

# DESARROLLO DE UN FUNGICIDA BIOLÓGICO A BASE DE UNA CEPA DEL HONGO *TRICHODERMA HARZIANUM* PROVENIENTE DE LA REGIÓN ANDINA VENEZOLANA

Rosaima García,<sup>1</sup> Ramón Riera,<sup>2</sup> Carlos Zambrano<sup>3</sup> y Luis Gutiérrez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Mérida, Apartado Postal 25, Venezuela, teléf.: 0251-2630090, rgcrespo@inia.gov.ve

<sup>2</sup> Servicio Autónomo de Sanidad Vegetal (SASA). Mérida, Venezuela

<sup>3</sup> Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). Barquisimeto, Venezuela

## RESUMEN

Se desarrolló un fungicida biológico a base del hongo *Trichoderma harzianum* para el control de varias enfermedades fungosas del suelo que afectan cultivos agrícolas en Mérida, Venezuela. La formulación se obtuvo a partir de una cepa aislada de un suelo de tradición ajera proveniente del municipio de Rivas Dávila de este estado, ubicado a 2 200 msnm con temperatura promedio de 18°C. La cepa mostró en laboratorio y campo alta capacidad antagónica contra los hongos *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium sp.*, *Plasmodiophora brassicae* y *Phytohthora sp.*, y logró reducciones de la incidencia de las enfermedades superiores a 25%, en dependencia de ellas y de las condiciones ambientales. Experiencias en ensayos de validación con el uso de este antagonista para el manejo de *Rhizoctonia solani* mostraron control de la enfermedad que pueden llegar hasta 98%. El producto se obtuvo mediante fermentación sólida en forma artesanal y formulado en polvo mojable, bajo concentración de  $2 \times 10^{12}$  ufc en un peso total de 150 g, para una proporción de 25% de este ingrediente activo y 75% de material inerte, suficiente para aplicarse sobre una hectárea de cultivo, con una pureza de 100% y viabilidad de esporas de 95%. Esta cepa se ha probado con éxito en cultivos de papa y otras solanáceas, ajo, crucíferas, leguminosas, plátano, café, tabaco, entre otros, en siembras ubicadas en diferentes pisos altitudinales, en dependencia de su capacidad, que oscilan de 5 000 a 3 000 msnm, con el mantenimiento de la capacidad antagónica.

Palabras clave: fungicida biológico, *Trichoderma harzianum*, hongos del suelo

## ABSTRACT

A biological fungicide on the basis of *Trichoderma harzianum* fungus was developed for the control of many soil fungus diseases that affects agriculture crops in Merida Venezuela. Formulation was obtained from a strain isolated of a garlic tradition soil proceeding from Municipality Rivas Davila in this state, being at 2 200 mosl with temperature average of 18°C. Strain showed a very hard antagonistic capacity, in both laboratory and field conditions, against *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium spp.*, *Plasmodiophora brassicae* and *Phytohthora sp.*, and achieved reductions greater than 25% on disease incidences, depending of them and the environments conditions. Validation tests experiences with the use of this antagonistic for *Rhizoctonia solani* management had showed control of this disease up to 98%. The product was obtained by solid fermentation in handmade form, and was formulated in wet dust in concentration of  $2 \times 10^{12}$  ufc, with a total weigh of 150 g in a proportion of 25% of this active ingredient and 75% inert material; which it is enough to be applied in one crop hectare; with a purity of 100% and spore viability of 95%. This strain has been proven successfully in crops as potato and other solanaceas, garlic, crucifers, leguminous, banana, coffee, tobacco; among others, in crop fields situated in different floor altitudes, depending of its capacity, varying between 5 000 to 3 000 mosl, keeping the antagonistic capacity.

Key words: biological fungicide, *Trichoderma harzianum*, soil fungi

## INTRODUCCIÓN

El uso inadecuado e indiscriminado de plaguicidas químicos como los fungicidas y fumigantes ha generado serios problemas de fungorresistencia, contaminación ambiental y toxicidad. Ello ha motivado la búsqueda de otros métodos efectivos y no perjudiciales para combatir los patógenos de plantas.

Una respuesta positiva y concreta a la campaña mundial de limpieza del planeta es la utilización de microorganismos antagónicos competitivos para la pro-

tección de los cultivos de los patógenos fúngicos del suelo. En particular el uso de especies del género *Trichoderma* ha merecido la atención máxima como agente de biocontrol [Stefanova *et al.*, 1995, 1999; Stefanova, 2000].

*Trichoderma* es un hongo natural del suelo o de materiales vegetales en estado de descomposición, que se presenta en numerosos suelos de uso agrícola y tiene la capacidad de adaptarse a varios ambientes. Se descri-

bió por primera vez en 1801 por Persoon ex Gray [citado de Harman, 2000]. Taxonómicamente pertenece al Phylum Ascomycota, Clase Euascomycetes, Orden Hypocreales, Familia Hypocreaceae. Es un hongo filamentoso cuyo estado teleomórfico corresponde al hongo *Hypocrea* spp. El género *Trichoderma* tiene cinco especies consideradas como antagonistas: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma pseudokoningii* y *Trichoderma viride*. Morfológicamente se compone de conidias y fialides [Larone, 1995; Sutton *et al.*, 1998].

La habilidad antifúngica de *Trichoderma* fue encontrada desde 1930, y desde entonces se ha hecho un esfuerzo extensivo en su uso para el control de enfermedades de las plantas; sin embargo, su comercialización es reciente.

Varios mecanismos de acción antagónica del hongo *Trichoderma* se han demostrado durante años, lo que explica el control microbiano de fitopatógenos con su uso en antibiosis, lisis de células, micoparasitismo, competencia por espacio y nutrientes y persistencia en el medio ambiente [Papavizas y Lumsden, 1980; Ayers y Adams, 1981; Cook y Baker, 1983].

Los primeros estudios a nivel mundial sobre producción de metabolitos tóxicos de hongos por *Trichoderma* datan de 1934, cuando Weindling, al hacer filtrados de cultivos de *T. lignorum*, aisló un metabolito orgánico en forma cristalina, muy tóxico aún a altas diluciones sobre *R. solana*. Este metabolito recibió el nombre común de Gliotoxin [Weindling, 1934; Weindling y Emerson, 1936]. Posteriormente se publicó la producción de otros como Viridin por *T. viride* [Brian *et al.*, 1946], soluble en cloroformo, y Trichodermin en *T. viride* y *T. polysporum* [Dennis y Wester, 1971a,b].

Más recientemente se ha encontrado que cepas específicas del hongo del género *Trichoderma* pueden colonizar y penetrar los tejidos de las raíces de las plantas, e inician una serie de cambios morfológicos y bioquímicos en las plantas, lo cual conlleva a la resistencia sistémica inducida de la planta (ISR). La capacidad de *T. harzianum* de promover el crecimiento fue verificado en experimentos de invernaderos y en sistemas hidropónicos, donde fue observado 30% de incrementos en la emergencia de la semilla, y estas plantas presentaron un incremento de 25% del área radicular, asimismo un incremento en las concentraciones de fósforo y hierro [Yedidia *et al.*, 1999; Yedidia *et al.*, 2001].

El género *Trichoderma* spp. se conoce en Venezuela desde 1978, cuando se realizaron los primeros trabajos con-

tra la pata negra del ajonjolí, causado por *Macrophomina phaseolina*, tanto a nivel de laboratorio como en campo. Desde ese momento y hasta el 2005 el uso de *Trichoderma* spp. para el manejo de fitopatógenos habitantes del suelo se generalizó desde semilleros hasta su incorporación en campo; sin embargo, las aplicaciones masivas en campo se iniciaron con los problemas en tabaco (*Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Oomycetos*, *Macrophomina phaseolina*). Las marcas comerciales en el mercado varían desde polvos mojables, peletizados –formulados o biopreparados en arroz– a compuestos líquidos –más aditivos para controlar pH, espuma–, donde el mayor consumidor es el cultivo del maíz por sus problemas con *Rhizoctonia solani* AG1 I A [Zambrano, 2005].

Experiencias en la evaluación de las bondades del hongo *Trichoderma harzianum* para el control de enfermedades fungosas desarrollados en sistemas agrícola merideños venezolanos mostraron que *T. harzianum* logró disminuir la incidencia de hernia de crucíferos hasta 27%, con baja severidad de daño con respecto al testigo, que mostró 60% de incidencia con alta severidad de daño. Contra *Rhizoctonia solani* en papa se encontró hasta 27% de incidencia de 60% mostrado en el testigo. Contra *Sclerotium cepivorum* en ajo se encontró un control superior cuando se usaron biopreparados autóctonos alternados con fungicidas, tanto en plantas (0%) como en bulbos de ajo (0,9%) en relación con el testigo, que presentó 100 y 97,7% respectivamente [García *et al.*, 2003; García *et al.*, 2001].

Se encontraron resultados positivos detallados con la utilización de *Trichoderma harzianum* cepas C5 y C7 para el control de *Rhizoctonia solani*, causante de costra negra o rhizoctoniasis de la papa en Venezuela, bajo condiciones controladas y de campo en la localidad de Mucuchies del estado de Mérida. Los tratamientos a base de *T. harzianum* lograron reducir la incidencia de la enfermedad desde 33%, encontrada en el testigo, hasta 0% bajo condiciones controladas, y en condiciones de campo la cepa C7 logró mantener en bajos niveles la incidencia de la enfermedad en tubérculos, con valores que oscilaron entre 26,40 y 31,4%, cuando se sembró semilla sana y contaminada respectivamente, en relación con el tratamiento testigo sin aplicación, donde los valores estuvieron entre 55,10 y 52,38% [García *et al.*, 2002].

Desde hace varios años el INIA investiga alternativas menos contaminantes para el manejo de plagas y enfermedades, y ha profundizado en estudios y selección

de cepas más efectivas para el control de problemas de hongos del suelo y el desarrollo de formulaciones, con el objeto de dar respuesta a esta demanda y con ello contribuir en la disminución del uso de plaguicidas químicos usados en la agricultura venezolana.

El presente trabajo tuvo por objeto evaluar y desarrollar una formulación biológica a base de una cepa de *Trichoderma harzianum* adaptada a varias zonas agroecológicas o pisos climáticos, que permita garantizar el control de enfermedades fungosas en variadas zonas, y disminuir así el uso de plaguicidas químicos, actualmente utilizados como única medida de control en la gran mayoría de los sistemas de producción agrícola venezolanos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron aislamientos a partir de suelos de tradición ajera provenientes de los municipios de Rangel y Rivas Dávila, del estado de Mérida, ubicados entre 2 200 y 3 500 msnm, con temperatura promedio de 18 y 11,6°C, respectivamente, a través del método de dilución decimal seriada en plato agar, también llamado *monospórico*, con la utilización del medio de cultivo agar-papa-dextrosa. Posteriormente se sometieron a pruebas de contraste *in vitro* en laboratorio contra los hongos patógenos *Sclerotium cepivorum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp. y *Phytophthora* sp., y se utilizó el medio de cultivo agar-papa-dextrosa. Para ello se tomaron discos de 5 mm de diámetro de cultivos puros en crecimiento exponencial, tanto del hongo *Trichoderma* como de los fitopatógenos. El disco se colocó en posición opuesta a los patógenos (cada uno por separado) dentro de placas de Petri que contenían el medio de cultivo PDA; se sellaron y se incubaron a temperatura de 25°C. Las observaciones se realizaron todos los días, y se tomaron datos de crecimiento de los aislamientos, presencia o no de halos blancos entre los dos hongos contrastados desarrollados, presencia o no de mezclas y enrollado de hifas del antagonista contra los otros hongos en el microscopio, e invasión o no de *Trichoderma* al especie correspondiente al otro hongo.

De todos los aislamientos se seleccionó T<sub>12</sub> por presentar las mejores cualidades antagónicas. Este aislamiento se caracterizó morfológica, fisiológica y taxonómicamente.

El hongo se reprodujo masivamente por el método de fermentación sólida en forma artesanal con sustrato alimenticio de arroz entre 5 y 7% de granos partidos.

Para iniciar el proceso se partió de una réplica pura de la cepa seleccionada hecha crecer en un tubo de ensayo con el medio de cultivo PDA, una vez reactivada la patogenicidad a través de una prueba de contraste con un hongo patógeno. Se prepararon inóculos madre (matrices) a través de fermentación sólida con arroz a 5% de granos partidos, se incubaron de cinco a ocho días a  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , y cuando estaban en crecimiento exponencial se les colocó agua estéril y surfactante Tween 80 para extraer esporas. Con este inóculo se procedió a sembrar el hongo en fermentadores contruidos con bolsas nacionales de polipropileno de 3 kg de capacidad, donde se habían colocado 200 g de arroz a 7% de granos partidos, esterilizado a 15 PSI y 121°C durante 20 min. Se inoculó cada bolsa con  $1 \times 10^8$  ufc. Se incubaron durante un máximo de cinco días y se secaron.

Para lograr el producto comercial se extrajeron las esporas y se adicionó un ingrediente inerte como soporte y un preservante. Se envasó en bolsas de aluminio con alta capacidad para preservar esporas hasta por dos años.

En todas las fases de los procesos se realizó control de la calidad, desde la selección de la cepa pura y activada, en la fase de inoculación de producción masiva, durante la fermentación, al final de la producción y con posterioridad a la formulación. El control se basó en la evaluación de pureza, viabilidad, patogenicidad y virulencia de la cepa, y concentración de conidios. Lo anterior fue aplicado de acuerdo con la fase, como sigue:

1. En la selección de la cepa se evaluó su patogenicidad-virulencia (pruebas de contraste), pureza (ausencia de otros microorganismos) y capacidad de reproducción (capacidad y velocidad de reproducción en medios de cultivos PDA y arroz).
2. En la preparación de inóculo y fermentadores se evaluó pureza, viabilidad y concentración de conidios.
3. Al final de la producción se evaluó patogenicidad a través de pruebas de contraste, pureza, viabilidad y concentración de conidios.
4. En el producto formulado se evaluó viabilidad, concentración de conidios, pureza y patogenicidad-virulencia (laboratorio y campo).

El conteo de conidios se realizó con la cámara de Neuvaue; la pureza y viabilidad por siembras de diluciones hasta  $10^{-6}$  en placas de Petri que contenían el medio de cultivo agar-papa-dextrosa (conteo de cantidad de colonias de *Trichoderma* aparecidas y/o de colonias de otros microorganismos).

Se almacenaron muestras del producto en bolsas plásticas, bajo condiciones de frío (10-15°C) y temperatura ambiente (25 a 30°C), hasta un lapso de dos años, y se tomaron datos de viabilidad de esporas, concentración y pureza.

Se realizaron pruebas de campo sobre los cultivos de papa y otras solanáceas, ajo, crucíferas, leguminosas, plátano, café y tabaco, entre otros, bajo siembras ubicadas en diferentes pisos altitudinales que oscilan de 5 000 a 3 000 msnm. Bajo temperaturas entre 11,6 y 30°C se evaluó la capacidad antagónica contra los hongos

*Rhizoctonia solani*, *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium* sp., *Plasmodiophora brassicae*, *Phytohthora* sp. y otros hongos aéreos.

El hongo se aplicó a la semilla o en el momento de la siembra, limpia o aporque, y de 15 a 20 días después del aporque, en papa, hortalizas y leguminosas. En café se aplicó en plantas de viveros contra *Rhizoctonia solani* y *Meloidogyne* sp., en plátano contra bacteriosis y hongos aéreos, y en tabaco desde el semillero hasta la siembra, contra *S. rolfsii* y *R. solani*. Los detalles de los ensayos se especifican en la *Tabla 1*.

**Tabla 1. Diseño de los ensayos de evaluación de eficiencia de control de *Trichoderma harzianum* sobre diferentes enfermedades de cultivos agrícolas en el estado de Mérida**

Detalles de evaluaciones Enfermedades/cultivo	Ubicación de la prueba	Tratamientos
<i>Plasmodiosphora brassicae</i> (crucíferas)	Municipio de Miranda a 2 000 msnm. Finca de ocho meses de rotación por alta incidencia de hernia. Variedad Pack Choi. Parcelas de 30 m <sup>2</sup>	Testigo sin tratamientos Biopreparado T <sub>12</sub> Carboxin + tiram/1 L/ha (Vitavax)
<i>Rhizoctonia solani</i> (papa y café)	La Toma, municipio de Rangel a 3 100 msnm. Parcela con alta incidencia de Rhizoctoniasis. Variedad Tibisay. Parcelas de 30 m <sup>2</sup>	Testigo sin tratamiento Biopreparado T <sub>12</sub> Uso de Pencycuron sobre semilla sana y enferma en papa
<i>Sclerotium cepivorum</i> (ajo)	La Mucumpate, municipio de Rangel a 2 900 msnm. Suelo contaminado 1 esclerocio/10g de suelo. Variedad Ajo criollo. Parcelas de 12 m <sup>2</sup>	Testigo sin tratamiento. Biopreparado T <sub>12</sub> . Biopreparado T <sub>12</sub> + Sumilex + Folicur Sumilex + Folicur
<i>Fusarium</i> sp. parchita	El Vigía, a 105 msnm. Parcela con incidencia elevada de marchites por <i>Fusarium</i> sp. Parcelas de ½ ha	Testigo sin tratamiento Tratamiento: Biopreparado T <sub>12</sub>
<i>Sclerotium rolfsii</i> (caraota y tabaco)	Lagunilla, municipio de Campo Elías a 900 msnm. Cultivo de tomate infectado con <i>S. rolfsii</i> . Parcela de ¼ ha	Testigo sin tratamiento. Biopreparado T <sub>12</sub>
<i>Phytohthora</i> sp. (tomate)	Lagunilla, municipio de Campo Elías a 900 msnm. Cultivo de tomate infectado con <i>Phytohthora</i> sp. Parcela de ¼ ha	Testigo sin tratamiento. Biopreparado T <sub>12</sub>
Hongos aéreos y <i>Erwinia carotovora</i> (plátano)	El Vigía a 105 msnm. Parcela con incidencia elevada de hongos aéreos y marchitez por <i>Erwinia carotovora</i> . Parcela de ½ ha	Testigo sin tratamientos Biopreparado T <sub>12</sub> + humus

Las evaluaciones se realizaron cada siete días. Como criterio de evaluación se tomó el número de plantas enfermas, el número de productos enfermos en la cosecha, la severidad de daño de la cosecha, la apariencia externa del producto cosechado y el rendimiento estimado en kilogramo por hectárea.

## RESULTADOS

A partir de un suelo de tradición ajera estudiado se obtuvieron 41 aislamientos. Las colonias de *Trichoderma* crecieron rápidamente y produjeron conidios en cinco días a 25-30 ± 5°C, en el medio de cultivo agar-papa-

dextrosa (PDA). Estas eran compactas, comúnmente de color verde. Al formar conidios se veían de color verde azulado o verde amarillentas. Algunas formaron anillos concéntricos en agar-papa-dextrosa, lo que coincide con lo descrito por Hoog *et al.* (2000), Larone (1995) y Sutton *et al.* (1998).

Taxonómicamente este aislamiento resultó ser de la especie *Trichoderma harzianum*, de acuerdo con las características morfológicas descritas por Riffai (1969).

En las pruebas de contraste *in vitro*, la cepa T<sub>12</sub> proveniente de un suelo ajero de Rivas Dávila resultó ser altamente antagonico contra todos los hongos contrastados, y mostró antagonismo por parasitismo (en el microscopio se observó enrollamiento de hifas de *Trichoderma* contra las hifas de los hongos patogénicos), cierta actividad antibiótica y competencia por espacio, ya que invadió casi toda la placa en menos de cinco días.

Recientemente se ha descubierto que, además de estos mecanismos de acción, este hongo tiene la capacidad de incrementar la tolerancia de plantas al estrés ya que promueve la proliferación de raíces, participa en la solubilización y asimilación de nutrientes inorgánicos, activa los mecanismos de resistencia de las plantas e inactiva las enzimas de los patógenos [Harman, 2000; Altomare *et al.*, 1999].

Se encontró que el hongo tuvo alta capacidad de desarrollo y producción de conidios en arroz a 7% de granos partidos en un máximo de ocho días, con una concentración final de esporas de  $2 \times 10^{10}$  ufc/g, 100% de pureza y viabilidad. Se obtuvo una formulación en polvo mojable a base de conidios del hongo *Trichoderma harzianum*, con un contenido neto de  $2 \times 10^{12}$  ufc, totalmente puro y patogénico de 150 g para una proporción de 25% de ingrediente activo, y 75% de ingrediente inerte, útil para 1 ha, y una pureza de 100% y viabilidad de conidios de 95%. El tiempo de duración del producto obtenido bajo condiciones de almacén en frío fue de dos años, con el mantenimiento de la viabilidad de esporas en más de 95%. A temperatura ambiente duró seis meses. Finalmente el producto se envasó en bolsas de aluminio que poseen alta capacidad para preservar esporas hasta por dos años, de acuerdo con la experiencia de los ingleses.

Los resultados de este trabajo representan un aporte en cuanto al establecimiento de un proceso organizado para la producción artesanal de *Trichoderma*, con su respectivo control de calidad, lo que se podrá mejorar

la eficiencia de los procesos. Esto es importante, ya que actualmente el uso de productos a base del hongo *Trichoderma harzianum* en Venezuela se ha masificado para el control de enfermedades del suelo, desde semilleros en los cultivos de transplante o en la semilla en aquellos de siembra directa hasta en el proceso de desarrollo de los cultivos.

En la Tabla 2 se pueden observar los resultados de campo con el uso del biopreparado a base de la cepa T<sub>12</sub> de *Trichoderma harzianum*. En todos los casos se redujo la incidencia de las enfermedades ocasionadas por diferentes agentes causales en diferentes cultivos, que oscilaron en 25% para el caso de *Fusarium* en Parchita, de 45 a 97,8% para *S. cepivorum* y 45% para *S. rolfsii*. En el caso de *S. cepivorum* en ajo se puede ver que cuando *Trichoderma* se usa en forma intercalada con fungicidas, la protección contra la enfermedad es alta, de 97,6%.

La cepa evaluada tuvo un buen comportamiento en varios pisos altitudinales, con respuestas satisfactorias para varios patógenos y cultivos donde se aplicó. Ello representa también un aporte significativo que alivia esfuerzos, ya que las cepas de *Trichoderma* actualmente utilizadas en las biofábricas en su mayoría se adaptan solo a determinados pisos altitudinales. Se requiere buscar nuevas cepas de hongos y diversificar su producción, de manera de dar respuesta a la demanda creada, que exige cada vez más un producto efectivo, menos tóxico y más económico para resolver problemas de enfermedades del suelo.

Por otro lado, en parcelas de validación semicomerciales de papa, donde se usó el biopreparado a base de la cepa evaluada contra *Rhizoctonia solani*, se apreció control de la enfermedad hasta de 98%. Estos resultados han permitido la sustitución casi en 100% de la molécula de pencycuron, como medida para combatir la enfermedad en el estado de Mérida, Venezuela.

En cultivos como tabaco y crucíferas, la utilización de *Trichoderma harzianum* desde el semillero hasta la cosecha constituye una práctica rutinaria.

En relación con el efecto de *Trichoderma harzianum* para reducir la incidencia de *Plasmodiophora brassicae*, se presume que actúa por competencia, bajo un sistema de manejo integrado del cultivo, entre ellos rotación y uso de encalado asociado con fungicidas químicos en la dosis comercial más baja.

Particularmente *Trichoderma* es un hongo altamente competidor en la rizosfera capaz de colonizar y prote-

ger todo el sistema radicular de las plantas de por vida, y es efectivo contra un amplio rango de hongos patogénicos que incluyen *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Votritos cinerea*, *Sclerotium rolfsii* y *Sclerotinia homoeocarpa*.

La efectividad de *Trichoderma* como agente de biocontrol está mostrada en varias partes del mundo. Así, en las condiciones de Cuba la reducción de la incidencia de varios hongos patógenos de plantas de los géneros *Phytophthora*, *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Pythium* sp., que causan problemas de importancia económica, se logró mediante el uso de biopreparados de cepas nativas de *Trichoderma*, reproducidas por méto-

dos alternativos con subproductos nacionales y parámetros controlados, aplicados según metodologías y dosis establecidas de acuerdo con los resultados en los ensayos de laboratorio, semicontrolados, campo y comprobados en la producción [Stefanova y Sandoval, 1995; Stefanova, 1997; Stefanova *et al.*, 1999].

Actualmente existe un interés marcado por parte de microempresas y cooperativas en la producción masiva del hongo en Venezuela, y el uso de productos a base de *T. harzianum* se ha generalizado para el control de enfermedades del suelo, desde semilleros en los cultivos de transplante o en la semilla en aquellos de siembra directa, hasta en el proceso de desarrollo.

**Tabla 2. Resultados de la aplicación del biopreparado a base de *Trichoderma harzianum* cepa T<sub>12</sub> para el control de enfermedades en diferentes cultivos agrícolas**

Detalles de evaluaciones Enfermedades/cultivo	Plantas o productos de la cosecha infectados (%)	Reducción de la enfermedad en plantas o producto cosechado en relación con el testigo (%)	Rendimiento estimado (kg/ha)
<i>Plasmodiosphora brassicae</i> (crucíferas)	26,7	33,33	30 000
<i>Rhizoctonia solani</i> (papa, café y tabaco)	Papa: 26 Café: 5 Tabaco: 10	Papa: 29 Café: 25 Tabaco: 30	Papa: 38 255 Café: – Tabaco: 25 000
<i>Sclerotium cepivorum</i> (ajo)	T <sub>12</sub> : 53 T <sub>12</sub> + Fungicidas: 0,40	T <sub>12</sub> : 45 T <sub>12</sub> + fungicidas: 97,6	T <sub>12</sub> : 4 000 T <sub>12</sub> + fungicidas: 4 000
<i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Fusarium</i> sp. (parchita y tomate)	Parchita: 15 Tomate: 25	Parchita: 25 Tomate: 30	Parchita: – Tomate: 30 000
<i>Sclerotium rolfsii</i> (tomate y tabaco)	Tomate: 15 Tabaco: 35	Tomate: 45 Tabaco: 5	Tomate: 30 000 Tabaco: 25 000
<i>Phytophthora</i> sp. (tomate)	15	45	40 000
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (caraota)	5	25	1 500
Hongos aéreos y <i>Erwinia carotovora</i> (plátano)	Hongos aéreos: 28 Erwinia: 12	Hongos aéreos: 23 Erwinia: 48	–

## CONCLUSIONES

- T. harzianum* cepa T<sub>12</sub>, proveniente de un suelo ajero del municipio de Rivas Dávila del estado de Mérida, mostró antagonismo por parasitismo, antibiosis y competencia por espacio en pruebas de contraste *in vitro* contra los hongos patogénicos *Sclerotium cepivorum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp. y *Phytophthora* sp., lo cual permitió seccionarlo para

producirlo masivamente y probarlo en condiciones de campo.

- T. harzianum* cepa T<sub>12</sub>, formulado en polvo mojable con un contenido neto de conidios de  $2 \times 10^{12}$ , pureza de 100% y viabilidad de 95%, tuvo un buen comportamiento en varios pisos altitudinales. Resultó ser patogénica y altamente efectiva bajo condiciones de

campo contra los hongos fitopatógenos *R. solani* en papa, café y tabaco; *S. cepivorum* en ajo; *S. rolfsii* en tomate y tabaco; *Fusarium* sp. en Parchita y tomate; *P. brassicae* en Pack Choi (cultivo de crucíferas); *S. sclerotiorum* en caraota; *Phytohthora* sp. en tomate; hongos aéreos y *Erwinia carotovora* en plátano.

- Los resultados de este trabajo representan un aporte en cuanto al establecimiento de un proceso organizado para la producción artesanal de *Trichoderma*, con su respectivo sistema de control de calidad, a fin de mejorar la eficiencia de los procesos.

## REFERENCIAS

- Altomare, C.; W. A. Norvell; T. Björkman; G. E. Harman: «Solubilization of Phosphates and Micronutrients by the Plant-Growth Promoting and Biocontrol Fungus *Trichoderma harzianum* Rifai», 1295-22. *Appl. Env. Microbiol.* 65:2926-2933, 1999.
- Ayer, W. A.; P. B. Adams: «Microparasitism and Its Application to Biological Control of Plant Diseases», *Sec Ref.* 117, 1981, pp. 91-93.
- Brian, P. W.; P. J. Curtis; H. G. Hemming; J. C. Mac Goman: «The Production of Viridin by Pigment-Forming Strains of *Trichoderma viride*», *Annals of Applied Biology* 33:190-200, 1946.
- Cook, J. R.; K. F. Baker: *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*, St. Paul, Minnesota, APS Press, 1983.
- Dennis, C.; J. Webster: «Antagonist Properties of Species-Groups of *Trichoderma*. I Production of non Volatile Antibiotics», *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 57:25-39, 1971a.
- : «Antagonist Properties of Species-Groups of *Trichoderma*. II Production of Volatile Antibiotics», *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 57:47-4, 1971b.
- García, R.; R. Riera; C. Zambrano; A. Maggiorani: «Evaluación y uso masivo de *Trichoderma harzianum* para el control de tres enfermedades fungosas del suelo en sistemas agrícolas prioritarios del páramo merideño de Venezuela», *Brassilian Phytopathology* 28 (suplemento) agosto, 2001.
- García, R.; A. García; J. Garnica: «Distribución, incidencia y alternativas de control de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de la papa en el estado de Mérida, Venezuela», *Revista Latinoamericana de la Papa* 13(1):24-40, 2002.
- García, R.; R. Riera; C. Zambrano, A. García; A. Maggiorani: «Evaluación de *Trichoderma harzianum* para el control de enfermedades fungosas desarrolladas en sistemas agrícolas merideños». *Memorias del XVIII Congreso Venezolano de Fitopatología*, Maracay, 12-14 de noviembre de 2003.
- Harman, G. E. «The Myths and Dogmas of Biocontrol: Changes in Perceptions Derived from Research on *Trichoderma harzianum* Strain T-22», *Plant Disease* 84 (4):377-393, 2000.
- Hoog, G. S.; J. Guarro; J. Gene; M. J. Figueras: *Atlas of Clinical Fungi*, 2nd. ed, vol. 1. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Holanda, 2000.
- Larone, D. H.: *Medically Important Fungi: A Guide to Identification*, 3rd. ed., AS Press, Washington, 1995.
- Papavizas, G. C.; R. D. Lumsden: Biological Control of Soilborne Fungal Propagules», *Annu. Rev. Phytopathol.* 18: 389-413, 1980.
- Riffai, M.: «A Revision of the Genus *Trichoderma*», *Mycol. Pag.* 116, CMI, Assoc. Appl. Biologists, Kew, Suevey, Inglaterra, 1969.
- Stefanova, M.: «Biopreparados de *Trichoderma*: una forma de lucha efectiva contra patógenos fúngicos del suelo», *Agricultura Orgánica* nos. 2 y 3, agost.-dic., 1997, pp. 22-24.
- Stefanova, M.; B. Muño; M. L. Martínez; R. Cruz; Y. Díaz: «Efectividad de *Trichoderma* sp. sobre *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan var *nicotianae* en el cultivo de tabaco». Informe técnico de investigación, INISAV, La Habana, 1995.
- Stefanova, M.; I. Sandoval: «Efectividad de *Trichoderma* spp. en el control de hongos fitopatógenos del suelo», *Boletín Técnico* 2, CID-INISAV, La Habana, 1995.
- Stefanova, M.; A. Leiva; L. Larrinaga; M. F. Coronado: «Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo», *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 16:509-516, 1999.
- Stefanova, M.: «Producción y aplicación de *Trichoderma* spp. Como antagonista de hongos fitopatógenos». Informe técnico de investigación, INISAV, La Habana, 2000.
- Sutton, D. A.; A. W. Fothergill; M. G. Rinaldi (ed.): *Guide to Clinically Significant Fungi*, Williams & Wilkins, Baltimore, 1998.
- Weindling, R.: «Studies on Lethal Principles Effective in the Parasitic Action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and Other Soil Fungi», *Phytopathology* 24:1153-1179, 1934.
- Weindling, R.; O. H. Emerson. «The Isolation of a Toxic Substance from the Culture Filtrate of a *Trichoderma*», *Phytopathology* 26:1068-1070, 1936.
- Yedidia, I.; N. Benhamou; I. Chet: «Induction of Defense Responses in Cucumber Plants (*Cucumis sativus* L.) by Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum*», *Appl. Environ. Microbiol.* 65:1061-1070, 1999.
- Yedidia, I.; A. K. Srivastva; Y. Kapulnik; I. Chet: «Effect of *Trichoderma harzianum* on Microelement Concentrations and Increased Growth of Cucumber Plants», *Plant and Soil* 235:235-242, 2001.
- Zambrano, J.: «Conferencia sobre historia del uso de control biológico en Venezuela». Curso sobre control biológico de plagas, Trujillo, sept., 2005.