

# Control biológico de hongos fitopatógenos del suelo con *Trichoderma* spp en La Comarca Lagunera, México

## Biological control of soil borne plant-pathogenic fungi with *Trichoderma* spp at La Comarca Lagunera, México

Vicente Hernández-Hernández<sup>1</sup>, Marcia Maribel Martínez-Scott<sup>1</sup>, Esteban Favela-Chávez<sup>1</sup>, Adalberto Benavides-Mendoza<sup>2</sup>, Sergio Rodríguez-Herrera<sup>2</sup>, Jerónimo Landeros-Flores<sup>2</sup>, Alberto Flores-Olivas<sup>2</sup> y José Alfredo Samaniego-Gaxiola<sup>3</sup>

E-mail: Vh22@yahoo.com.mx

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, Periférico y Carretera a Santa Fe s/n. Torreón, Coah, México. CP 27059. <sup>2</sup>Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coah., México. C.P. 25315.

### Abstract

Presently, the control of diseases caused by soilborne plant pathogens are realized by the indiscriminate application of chemical and the use of cultural practices which are restricted by economical and ecological factors; for this reason, researchers looking for alternatives to reduce the damage caused by the soil born plant pathogens in a program of sustainable and income-producing agriculture. A sampling of soil was realized in pecan trees field in six municipals localities of La Comarca Lagunera of Coahuila and Durango, with 180 sampling points. Ten replications were taken from each sample to place in Petri dishes containing a culture medium for *Trichoderma*. A total of 256 strains of the fungus was obtained and kept on Petri dishes containing Potato-Dextrose-Agar (PDA) at 25°C; later the isolates were transferred to assay tubes with PDA and stored at 4°C for identification. *Trichoderma* is a fungus that grows better in soils with a pH less than 7.5 and cultivated with perennial crops.

**Key words:** *Trichoderma*, soilborne plant pathogens, isolates.

### Resumen

En la actualidad el control de enfermedades del suelo se lleva a cabo por medio de aplicaciones indiscriminadas de productos químicos y el empleo de prácticas culturales que se han visto restringidas por cuestiones económicas y ecológicas, lo que ha dado pie a que se busquen alternativas que permitan reducir los daños causados por los fitopatógenos del suelo bajo una agricultura sustentable y redituable. Se realizó un muestreo de suelo en huertas de nogal de seis municipios de La Comarca Lagunera de Coahuila y Durango, ubicándose 180 puntos de muestreo. De cada muestra se tomaron 10 repeticiones para siembra en cajas Petri conteniendo medio de cultivo para *Trichoderma*. Se obtuvieron 256 cepas que se mantuvieron en cajas con PDA a una temperatura de 25 °C y posteriormente se trasladaron a tubos de PDA que fueron

almacenados a temperatura de 4 °C para su posterior identificación molecular. *Trichoderma* es un hongo que se localiza más fácilmente en suelos con pH menores a 7.5 y donde existen cultivos con mayor permanencia en el suelo.

**Palabras claves:** *Trichoderma*, fitopatógenos del suelo, aislamiento.

## Introducción

La Comarca Lagunera se caracteriza por ser la principal cuenca lechera en el país y la producción agrícola de la región representa el 7.7 % de la producción total del país; dentro de este contexto se puede decir que aproximadamente 100,000 hectáreas son cosechadas anualmente (INEGI, 2004; SAGARPA, 2005). Sin embargo, los sistemas de producción en La Laguna de Coahuila y Durango, se ven limitados por factores climáticos (clima seco extremo, precipitaciones pluviales insuficientes), edáficos e hidrológicos y por un alto grado de infestación severa de fitopatógenos del suelo que los vuelven inutilizables. Dentro de este grupo de patógenos se encuentra a: *Rhizoctonia solani* Kühn, *Phymatotrichum omnivorum* (Shear) Duggar, *Verticillium dahliae* Kleb., *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich y *Fusarium* spp (Zavaleta, 1999); recayendo su importancia en la capacidad para producir estructuras de resistencia tales como esclerocios asegurando su supervivencia en el suelo por períodos largos de tiempo que van de 6-10 años en algunas especies; además presentan rangos amplios de hospedantes evitando utilizar la rotación de cultivos haciendo que sea imposible su control o erradicación por los métodos convencionales (Brunner *et al.*, 2005; Agrios, 1985; Abdoulaye, 2003; FAO, 2003; Hjeljord y Tronsmo, 1998). Es así como se considera la alternativa de emplear cepas nativas del género *Trichoderma* que puedan ejercer un control por medio del microparasitismo tanto de patógenos del suelo como del área foliar, disminuyendo los daños causados por estos fitopatógenos, sin dañar el medio ambiente y tratando de que los costos de producción contra las ganancias netas sea a favor de los agricultores, optimizando las aplicaciones de fungicidas químicos y teniendo como base el desarrollo sostenible. Por lo tanto se realizó este estudio con los siguientes objetivos: Aislar y caracterizar especies nativas de La Comarca Lagunera de *Trichoderma* spp., determinar en el laboratorio el parasitismo de *Trichoderma* spp, sobre *P. omnivorum*, *Fusarium oxysporum*, *V. dahliae* y *R. solani*. y evaluar en invernadero el efecto de *Trichoderma* spp, sobre *R. solani*. (Zavaleta, 1999).

## Metodología Experimental

**Muestreo de suelo.** El muestreo se realizó en La Comarca Lagunera, en distintas huertas de nogal en los municipios de San Pedro de la Colonias, Francisco I. Madero, Torreón y Matamoros, Coahuila; así como en Gómez Palacio y Lerdo Durango. En cada localidad se tomaron 10 muestras al azar de suelo para cada huerta, donde el sitio de muestreo estaba representado por un árbol de nogal; cada muestra se tomo a una profundidad de 0.15 a .30 m con un peso de .500 g por cada muestra; en total fueron



180 puntos de muestreo Las muestras de suelo fueron trasladadas al laboratorio de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, secándose a la sombra por 24 h y moliendo perfectamente el suelo con un mortero de porcelana para su posterior uso (Harman *et al.*, 2000; Rivera-Cruz *et al.*, 2002).

**Aislamiento de *Trichoderma* spp.** De cada muestra de suelo se tomaron diez submuestras de 50 mg, las cuales fueron pesadas en una balanza analítica las cuales se sembraron en un medio de cultivo para *Trichoderma* (Samaniego *et al.*, 2000), manteniéndose en la incubadora a temperatura de 25 °C y a oscuridad total durante 2-5 días (Harman, 2001) observándose cada 12 h el crecimiento de las colonias de hongos. Los aislamientos de *Trichoderma*, se transfirieron a cajas Petri conteniendo como medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) con 50 mg/l de estreptomycin como control de bacterias (Brunner *et al.*, 2005). Posteriormente se trasladaron las colonias de *Trichoderma* a cajas con PDA para su agrupación y posterior identificación (Ulacio *et al.*, 2002). Las cepas obtenidas fueron pasadas a tubos de ensaye conteniendo PDA y para su almacenamiento en el refrigerador a 4 °C hasta su posterior uso (Berg *et al.*, 2005).

**Observación e Identificación Morfológica de los Aislados.** La observación morfológica de los aislados se realizó por medio del crecimiento de las colonias contenidas en el medio de cultivo PDA, en condiciones ambientales de 22 °C y luz difusa en el laboratorio. La identificación consistió en la observación microscópica del crecimiento y desarrollo de las clamidiosporas en un periodo de tiempo de 3 a 5 d, identificando posteriormente mediante la ayuda de las claves provenientes de Rifai y Bissett (1991) y por fotografías obtenidas del *Trichoderma*.

## Resultados y Discusión

Se logro aislar a *Trichoderma* en muestras de suelo que se tomaron a una profundidad de 0.15-0.30 m; a la vez se determinó que los suelos que se muestrearon y donde los análisis químicos y físicos arrojaron resultados de pH de 5.5-7.5 y textura arcillosa, se pudo aislar con mayor facilidad a *Trichoderma* resultados que concuerdan con investigaciones realizadas por Berg *et al.*,(2005) y en los suelos con pH arriba de 8.0 con una consistencia franco-arcillosa se logro aislar pocas cepas del hongo, llegando a la conclusión que este hongo biocontrolador se desarrolla mejor en suelos ácidos, resultados que concuerda con otras investigaciones realizadas (Samaniego *et al.*, 2002; Ulacio *et al.*, 2002; Harman, 2001; Castle *et al.*, 1998). El siguiente cuadro muestra las cepas del hongo aisladas y los sitios de muestreo.

**Cuadro 1.** Muestreo de suelo en Huertas de Nogal para aislamiento de *Trichoderma* en La Comarca Lagunera de Coahuila y Durango. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. 2005-2006

Municipios	Propiedades	Fecha de Muestreo de Suelo	Obtención de Aislado	No. de Cepas Obtenidas
<b>San Pedro, Coah.</b>	P.P. San Isidro	14-Nov-05	+	10
	San Antonio De Gurza	14-Nov-05	+	21
	San Carlos	14-Nov-05	+	16
	San Ignacio	13-Mar-05	-	0
	P.P. Gámez	17-Mar-05	-	0
<b>Francisco I. Madero, Coah.</b>	P.P. Florida	16-Nov-05	+	12
	P.P. El Roble	18-Nov-05	+	18
	Jaboncillo	13-Oct-05	-	0
	Jauja	14-Abr-05	-	0
<b>Torreón, Coahuila</b>	UAAAN	7-Sep-05	+	21
	P.P Las Arboledas	15-Oct-05	+	17
	Los Viñedos	18-Oct-05	+	24
<b>Matamoros, Coahuila</b>	INIFAP	20-May-05	+	14
	Tierra Blanca	5-Jul-05	+	28
	Hormiguero	6-Jul-05	+	30
<b>Gómez Palacio, Durango</b>	El Perú	10-Feb-06	+	16
	El Vergel	10-Feb-06	+	16
<b>Lerdo, Durango</b>	Lerdo	23-Abr-06	+	14
<b>Total de Aislados</b>				<b>256</b>

Los aislados obtenidos se agruparon para la determinar si los hongos correspondían a alguna especie de *Trichoderma* cuya caracterización se realizó utilizando caracterización morfológicas y fotografías de la especies descritas (Castle *et al.*, 1998; Villegas y Castaño, 1999). Posteriormente se realizara la identificación de las cepas empleando técnicas moleculares.



## Conclusiones

Se pudo observar que *Trichoderma* es un biocontrolador que se encuentra prácticamente en todos los suelos del mundo, sin embargo el porcentaje de inóculo varía de acuerdo a las características físico-químicas del suelo, porcentajes de humedad, pH, contenido de materia orgánica, permanencia del cultivo en el suelo, fonología del cultivo y tipo de raíces.

## Literatura Citada

- Abdoulaye, T. 2003. *In vitro* culture of arbuscular mycorrhizal fungi: advances and future prospects. African Journal of Biotechnology 2(12): 692-697.
- Agrios, N. G. 1985. Fitopatología. Ed. Limusa. Primera edición. México, D.F. pp 27-33.
- Berg, G., Zachog, C., Lottmann, J., Götz, M., Costa, R. and K. Smalla. 2005. Impact of plant species and site on rhizosphere-associated fungi antagonistic to *Verticillium dahliae* Kleb. Appl. Environ. Microbiol. 71(8): 4203-4213.
- Brunner, K., Zeilinger, S., Ciliento, R., Woo, S. L., Lorito, M., Kubicek, C. P. and R. L. March. 2005. Improvement of the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride* to enhance both antagonism and induction of plant systemic disease resistance. Appl. Environ. Microbiol. 71(7): 3959-3965.
- Castle, A., Speranzini, D., Rghei, N., Alm, G., Rinker, D., and J. Bissett. 1998. Morphological and molecular identification of *Trichoderma* isolates on North American Mushroom farms. Appl. Environ. Microbiol. 64:133-137.
- FAO. 2003. Food, Nutrition and Agriculture. Organization of the United Nations. Rome Italy. pp. 26-30.
- Harman, G. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease 84: 377-393.
- Harman, G. E. 2001. Microbial tools to improve crop performance and profitability and to control plant diseases. p. 71-84. In D. D.-S. Tzeng (Eds.), Proceedings of International Symposium on Biological Control of Plant Diseases for the New Century. Mode of Action and Application Technology. Taichung City, Taiwan: National Chung Hsing University.
- Hjeljord, L., and A. Tronsmo. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biocontrol: an overview, p. 135-151. In C. P. Kubicek and G.E. Harman (Ed.), *Trichoderma* and *Gliocladium*. Taylor & Francis, Ltd., London, United Kingdom.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2004. Estadísticas de producción agropecuaria. Disponible en: <http://www.inegi.gob.mx> [Fecha de consulta: mayo de 2005].
- Rivera-Cruz, M.A., Ferrera-Cerrato, R., V. Volke Haller., Rodríguez Vázquez R. y L. Fernández Linares. 2002. Adaptación y selección de microorganismos autóctonos en medios de cultivos enriquecidos con petróleo crudo. Terra 20: 423-434.
- SAGARPA. 2005. Avances Reportados de Siembras y Cosechas, Superficie Sembrada y Cosechada, Rendimiento y Producción. <http://www.sagarpa.gob.mx>. [Consulta en Internet 22 de abril de 2005].
- Samaniego Gaxiola, A., Chew Madinaveitia, Y. I. y Jiménez Díaz, F. 2000. Control del Hongo *Rhizoctonia solani* que afecta la alfalfa en su establecimiento. [En Línea]. INIFAP Programa de Fitopatología. Campo Experimental La Laguna, Km 17.5 Carr. Torreón-Matamoros. Matamoros, Coah. <http://www.inifap.gob.mx> [Consulta enero de 2006].

Ulacio, D., Salas, J., Querales, P., y Sanabria, M. E. 2002. Microbiota del suelo de zonas productoras de papa del estado Mérida y su relación con *Rhizoctonia solani*. Bioagro 14: 11-16 pp.

Zavaleta Mejia, E. 1999. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. Terra 7:13. pp. 202-207.