Técnico*, CID-INISAV no. 4, Cuba 1995.
- Sandoval, I.; M. O. López; T. Bonilla; Y. Tomas: «Hongos que atacan al clavel y antagonismo *in vitro* con *Trichoderma* spp.», *Revista Fitosanidad* 2 (3-4): 41-43, 1998.
- Tong-Kwee, I.; T. Boonkeng: «Antagonism *in vitro* of *Trichoderma* Species Against Several Basidiomycetes Soil-Borne Pathogens and *Sclerotium rolfsii*», *Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz*, 97 (1): 33-41, 1990.
- Tronsmo, A.; C. Dennis: «Effect of Temperature on Antagonistic Properties of *Trichoderma* species», *Trans. Br. Mycol. Soc.* 7 (3): 469-474, 1978.
- Wilson, M.; E. K. Crawford; R. Campbell: «Biological Control by *Trichoderma harzianum* of Damping-off of Letuce Caused by *Rhizoctonia solani*», *EPPO Bulletin* 18 (1): 880-885, 1988.