

## APLICACIÓN DE *TRICHODERMA* Y OTROS ANTAGONISTAS

### 1. Desarrollo, alcances y retos del biocontrol de fitopatógenos en Cuba

Marusia Stefanova

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

La necesidad de proteger a los cultivos del ataque de los fitopatógenos del suelo y reducir el uso de los plaguicidas químicos hizo que en Cuba, a partir de 1990, se iniciaran investigaciones dirigidas a introducir el biocontrol con microorganismos como una alternativa promisorio dentro de las medidas de manejo establecidas en los cultivos. La selección *in vitro*, en condiciones controladas y semicontroladas de cepas de *Trichoderma* spp., y la validación de su eficacia a nivel de campo, así como el estudio de los parámetros de reproducción del hongo, produjo el primer fungicida biológico denominado Trichosav. Aplicado al inicio en el tabaco contra la pata prieta (*Phytophthora nicotianae*), en el tomate contra el *damping-off*, y en el pimiento para el control de *Phytophthora capsici*, los excelentes resultados impulsaron su extensión paulatina a otros cultivos mediante tratamiento de las semillas y el suelo, bajo procedimientos y dosis establecidos, con una eficacia promedio de más de 80%. En la campaña 1994-1995 se beneficiaron más de 5 000 ha de tabaco, hortalizas, granos, ajo, flores y ornamentales, entre otros. Se avanzó además en la producción artesanal, en los métodos tecnológicos, tales como la fermentación sumergida y sobre fase sólida. La introducción del biocontrol con *Trichoderma* en la agricultura urbana, en la nueva tecnología de producción de plántulas de tabaco para la eliminación del bromuro de metilo y en la tecnología de producción de plántulas hortícolas enraizadas en contenedores, demostró su eficacia a escala tecnológica. La investigación de cepas bacterianas del género *Pseudomonas* hizo posible la obtención, mediante procesos biotecnológicos patentados, del primer biofungicida nombrado Glutucid para el control de fitopatógenos foliares, cuya eficacia contra *Alternaria solani* y *Cladosporium fulvum* se comprobó en el tomate en cultivo protegido, y contra patógenos fungosos en el sustrato para el hongo comestible *Pleurotus*. Se obtuvieron marcados avances en el control biológico de los

nematodos con dos nuevos productos terminados: Klamic y HeberNem, con una eficacia técnica en condiciones de campo superior a 75%. Se desarrolló la tecnología de producción de Nemacid en forma de polvo, y un producto en forma de fluido concentrado a partir de una cepa de *Bacillus thuringiensis* en fase de validación. La colaboración e integración científica bajo el Programa Nacional de Lucha Biológica y del Servicio de la Sanidad Vegetal, con su sistema nacional de laboratorios provinciales y estaciones territoriales de protección de plantas, así como la participación entusiasta y creativa del sector agrícola en todas sus formas de producción, contribuyeron decisivamente en la comprobación, validación e implantación del biocontrol. A lo largo de estos quince años ha quedado demostrado que el biocontrol es técnicamente efectivo, económicamente viable y compatible con el medio ambiente. La selección de nuevos microorganismos promisorios, la obtención de productos tecnológicos comerciables, limpios y de fácil aplicación, su validación, registro y acreditación, así como el desarrollo de nuevas tácticas y estrategias para su aplicación, están entre los nuevos retos para los años venideros.

### Development, reaches and challenges of phytopathogens biocontrol in Cuba

The necessity to protect crops from the attack of soil phytopathogens and reducing the use of chemical pesticides brought about that scientific researches were initiated to introduce biocontrol with microorganisms in Cuba, from the year 1990, as a promissory decision, taking into account the management measures established in crops. The selection *in vitro* of *Trichoderma* spp. strains, in controlled and semicontrolled conditions, and the validation of its efficacy in field, as well as the survey of fungus reproduction parameters, led to reach Trichosav, the first biological fungicide. First applied in tobacco against *Phytophthora nicotianae*, in tomato against damping-off, and for the control of *Phytophthora capsici* in pepper, the excellent results drove to the gradual extension to other crops, by means of seeds and soil of treatments, under procedures and doses, with an average efficacy in a rate of 80%. In 1994-1995

campaign more than 5 000 ha of tobacco, vegetables, grains, garlic, flowers and ornamentals, among others, were benefit. Besides handmade production, there were advances in the technological methods, as well as submerged and on solid phase fermentations. The introduction of biocontrol with *Trichoderma* in the urban agriculture, in the new technology of tobacco seedlings production for the elimination of methyl bromide, and in technology of horticultural seedlings production rooted in containers showed its efficacy in technological scale. The investigation of bacterial strains from the genus *Pseudomonas* made possible the obtain the first biological fungicide Gluticid, by means of registered patent of biotechnological process, to the control of foliar phytopathogens with efficacy against *Alternaria solani* and *Cladosporium fulvum* in protected tomato crops, and against other fungal pathogens, including species such as *Pleurotus*, for the treatment of substratum. Marked advances were obtained in biological control of nematodes with two new finished products: Klamic and HeberNem, with a technical efficacy over 75% in field conditions. A technology for Nematicid production was developed in powder form and a concentrated fluid, from a *Bacillus thuringiensis* strain, which is in validation phase. The scientific contribution and integration under the National Program of Biological Control, and Cuban Service of Plant Health, with its National System of Provincial Laboratories and Plant Protection Territorial Stations, also with the enthusiastic and creative manners of the farmers, in all their ways of production, contributed positively in the prove, validation and implantation of biocontrol. Throughout these 15 years it is showed that biocontrol is technically effective, economically viable and compatible with environment. The selection of new promissory microorganisms, the obtaining of technological marketable, products clean and from easy application, its validation, registry and credential and also the development of new tactics and strategies for its application, are the new challenges for coming years.

## 2. Situación y progreso del biocontrol de enfermedades foliares del trigo en Argentina

E. Analía Perelló

*Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, 60 y 119, 1900 La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina, teléf.: +54-221-4236758 int. 423, fax.: +54-221-425-2346, fitopato@ceres.agro.unlp.edu.ar*

Las manchas foliares del trigo ocasionadas por patógenos necrótrofos constituyen una de las enferme-

dades más destructivas del cultivo en Argentina. Ninguna de las medidas de control empleadas para el combate de esas enfermedades es exitosa por sí sola. El biocontrol con antagonistas microbianos se suma como una estrategia complementaria de bajo impacto ambiental que aún no se ha investigado suficientemente. Durante la última década, el CIDEFI conduce una línea de investigación tendiente a analizar las interacciones entre los principales patógenos foliares del trigo y la microbiota saprobial nativa o introducida al filoplano, con miras a su biocontrol. La primera etapa consistió en la búsqueda y selección de los antagonistas microbianos a partir del filoplano o de microorganismos introducidos con reconocida capacidad de biocontrol (*Trichoderma* spp., *Bacillus* spp.). Las diferentes combinaciones patógeno/antagonista se confrontaron en: a) ensayos en laboratorio (test de cultivos/suspensiones pareadas, inhibición del crecimiento micelial, inhibición de la germinación de esporas, alteraciones morfológicas); b) ensayos bajo condiciones de invernáculo; c) ensayos conducidos en parcelas a campo. Se evaluó la expresión de las enfermedades por el cálculo de la reducción de la incidencia y severidad de la enfermedad y disminución del AUDPC (área bajo la curva de progreso de la enfermedad) en diferentes cultivares de trigo, estadios fenológicos y momentos y formas de aplicación de los antagonistas (asperjado foliar/pelteado de semillas). Los resultados hasta el presente, si bien son promisorios, indican la necesidad de profundizar las pruebas a campo de forma más integrativa y multidisciplinaria a los efectos de un mejor entendimiento de las condiciones, bajo las cuales los agentes de biocontrol podrían emplearse más productivamente.

## Status and progress of biological control of wheat foliar diseases in Argentina

Leaf Spot Diseases of wheat are one of the most destructive diseases of this crop in Argentina. No single control measure is likely to be successful in controlling leaf spotting pathogens and a fully integrated system of disease management is more likely to achieve a long-term solution. Part of such a system could include biological control. The CIDEFI has been conducting an extensive investigation about biological control focusing on these diseases since 1990. A step-wise screening system to select fungi with potential to control these diseases from were initially developed. The effect of the antagonist were tested under different conditions that included laboratory, greenhouse and field assays. Micelial growth inhibition of the pathogens

tested, coiling, vacuolation, granulation and plasmolysis of hyphae were frequently registered. The incidence, severity and the AUDPC were evaluated on different wheat cultivars. *Bacillus* and others spore-forming bacteria revealed interesting possibilities for biocontrol. Several *Trichoderma* spp. tested suppressed the diseases under greenhouse and field conditions suggesting that the protective characteristics may be associated with the ability to compete for nutrients and for occupation of the infection court in the pre-penetration period. New projects recently initiated at CIDEFI aims strategies for consistent biological control implemented under field conditions. In this sense, several strains showed promising are currently being assessed in small scale field trails. The need for more integrative, multidisciplinary research on agricultural systems that will provide a deeper understanding of the conditions under which microbial biocontrol agents might be most productively applied are required.

### 3. Compatibilidad de *Trichoderma* spp. con plaguicidas y fertilizantes en el cultivo del tabaco (*Nicotiana tabacum* L.)

Berta L. Muiño,<sup>1</sup> Mercedes Sáenz,<sup>1</sup> Marusia Stefanova,<sup>1</sup> Ángela Porras<sup>1</sup> e Isabel Díaz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600

<sup>2</sup> Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera La Coloma Km 2½, San Juan y Martínez, Pinar del Río, Cuba

Se realizaron estudios de compatibilidad *in vitro* de *Trichoderma* spp. con diferentes plaguicidas químicos de aplicación práctica. También se estudió el efecto de fertilizante inorgánico y los fungicidas zineb, mancozeb y thiram en tratamientos al suelo en presencia del hongo, y en un ensayo de campo se comprobó su permanencia en el suelo bajo tratamientos con plaguicidas químicos recomendados en el cultivo del tabaco. Los plaguicidas oxiclورو de cobre, metalaxyl, dimethomorph, trifluralin, napropamida y dimetoato son compatibles *in vitro* con *Trichoderma* spp. El benomil se considera como tóxico. Los fungicidas zineb, mancozeb y thiram ejercen una toxicidad ligera *in vitro*, aunque en tratamientos al suelo se consideran compatibles, así como el fertilizante inorgánico (5-12-6-2,6). En condiciones de campo *Trichoderma* spp. permanece en suelo por más de cincuenta días bajo el efecto de tratamientos con plaguicidas recomendados en el cultivo del tabaco en la fase de semillero.

### Compatibility of *Trichoderma* spp. with some pesticides and fertilizers in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) crop

Compatibility studies of of *Trichoderma* spp. with several pesticides were carried out *in vitro*. The effects of an inorganic fertilizer and fungicides as zineb, mancozeb and thiram were also assessed by mean of soil treatments in areas where the fungus was present, and the permanence of the fungus into the soil was proved in tobacco plots treated with chemical fungicides. Copper oxiclورو, metalaxyl, dimethomorph, trifluralin, napropamida and dimethoate were compatible *in vitro* with *Trichoderma* spp. but benomil was catalogued as toxic. On the other hand the fungicides zineb, mancozeb and thiram showed a light toxicity *in vitro* conditions thought they appeared to be compatible with microorganism. No toxicity was found to the fungus because of the presence of the inorganic fertilizer (5-12-6-2.6). *Trichoderma* spp. lasted in the soil for even more than 50 days under the effect on the commonly used pesticides during the seedling period of tobacco plant.

### 4. Utilización de *Bacillus subtilis* en formulados líquidos para el incremento del rendimiento en papa (*Solanum tuberosum* L.) en Argentina

J. Cozzi,<sup>1</sup> G. Chiessa,<sup>1</sup> V. Barrera,<sup>1</sup> L. Gasoni,<sup>1</sup> P. Rodríguez<sup>2</sup> y J. Giacomo Donato<sup>2</sup>

<sup>1</sup> IMYZA-Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. CC 25 (1712) Cautelar, provincia de Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup> NITRAP S.R.L. Ameghino, provincia de Buenos Aires, Argentina

La utilización de microorganismos benéficos para aumentar el rendimiento en cultivos agrícolas es una alternativa interesante que permite reducir la aplicación de fertilizantes químicos. El propósito de este trabajo fue determinar la efectividad de dos concentraciones de formulaciones líquidas, que incluyen un aislamiento de *Bacillus subtilis* para el incremento del rendimiento en el cultivo de papa en Balcarce (Argentina). El aislamiento bacteriano se desarrolló en medio líquido BM y luego se suspendió en un soporte líquido a las concentraciones 1:1 (dosis alta) y 1:5 (dosis baja). Con 1 L de solución de cada concentración se pulverizaron 50 kg de tubérculos de papa semilla, independientemente, y se sembraron de acuerdo con un diseño de bloques al azar. Todos los tratamientos se compararon con un

testigo. En el período de cosecha se evaluó el rendimiento en toneladas por hectárea, y la frecuencia de tubérculos de diámetros de 50, 75 y 90 mm. La pulverización con la dosis baja de la formulación determinó un aumento del rendimiento de 8,7%, en tanto con la dosis alta fue de 9,6%. Los resultados fueron significativamente mayores respecto del testigo. La frecuencia de tubérculos de diámetro superior a 90 mm fue mayor en los tratamientos con la dosis baja, mientras que con la alta no fueron significativamente diferentes del testigo, ni de los tratados con dosis baja.

### Use of *Bacillus subtilis* in liquid formulations to increase potato (*Solanum tuberosum* L.) yield in Argentina

The application of beneficial microorganisms to increase yield in agricultural crops is an interesting alternative that contribute to reduce the utilization of chemical fertilizers. The purpose of this work was to determine the effect of two concentrations of liquid formulations including *Bacillus subtilis* on potato yield in Balcarce (Argentina). Bacterial strain were developed on liquid medium BM and then suspended in a liquid support in order to obtain two concentrations: 1:1 (High Dose) and 1:5 (Low Dose). Fifty Kg of potato seeds were treated independently with 1L of each concentration. Tubers were randomly planted according to a block design. Results of every treatment were finally compare with those obtained in the control plots. Yield in Ton/ha, was evaluated at harvest time. The frequency of tubers of 50, 75 y 90 mm sizes was also determined. The application of low dose increased yield in 8.7%, while with the high dose was 9.6%. The results were significantly higher than the control. The frequency of tubers with 90 mm diameter was higher in treatments with low dose of formulation while in treatments with high dose, the results were not significantly different from those obtained in treatments with low dose neither than control plots.

### 5. Alternativas naturales para el control de *Botrytis cinerea*

S. Larran, C. Mónaco, G. Dal Bello y M. Carranza

Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI). Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

*Botrytis cinerea* Pers. ex Fr., agente causal del moho gris del fruto de tomate, ocasiona grandes pérdidas eco-

nómicas en poscosecha. Para su control, hasta el presente se han utilizado medidas de profilaxis y agroquímicos que causan generación de resistencias y contaminación del ambiente, además de riesgos por residualidad en los productos de consumo. El objetivo de este trabajo fue la búsqueda de alternativas naturales para el control del citado patógeno, tales como aceite esencial de *Schinus molle* a 50, 100, 200 y 400 ppm; aceite esencial de *Malaleuca alternifolia* (tea tree) entre 400 y 1 000 ppm; un formulado a base de ácidos grasos de origen vegetal (Wassington S.A.) a 1 y 2%, y una cepa de *Trichoderma* sp. aislada de hojas de *Datura ferox*. Los productos se incorporaron al medio de cultivo (DPA) previamente a la siembra del patógeno, *Trichoderma* sp. fue evaluada en cultivos duales antagonista/patógeno. Se realizaron dos mediciones del diámetro de las colonias. Los resultados demostraron un efecto fungistático con la cepa de *Trichoderma*, con el aceite de tea tree en todas las concentraciones evaluadas y con el aceite de *Schinus molle* solo a altas concentraciones; sin embargo, el formulado a base de ácidos grasos vegetales inhibió totalmente al patógeno. Por lo expuesto, puede concluirse que las alternativas naturales evaluadas en el trabajo son promisorias para el control del moho gris del tomate.

### Natural alternatives for control of *Botrytis cinerea*

*Botrytis cinerea* Pers. ex Fr., causal agent of mould rot of tomato, produce large economic losses in posharvest fruits. Up to now, most usual methods of control refer to prophylaxis techniques and the use of agrochemical products, with their resultant of residual problems on feed products, the development of fungicide resistance and the possibility of environmental contamination. The purpose of this work was to evaluate the efficacy of natural alternatives such as essential oils of *Schinus molle* at 50, 100, 200 and 400 ppm; essential oils of *Malaleuca alternifolia* (tea tree) from 400 to 1000 ppm; a formulated of vegetable-origin fatty acids (Wassington S.A.) at 1 and 2% and a strain of *Trichoderma* sp. isolated from *Datura ferox*. The products were added to the culture medium before inoculating it with the pathogen. *Trichoderma* sp. was evaluated in dual cultures antagonist/pathogen. The evaluation of different treatments was carried out measuring growth of the pathogen. The essential oil of *Schinus molle* showed a fungistatic effect against *B. cinerea* at high concentration, while the essential oil of tea tree showed

a fungistatic effect at all concentrations. An important inhibition of the micelial growth of the pathogen was observed In the dual culture *Trichoderma* sp.–*B. cinerea*. Fatty acids formulated produced an effect fungicide to both evaluated concentration. Despite the variable effects obtained, the natural alternatives used in this study should be considered as an option for the control of mould rot of tomato.

## 6. Eficacia de *Trichoderma harzianum* en el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* en Cuba

Luis Pérez, Alicia Batles, Julio Fonseca y Virgen Montenegro

Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 no. 514 e/ 5a. B y 5a. F, Playa, Ciudad de La Habana, CP 11600, lperezvicente@sanidadvegetal.cu; lperez@inisav.cu; lperezvicente@hotmail.com

La marchitez por *Fusarium* causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) es una de las más importantes enfermedades del plátano. Con el remplazo de los clones Gros Michel y Manzano (Silk, AAB) por clones Cavendish la enfermedad tomó una importancia secundaria. El impacto de la sigatoka negra hizo necesario el remplazo en Cuba de los plátanos resistentes Cavendish (AAB) por clones híbridos de la FHIA y el Burro CEMSA (AAB), lo que provocó una reemergencia de la enfermedad. La eficacia de *Trichoderma harzianum* aislado A-34 se estudió *in vitro* y en parcelas de producción previamente devastados por la enfermedad. El inóculo se reprodujo en erlenmeyers con 20 g de arroz esterilizado y agua 1:1 (p/v), inoculado con 2 mL de conidios de Foc provenientes de cultivos puros. La reproducción del antagonista se realizó sobre sustrato sólido compuesto por una mezcla 2:1 (p/p) de residuos de cabecilla de arroz con cáscara de arroz, y bagacillo de caña y agua a 1:1 (p/v). Se llevaron a cabo tratamientos de control en plantaciones comerciales de El Sitio, Palma Soriano. La cepa A-34 de *Trichoderma harzianum* mostró una inhibición marcada de la frecuencia y la severidad de marchitez por *Fusarium*. En experimentos en tanques de aplicación con el biocontrol una semana antes de la inoculación con Foc, se observó un control total del patógeno. Las aplicaciones de 20 g de una formulación de  $2 \times 10^9$  conidios.mL<sup>-1</sup> del biocontrol al momento de la plantación y después de la eliminación de las plantas enfermas brinda un control mayor a 95% en parcelas de Burro CEMSA y FHIA 03, previamente destruidas por la enfermedad en suelos conducibles de plantaciones comerciales.

## Efficacy of *Trichoderma harzianum* on the biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in Cuba

*Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) is one of the most important diseases of banana. With the replacement of Gros Michel and Manzano (Silk, AAB) by Cavendish cultivars the disease got a secondary importance. The replacement in Cuba of resistant Cavendish banana and plantains (AAB) by FHIA hybrids and Burro CEMSA (AAB) due to the impact of black leaf streak, lead to the re-emergence of the disease. The efficacy of *Trichoderma harzianum* isolate A-34 was studied on containers and production fields previously devastated by the disease. Inoculum was reproduced in Erlenmeyers with 20 g of sterilized rice and water at 1:1 (v/p), inoculated with 2 ml of Foc conidia from pure cultures. The reproduction of the antagonist were carried out on a sterilized solid substrate composed by a mixture 2:1 (w/w) of pulled rice residues with rice husk, sugarcane milled stalks residues and water in 1:1 (v/w) proportion. Treatments of control have been carried out in commercial plantations of El Sitio, Palma Soriano. *Trichoderma harzianum* A-34 showed marked inhibition of *Fusarium* wilt frequency and severity. In experiments in tanks the application of the biocontrol a week before the inoculation with Foc gave complete control of the pathogen. The applications of 20 g of a formulation of  $2 \times 10^9$  conidia.mL<sup>-1</sup> of the biocontrol at planting and after removal of diseased plants, brought a control higher than 95% on plots of Burro CEMSA and FHIA 03 previously destroyed by the disease in conductible soils of commercial plantations.

## 7. Estudios sobre el control biológico del fuego bacteriano (*Erwinia amylovora* burr. Winkl.) con extracto etérico de aceite de *Thymbra spicata* L.- bio sep 2000-B

Kamal Abo-Elyousr,<sup>1</sup> Wolfgang Zeller<sup>2</sup> y Oktay Yegen<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Agriculture, Department of Plant Pathology, Assiut University. 71256 Assiut, Egipto

<sup>2</sup> Federal Biological Research Centre, Institute for Biological Control. Darmstadt, Alemania

<sup>3</sup> Akdeniz University, Faculty of Agriculture. Plant Protection Department 07070 Antalya, Turquía

Recientemente se han observado diversos aceites etéreos con efectos inhibitorios contra el fuego bacteriano como una alternativa posible al uso de productos químicos. Colegas turcos también probaron el aceite eté-

reo de *Thymbra spicata* en los últimos tiempos con cambios en la susceptibilidad del hospedante. Este aceite etéreo está registrado hoy en Turquía y en Alemania como Bio Zell-2000-B, un compuesto fortalecedor de la planta. En los primeros experimentos de campo en Turquía pudo observarse una reducción significativa de la pudrición de retoños en la variedad de pera Santa María con una eficacia de 64%. En un ensayo en Alemania sobre *Cotoneaster salicifolius*, bajo condiciones artificiales de infección, se pudo confirmar una eficacia de 84% durante la floración. En experimentos en Alemania en las variedades de manzana Idared y Boskoop, bajo condiciones de infección natural y artificial, se observaron reducciones de pérdida de la floración entre 52 y 43%. Se presentan además los primeros resultados del modo de la acción del aceite etéreo.

### **Studies on biological control of fire blight (*Erwinia amylovora* burr. Winsl.) with the etheric oil of *Thymbra spicata* L. - bio zell 2000-B**

As a possible alternative to the use of chemicals against the Fire Blight bacterium, different etheric oils have been observed recently with inhibitory effects against this pathogen. In the last time Turkish colleagues have also been tested the etheric oil of *Thymbra spicata* on changes in host susceptibility. This etheric oil has been registered nowadays in Turkey and in Germany as Bio Zell-2000-B as a plant strengthener compound. In first field experiments in Turkey a significant reduction of shoot blight on the pear cultivar «Santa María» could be observed with an efficacy of 64%. In a trial in Germany on *Cotoneaster salicifolius*, under artificial infection conditions, an efficacy of 84% could be confirmed during blossom time. In experiments in Germany on the apple cultivars Idared and Boskoop under natural and artificial infection conditions a reduction of blossom blight between 52 and 43% was observed. Moreover first results on the mode of action of the etheric oil will be presented.

### **8. Control biológico del marchitamiento bacteriano de la papa causada por *Ralstonia solanacearum* (Smith) en Etiopía: I. Determinación de biovariedades de *R. solanacearum* en Etiopía**

Fikre Lemessa y Wolfgang Zeller

Federal Biological Research Center for Agriculture and Forestry, Institute for Biological Control. Heinrichstr. 243, 64287 Darmstadt, Alemania

*Ralstonia solanacearum* es un patógeno muy destructivo que causa marchitez en la papa y muchas otras solanáceas en Etiopía. Un aumento en el número de informes indica que el control biológico de la marchitez bacteriana de la papa se podría alcanzar con el uso de microorganismos antagonistas. Para seleccionar los agentes antagonistas eficaces para el biocontrol de las cepas de *R. solanacearum* es necesario caracterizar la población de las cepas patógenas. Para ello se colectaron 62 cepas de plantas enfermas de papa, tomate y pimienta, y tubérculos de papa procedentes de las principales regiones productoras de Etiopía, que se caracterizaron culturalmente y se clasificaron fisiológicamente según esquemas de la clasificación de Hayward, basados en su capacidad de oxidar tres disacáridos (lactosa, maltosa y celobiosa), y tres hexoalcoholes (manitol, sorbitol y dulcitol). Los resultados de este estudio indicaron que todas las cepas de Etiopía producen colonias fluidas e irregulares con centro rojo y periferia blanquecina en medio cloruro de triphenyl tetrazolium (TZC) después de 48 h de incubación, que es típica a *R. solanacearum*. En otro medio ácido –casamino-peptona-glucosa (CPG)– las colonias eran irregulares, fluidas y blancas cremosas, y producen un pigmento marrón después de 48 h. De acuerdo con el esquema de clasificación de Hayward, 19 cepas se agruparon en el biovar I y 43 en el biovar II. Previos estudios hechos en Etiopía registraron solamente la presencia de biovar II de *R. solanacearum*, y del biovar I es este el primer informe de su población en el país.

### **Biological control of potato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* (Smith) in Ethiopia: I. Determination of *R. solanacearum* biovars from Ethiopia**

*Ralstonia solanacearum* is a very destructive pathogen that causes wilt in potato and many other solanaceae crops in Ethiopia. An increasing number of reports have indicated that biological control of potato bacterial wilt could be achieved using antagonistic microorganisms. In order to select effective antagonistic biocontrol agents for the *R. solanacearum* strains, it is necessary to characterize population of pathogenic strains. Therefore, sixty two strains collected from wilted potato, tomato and pepper plants, and potato tubers from the major potato producing regions of Ethiopia were characterized culturally and classified physiologically according to Hayward's classification scheme, based on their capacity to oxidize three

disaccharides (lactose, maltose and cellobiose) and three hexose alcohols (mannitol, sorbitol and dulcitol). The results of this study indicated that all strains from Ethiopia produce fluidal and irregular colonies with red centre and whitish periphery on triphenyl tetrazolium chloride (TZC) medium after 48 hours of incubation which is typical to *R. solanacearum*. On another medium casamino acids-pepton-glucose (CPG) the colonies were irregular, fluidal, and creamy white and produce a brown pigment after 48 hours. Based on Hayward's classification scheme 19 strains were grouped to biovar I and 43 strains to biovar II. Previous studies from Ethiopia reported the availability of only biovar II of *R. solanacearum* and biovar I this is the first report from Ethiopian *R. solanacearum* population.

## 9. Elementos básicos para lograr un control efectivo de los hongos del suelo

Ana A. Fernández, Daniesyi Marín, Mercedes Sáenz, Rebeca Ramírez, Marleny González y Elda Ramos

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

Los hongos de suelo constituyen una de las principales causas de mortalidad de las plantas cultivables, para lo cual se han empleado diferentes métodos de control, pero sin éxito en la mayoría de los casos. Por tal motivo se ha recurrido a diferentes alternativas de lucha, entre ellas el control biológico, uno de los métodos más promisorios para disminuir los daños en la agricultura en general. No obstante, existen aspectos que son necesarios tener en cuenta para que el control fitosanitario sea un éxito, entre los que se consideran el tipo de organismo que afecta al cultivo, su forma de vida, la concentración del inóculo en el suelo, los métodos de detección y cuantificación del patógeno en suelo y otro sustrato, así como los métodos alternativos que se utilizan para su control, dentro de ellos el biológico y su efectividad según las condiciones del cultivo en que se aplica. Para realizar el control de varios organismos patógenos de suelo en las condiciones de Cuba se han realizado diversos estudios bajo condiciones de laboratorio y campo, con resultados significativos en especies de *Phytophthora*, *Pythium* y *Phoma*. Para cada una de ellas se demostró que es necesario realizar una prospección de los métodos más idóneos para su detección y cuantificación, así como realizar estudios ecológicos y epidemiológicos que permitan establecer un manejo de las enfermedades, donde se inserte el control biológico

como una de las vías más promisorias para disminuir las afectaciones en el sector agrícola de muchos cultivos de importancia económica.

## Basic elements to achieve an effective control of soilborne pathogens

The soilborne pathogens are one of the main causes of crops mortality, in that way different control methods have been used without success in most of the cases. Biological control is one of the most promissory fight alternatives studied for diminishing damages in the agriculture. Nevertheless, there are aspects that are necessary to keep in mind to achieve a successful control as organism type that affects the crop, their life cycle, pathogens concentration in soil, detection methods and pathogens quantification in soil and substrate, as well as alternative methods used for their control, and their effectiveness according to the cultivation conditions on that biological control is applied. Several studies have been carried out to reach the control of soilborne pathogens under laboratory and field conditions, with significant results in species of *Phytophthora*, *Pythium* and *Phoma*. It was demonstrated that it is necessary to do a prospecting of most suitable methods for their detection and quantification for each one of them, as well as to carry out ecological and epidemiological studies that allow to establish a management of the illnesses, where biological control may be inserted as one of the most promissory ways to diminish the affectations in agricultural sector of many economic important crops.

## 10. Manejo agroecológico del tizón de fuego causado por el hongo *Corynespora cassiicola* (Berk & Curt) Wei en el cultivo del pepino (*Cucumis sativus* L.) en sistemas de organopónicos

Carlos A. Ferrer González, Maida Fumero Mollinedo, Beatriz Barranco Martínez y Graciela García Rivero

*Laboratorio Provincial Sanidad Vegetal. Ave. Finlay Km 2½, Reparto Puerto Príncipe, Camagüey, Cuba, sanivecm@enet.cu; fumero2005@gmail.com*

La necesidad de implementar una metodología de manejo de la enfermedad tizón de fuego del pepino causado por el hongo *Corynespora cassiicola* (Berk & Curt) Wei dentro del sistema de la agricultura sostenible, implica la búsqueda del conocimiento de aspectos relacionados con la incidencia, comportamiento y control

que permitan trazar estrategias en la solución de esta problemática. Se realizaron investigaciones para determinar la importancia de *C. cassiicola* en comparación con otros patógenos fúngicos presentes en el cultivo, su comportamiento y control en los organopónicos de la Empresa de Cultivos Varios de Camagüey y en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal durante el período 2001 al 2003. Los ensayos de sensibilidad de *C. cassiicola* frente a diferentes productos fungicidas en condiciones de laboratorio y campo mostraron mejores resultados de inhibición del crecimiento de las colonias y del control de la enfermedad con mancozeb PH 80% y benomyl PH 80% a 5 ppm y 2 kg/ha i.a. El control biológico con *Trichoderma harzianum* R. (cepa A-34) a dosis de 10 kg/ha y del producto natural hidrato de cal a dosis de 5 kg/ha en tratamientos foliares alcanzaron eficacias de 42 y 47% respectivamente, y lograron incrementar los rendimientos en 50%. Todos estos resultados fueron utilizados en la confección de estrategias de control de la enfermedad con vistas a ser incluidos en un esquema de manejo integrado para el control de *C. cassiicola* en el cultivo del pepino.

#### **Agroecologic management of fire blair disease caused by the fungus *Corynespora cassiicola* (Berk & Curt) Wei on cucumber crop (*Cucumis sativus* L.) in organoponic systems**

The necessity to implement a management system of cucumber fire blair disease caused by the fungus *Corynespora cassiicola* (Berk & Curt) Wei inside sustainable agriculture, implies the search of knowledge aspects related with the incidence, behaviour and control that allow tracing strategies in the solution of this problem. Investigations to determine the importance of *C. cassiicola* in comparison with other fungi pathogens present in cucumber crop, their behaviour and control in organoponics were carried up in the Empresa de Cultivos Varios from Camagüey and in Plant Health Provincial Laboratory, during the period 2001 to 2003. Sensibility tests of *C. cassiicola* with different fungicides in laboratory and field conditions showed better inhibition results of colonies growth, and disease control with mancozeb PH 80% and benomyl PH 80% at 5 ppm and 2.0 kg/ha ai. Biological control with *Trichoderma harzianum* R. (A-34 strain) in a concentration of 10.0 kg/ha, and the natural product Ca hydrate in dose of 5.0 kg/ha in foliar treatments reached effectiveness of 42 and 47%

respectively, and increased yields in 50%. All these results were used in the elaboration of control strategies for the disease, in order to being included in an Integrated Management scheme for the control of *C. cassiicola* in cucumber cultivation.

#### **11. Evaluación de la aplicación de inóculos de *Trichoderma harzianum* y otras alternativas en la aceleración de la descomposición de la gallinaza en Mérida, Venezuela**

María A. Durán, Rosaima García y Yelinda Araújo

Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Mérida, Venezuela, rgcespo@inia.gov.ve

El uso de gallinaza no compostada ha creado problemas fitosanitarios y de salud pública por el incremento de poblaciones de mosca doméstica en áreas agrícolas del estado de Mérida, Venezuela. Una de las alternativas que se percibe para resolver estos problemas es utilizar gallinaza compostada. Con el objeto de acelerar la descomposición de esta materia orgánica se evaluaron diferentes inóculos microbianos en las localidades agrícolas El Valle (1 995 msnm) y San Juan de Lagunillas (1 050 msnm), del estado de Mérida, en Venezuela. Se establecieron dos ensayos de campo bajo diseño en bloques al azar. Para cada compost se utilizaron 30 kg de gallinaza no compostada, más restos de cosechas en proporción 3:1. Los tratamientos evaluados fueron  $T_0$  = testigo sin inóculo,  $T_1$  = inóculos de siete cepas de *Trichoderma* líquida a la concentración de  $1 \times 10^9$  UFC/mL,  $T_2$  = suspensión de microorganismos efectivos (EM) autóctonos,  $T_3$  = té de compost. Las evaluaciones se realizaron semanalmente, y se tomaron datos de humedad, pH, temperatura, olor y consistencia al tacto. Al inicio y al final del experimento se realizaron análisis químicos. Se encontró que el tratamiento basado en inóculos de siete cepas de *Trichoderma* logró acelerar la descomposición de la gallinaza, y reducir el tiempo en siete días con respecto al testigo. Asimismo la aplicación de microorganismos efectivos y el té de compost puntualmente permitieron acelerar este proceso. Por otro lado, el material compostado presentó altas concentraciones de N, P, K, Ca, Mg y M.O. asimilables por las plantas. La disminución del amoníaco en la gallinaza compostada impidió la atracción de las moscas para ovipositar, y el incremento de la temperatura evitó el mantenimiento de microorganismos fitopatógenos.



## Evaluation of *Trichoderma harzianum* inocula application and other alternatives to the acceleration of hen dung decomposition in Mérida, Venezuela

The use of not composted hen dung has created phytosanitary and public health problems for the increase of domestic fly populations in agricultural areas of Merida State in Venezuela. One of the alternatives that are glimpsed to solve these problems is to utilize composted hen dung. In order to accelerate the decomposition of this organic matter, different microbians inoculums were evaluated in agricultural localities El Valle (1995 mosl) and San Juan de Lagunillas (1050 mosl) from Merida State, in Venezuela. Two field tests, in a completely randomized block design were established. Each compost was prepared with 30 kg of not compost hen dung plus harvest remains in proportion 3:1, evaluated treatment were  $T_0$  = control without inoculums,  $T_1$  = seven *Trichoderma* liquid strains at  $1 \times 10^9$  UFC/mL of concentration,  $T_2$  = native effective microorganism (EM) suspension,  $T_3$  = compost tea. The evaluation was realized weekly, registering data of humidity, pH, temperature, smell and consistence by touching. Chemical analysis was realized at the beginning and in the end of experiment. *Trichoderma* treatments with inoculums of seven strains accelerate hen dung decomposition and reduce time in seven days in comparing with control. In that way application of effective microorganisms and tea compost, punctually permit to accelerate this process. On the other hand, composted material showed high concentrations of N, P, K, Ca, Mg and O.M. assimilable by plants. Ammoniac decrease in composted hen dung avoided fly attraction to put eggs, and temperature increase avoided phytopathogenic microorganism maintenance.

## 12. Control biológico del tizón temprano (*Alternaria solani* Sorauer) en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de campo

Felipe Rodríguez Maza y Marusia Stefanova Nalimova

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

El tizón temprano causado por *Alternaria solani* es una enfermedad común en el cultivo de la papa en Cuba. Para su control se utilizan diversos fungicidas quími-

cos de contacto y sistémicos, pero recientemente también se han hecho ensayos con microorganismos antagonistas como alternativa no contaminante. En este sentido se estudió la eficacia del producto biológico Gluticid, obtenido en Cuba, contra el tizón temprano de la papa en condiciones de campo. Se utilizó un diseño de bloques al azar y se ensayaron dos dosis del bioproducto, en comparación con el fungicida mancozeb como estándar de producción, y un testigo sin tratamiento. El producto biológico aplicado a la dosis de 3 kg/ha cada siete días logró reducir la incidencia del tizón temprano en 39,18% con respecto al testigo sin tratamiento, y con una efectividad técnica de 48,82%. Esta variante no mostró diferencia significativa respecto al estándar químico de contacto mancozeb (3 kg/ha), y fue seguida en su eficacia por la dosis de 2,5 kg/ha de Gluticid a igual intervalo de aplicación. Se propone continuar el estudio del efecto de la eficacia de este producto biológico en áreas de producción.

## Biological control of early blight (*Alternaria Solani*, sorauer) in potato crop in field conditions

Early blight caused by *Alternaria solani* is a common potato disease. Classical control involves the use of both contact and systemic fungicides. However, antagonistic micro organisms have been tested recently as non contaminant alternatives. In that way the efficacy of biological product Gluticid to control potato early blight was assessed in field conditions in a completely randomized block design. The experiment included two doses of the product, the production standard fungicide mancozeb, and a control without any treatment. Biological product, sprayed every seven days at 3 kg/ha, achieved a decrease of disease incidence of 39.18% respect to the control with a technical efficacy of 48.82%; this treatment did not differ significantly to contact chemical standard mancozeb (3 kg/ha), and this efficacy was followed by Gluticid at 2.5 kg/ha used in the same application intervals. It is proposed to continue studying the effect of this bioproduct in production areas.

## 13. Uso de *Trichoderma* spp. para el mejoramiento del suelo en la agricultura orgánica en Costa Rica

Miguel Obregon Gómez y Xiomara Mata Granados

Centro Nacional Especializado en Agricultura Orgánica, Costa Rica, m.obregon@costarricense.cr; x\_mata@costarricense.cr

El suelo es un sistema complejo donde ocurre una serie de procesos necesarios que tienen influencia directa sobre la nutrición y sanidad de los cultivos. Desafortunadamente muchas de las prácticas agrícolas han provocado la compactación y generado suelos poco oxigenados, donde la microflora benéfica es poca y el metabolismo de las plantas disminuye drásticamente, ya que la transformación de la energía en la planta también es menor. Estos factores inducen un desarrollo anormal en la planta y susceptibilidad al ataque de patógenos que se encuentran en el suelo como *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotium rolsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Rosellinia* spp. y aéreos como *Colletotrichum* spp. Experiencias prácticas con agricultores en Costa Rica demuestran que la adición al suelo de abonos orgánicos como vermicompost, bocashi y compost inoculados con *Trichoderma* spp. tienen un efecto positivo en la estructura y en la diversificación microbiana, y promueven la movilización de nutrientes y la supresión de patógenos. En material vegetativo de helecho hoja de cuero (*Rumora adiantiformis*) infestado con *Rosellinia* spp., al utilizar Bocashi (inoculado con *T. asperellum* (*T. harzianum*)) se observó mayor crecimiento en los ápices radiculares y rebrotes nuevos de rizoides en la mayoría de las puntas que inicialmente estaban enfermas. De igual forma la planta mostró mayor número de bastones y frondas de mejor apariencia, a diferencia del testigo, donde hubo pérdida total del material. En hortalizas de hoja como lechuga se ha observado que la adición de Vermicompost y posteriores aplicaciones de *T. viride* inhiben el desarrollo de *Sclerotinia sclerotiorum*, ya que parasita los esclerocios y aumenta considerablemente los rendimientos; se ha observado en almácigos, que al utilizar compost inoculado con *Trichoderma* se inhibe en 100% el desarrollo de *Botrytis* spp. y *Rhizoctinia solani*, y hay un aumento de algunos nutrientes. Los resultados observados se atribuyen al efecto antagonista de *Trichoderma* sobre patógenos del suelo y aéreos, producción de factores reguladores de crecimiento, la solubilización de algunos micronutrientes, el incremento de la absorción de nutrientes a través del mejor desarrollo radicular y la eliminación de raíces enfermas. En conclusión, los sustratos orgánicos inoculados con *Trichoderma*, además de proveer materia orgánica y mejorar las características estructurales del suelo, facilitan los procesos bioquímicos, promueven la producción de sustancias reguladoras del desarrollo de las plantas e inhiben el desarrollo de enfermedades.

### Use of *Trichoderma* spp. for soil microbiology improvement in organic agriculture of Costa Rica

The soil is a complex system where processes have direct influence on crop nutrition and plant health. Unfortunately, most of the agricultural soil management practices compact them producing poor oxygenation, low benefit microorganisms populations and metabolic disorders in plants. Those factors induce abnormal plant development and predisposition to the attack of soil borne plant pathogens as *Sclerotinia cepivorum*, *Sclerotium rolsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Rosellinia* spp. But also, some air borne pathogens as *Colletotrichum* spp. are more aggressive under those conditions. In Costa Rica some practical trails done by farmers have shown that the addition of *Trichoderma* spp. to organic fertilizers like vermicompost, bocashi, and other composts, has a positive effect on the structure and microbial diversity that improves nutrient movement in plants and pathogen suppression. Vegetative material of leather fern (*Rumohra adiantiformis*) infected by *Rosellinia* spp., planted with bocashi amended with *T. asperellum* (*T. harzianum*), showed more tip root growth and new fern rhizomes. Also the plants produced higher number of fiddleheads and high quality fronds. Non-treated material showed a total loss. In some leaf vegetables as lettuce the use of vermicompost followed by *Trichoderma viride* application, inhibited *S. sclerotiorum* development on the crop, in this study sclerotia were infected and plant yields were increased. Compost previously inoculated with *Trichoderma*, inhibited 100% the *Botrytis* and *R. solani* infection, in nurseries, and plant nutrition was improved. The observed results are attributed to the antagonistic effect of *Trichoderma* on soil and airborne pathogens, production of growth regulators, solubilization of some microelements and better mineral absorption with the development of more roots and elimination of diseased roots. As conclusion, the organic substrates inoculated with *Trichoderma* spp., besides the organic matter source, they improve the structural characteristics of soil, promote the biochemical processes, increase the level of growth regulator substances and inhibit plant disease as well.

### 14. Aplicación de microorganismos antagonistas para la protección de enfermedades en los cultivos: la experiencia de Costa Rica

Miguel Obregón Gómez

Proyecto Alternativas al Bromuro de Metilo. PNUD-MINAE, m.obregon@costarricense.cr

El desarrollo de una agricultura más amigable con el ambiente, la resistencia de los patógenos a los pesticidas químicos y su alto costo ha promovido la búsqueda de agentes microbianos para el control de enfermedades en cultivos comerciales. Universidades, departamentos de investigación de compañías privadas y laboratorios privados trabajan en el desarrollo de productos microbianos para el control de enfermedades en los cultivos. Pequeñas compañías y agricultores privados también aplican microorganismos en unión a este esfuerzo. Los principales microorganismos que se aplican y estudian son los hongos de los géneros *Trichoderma*, *Clonostachys*, *Lecanicillium*, los hongos nematófagos *Arthrobotrys* y *Paecilomyces*, las bacterias *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas cepacia* y el actinomicete *Streptomyces griseoviride*. Estos microorganismos se usan para el control de enfermedades de suelo y foliares en flores, ornamentales de follaje, piña, banano, melón, fresas, helechos y vegetales como la lechuga, culantro y apio, entre otros. La aplicación de estos microorganismos permitió establecer el enfoque del control integrado de las enfermedades en muchos de los cultivos. Esto resultó en la reducción de pesticidas químicos y en algunos casos como en fresas, un productor discontinuó el uso de fungicidas químicos, sin reducir el rendimiento. Se han desarrollado técnicas novedosas para la aplicación de estos microorganismos, y el interés en su uso se ha incrementado entre los agricultores.

### **Application of antagonistic microorganisms for crop diseases protection: the Costa Rican experience**

The development of an agriculture more friendly with the environment, pathogen resistance to chemical pesticides and the high pesticide cost, have promoted to seek for microbial agents for diseases control in commercial crops. Hence, universities, research departments within private companies, and private laboratories are working in the development of microbial products for crop diseases control. Also, some small companies and private producers are applying microbes and have joined to this effort. The main microorganisms that are applied and studied are the fungi: *Trichoderma*, *Clonostachys*, *Lecanicillium*, the nematophagus fungi *Arthrobotrys* and *Paecilomyces*, the bacteria, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas cepacia* and the actinomycete *Streptomyces griseoviride*. The antagonistic microorganisms are applied and studied for soil-borne plant and foliage diseases control on flowers,

ornamentals for foliage production, pineapple, bananas, watermelon, strawberries, ferns, and vegetables such as lettuce, coriander, and celery among others. The application of these microorganisms has allowed the implementation of the integrated diseased control approach in many crops. This has resulted in the reduction of chemical pesticides, and in some cases, such as strawberries, one producer discontinued the use of chemical fungicides without reducing yield. Novel techniques have been developed for the application of those microorganisms, and the interest in using them is increasing among growers.

### **15. Tratamiento fitosanitario con *Trichoderma* sp. para el control de patógenos en la reproducción masiva de plantas ornamentales**

Reinel Brito Rodríguez

*Centro de Convenciones Bolívar. Carretera de Maleza Km 1½, Santa Clara, Villa Clara, reinelbri@yahoo.es*

El auge de la horticultura ornamental gana espacio, indudablemente por la frescura y delicada elegancia que aportan las plantas a cualquier lugar, pero las plagas y enfermedades compiten con su desarrollo y reproducción. En este trabajo se evaluó la efectividad de *Trichoderma* sp. para el control de patógenos del suelo en la producción de seis especies de plantas ornamentales a fin de promover su ornamentación y comercialización. Este trabajo se desarrolló en el área de producción de plantas ornamentales del Centro de Convenciones Bolívar de Santa Clara, donde se apreciaban síntomas de pudrición de la raíz y la base del tallo, así como de tallos, ramas y hojas de las plantas rastreas que tocaban el suelo, las cuales también se afectaban por la pudrición de color pardo negruzco; al respecto se identificaron *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. y *Sclerotium rolfsii* en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. En el experimento se utilizaron los materiales para la producción de plantas como bolsas, tiestos y estaquilleros, sustrato previamente preparado y esquejes o posturas de plantas. El tratamiento consistió en la aplicación del agente biológico *Trichoderma* sp. de la cepa TS-3 en diferentes variantes, y se tuvieron en cuenta un testigo con sustrato, posturas y esquejes sin aplicación. Se prepararon muestras con sustrato tratado y aplicación del producto durante todo el desarrollo del cultivo. *Trichoderma* resultó efectivo para el control de patógenos, con disminución de la severidad de este tipo de enfermedades de 100% en el caso de las bolsas y tiestos, a los 45 días de haber realizado los

tratamientos. Para producir 300 plantas con el uso de *Trichoderma*, desde el punto de vista fitosanitario solo se gastarían 46.03 pesos. Se concluye que los resultados con este biocontrolador son iguales a la utilización de triazoles, con la ventaja que es económicamente más barato y no contaminante al ambiente.

### Phytosanitary treatments with *Trichoderma* sp. for pathogens control in massive reproduction of ornamental plants

The height of ornamental horticulture advances doubtlessly because the freshness and delicate elegance that plants contribute to any place, but plagues and diseases reduce the development and reproduction. The effectiveness of *Trichoderma* sp. for the control of soil pathogens on the production of six ornamental plants species was evaluated in this work, in order to promote their commercialization. The work was developed in the production area of ornamental plants in Bolivar Convention Center of Santa Clara, where symptoms of foot and root rot, also stems, branches and leaves of repent plants were observed, these were affected too by brown-blackish rot; in that way were identified *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. and *Sclerotium rolfsii* in soil in Plant Health Provincial Laboratory. Materials for plants productions as bags, pots and supporting stakes, substratum previously prepared and stem cuttings or seedlings were used in the experiment. Treatment consisted in the application of biological agent *Trichoderma* sp. strain TS-3 in different variants and controls without treatment. Samples with treated substratum and product applications were prepared throughout the development of the experiment. *Trichoderma* was effective for control of pathogens, with 100% of severity diminution in this type of diseases for the case of bags and pots, after 45 days to have realized treatments. In order to produce 300 plants with the use of *Trichoderma* only 46.03 pesos would be spent. As a conclusion results with this biocontrol are equal to the use of Triazols, with the advantage that is economically cheaper and no polluting to environment.

### 16. Uso del *Rhizotrich* en la protección de semillas de frijol

Antonia M. Hernández Valdés, Génova E. Martín Triana y Marleny Alemán Carrazana

Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal. Carretera de Malezas Km 2½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba, CP 50100, [lpvvc@eimavc.co.cu](mailto:lpvvc@eimavc.co.cu)

El frijol constituye uno de los alimentos que más consume el pueblo cubano. Se cultiva con facilidad debido a las condiciones favorables del suelo y el clima. La presencia de patógenos en la semilla es de importancia para determinar la calidad para su comercialización. Muchos autores refieren que los hongos del género *Trichoderma* son altamente efectivos en la lucha contra patógenos del suelo, y su uso en la peletización de la semilla reduce la mortalidad en postemergencia. Por otra parte, la utilización del *Rhizobium phaseoli* para permitir la fertilización nitrogenada del cultivo es una alternativa que actualmente realiza la agricultura cubana. De 1995 al 2005, en el Laboratorio de Bacteriología del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Villa Clara, se estudió el efecto combinado de los microorganismos *Rhizobium phaseoli* y *Trichoderma viride* en la peletización de las semillas de frijol. El trabajo contó con una primera etapa de ensayos de compatibilidad en laboratorio, otra de pruebas de campo y una tercera de generalización en la producción del Rhizotrich, nuevo producto biológico para la protección de las semillas de frijol. Este biopreparado se ha utilizado por productores independientes, Cooperativas de Producción Agropecuarias (CPA) y Cooperativas de Créditos y Servicios (CCS), en los que se comprobó que estos dos microorganismos en conjunto refuerzan la acción protectora e inhiben el desarrollo de hongos patógenos del suelo, lo que disminuye la mortalidad y se estimula la germinación y el rápido crecimiento de la planta. Se propone la dosis que ha de aplicarse, así como la forma de utilización del biopreparado.

### Use of *Rhizotrich* for protection of bean seeds

Bean constitutes a food of more consumption by Cubans where it is cultivated with facility due to the favorable conditions of soil and climate. The presence of pathogens in seed is important to determine its quality for commercialization. Many authors refer that fungi of genus *Trichoderma* are highly effective in the fight against soil pathogens and its use in seed-pellet elaboration reduces post-emergent mortality. On the other hand the use of *Rhizobium phaseoli* to allow nitrogen fertilization of cultivation is an alternative utilized in Cuba at present. The combined effect of microorganisms *Rhizobium phaseoli* and *Trichoderma viride* on pellet formation of bean seeds was studied in Bacteriology Laboratory of Plant Health Provincial Laboratory of Villa Clara during years 1995 to 2005. The work was developed with a first stage of

compatibility tests in laboratory, a second one of field tests, and a third of generalization in *Rhizotrich* production, a new biological product for the protection of bean seeds. This bioproduct has been used by independent producers, Cooperative of Agricultural Production (CPA) and Cooperatives of Credits and Services (CCS), where were verified that the union of these two microorganism reinforce protective action, inhibit the development of soil pathogenic fungi, which reduce mortality and stimulate germination and rapid growth of plants. Application dose and the way to use bioproduct are proposed.

### 17. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* y *Paecilomyces lilacinus* en el rendimiento de lechuga orgánica

Joel Méndez

Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano. Carretera a Danlí Km 30, Honduras, [jmendez@zamorano.edu](mailto:jmendez@zamorano.edu)

El uso de *T. harzianum* y *P. lilacinus* en varios tipos de hortalizas incrementa la absorción de nutrientes a través del mejoramiento y desarrollo radicular, promueve la disponibilidad de nutrientes necesarios para la planta y protege el sistema radicular del ataque de hongos patógenos y plagas. Se evaluó la aplicación de estos hongos en la siembra y el trasplante de lechuga orgánica para determinar el sistema de manejo con mayor rendimiento, mejor calidad de lechuga y el más rentable a menor costo. Los tratamientos fueron *Trichoderma* en siembra-*Paecilomyces* en trasplante y viceversa, *Trichoderma* en siembra-*Trichoderma* en trasplante, *Paecilomyces* en siembra-*Paecilomyces* en trasplante, *Trichoderma* + *Paecilomyces* en siembra-*Trichoderma* + *Paecilomyces* en trasplante, y el testigo, al cual no se aplicó nada. Los productos se incorporaron manualmente al medio en bandejas de germinación en la fase de siembra, y a los 19 días después de la siembra se realizó el trasplante. Se cosechó a los 37 y 41 días después del trasplante. Los mejores tratamientos fueron las combinaciones de *Trichoderma* en siembra-*Paecilomyces* en trasplante, *Paecilomyces* en siembra-*Trichoderma* en trasplante y *Paecilomyces* en siembra-*Paecilomyces* en trasplante, que tuvieron más lechugas cosechadas, lechugas comerciales y mayor peso de lechugas cosechadas y comerciales, respectivamente. No

se obtuvo diferencia significativa en la longitud de la raíz, pero hubo mayor rendimiento de peso de lechuga comercial en los tratamientos con mayor número de nódulos por planta. Estos fueron *Trichoderma* en siembra-*Paecilomyces* en trasplante y *Paecilomyces* en siembra-*Trichoderma* en trasplante. El tratamiento más rentable fue la aplicación de *Trichoderma* en siembra-*Paecilomyces* en trasplante, con una tasa de retorno marginal de 42 y una relación beneficio costo de 0,20.

### Effect of *Trichoderma harzianum* and *Paecilomyces lilacinus* application on organic lettuce yield

The use of *T. harzianum* y *P. lilacinus* in several types of vegetables increases nutrients absorption through root improvement and development, it promotes disposability of necessary nutrients for plants and protects root system to the attacks of pathogenic fungi and plagues. The application of these fungi at sowing and transplant in organic lettuce was evaluated, in order to determine the management system with superior yield, best quality of lettuce and most profitable with lower cost. Treatments were: *Trichoderma* at sowing-*Paecilomyces* at transplant and viceversa, *Trichoderma* at sowing-*Trichoderma* at transplant, *Paecilomyces* at sowing-*Paecilomyces* at transplant, *Trichoderma*+*Paecilomyces* at sowing-*Trichoderma*+*Paecilomyces* at transplant and the control without application. Products were incorporated to substrate in germination trays manually at sowing, transplanted was realized 19 days later and lettuce harvest was carried out 37 and 41 days after transplanting. Best treatments were the combinations of *Trichoderma* at sowing-*Paecilomyces* at transplant, *Paecilomyces* at sowing-*Trichoderma* at transplant and *Paecilomyces* at sowing-*Paecilomyces* at transplant which produced more harvested lettuces, commercial lettuces and greater weight of harvested and commercial lettuces, respectively. No significant difference in root length was observed, but there was greater commercial lettuce weight in treatments with greater number of nodules for plants, these were *Trichoderma* at sowing-*Paecilomyces* at transplant and *Paecilomyces* at sowing-*Trichoderma* at transplant with a rate of marginal return of 42 and a relation benefit cost of 0.20.