

**CONTROL DE *RHIZOCTONIA SOLANI KÜHN* EN TOMATE
(*LYCOPERSICON ESCULENTUM*) CON EL HONGO
*TRICHODERMA HARZIANUM***

***RHIZOCTONIA SOLANI KÜHN* CONTROL IN TOMATO
(*LYCOPERSICON ESCULENTUM*) BY THE FUNGI *TRICHODERMA
HARZIANUM***

Clemencia Guédez¹, Luis Miguel Cañizalez¹, Carmen Castillo¹ y Rafael Olivar²

¹Laboratorio de Fitopatología y Control Biológico “Dr. Carlos Díaz Polanco”, Núcleo Universitario “Rafael Rangel”, Universidad de Los Andes, Trujillo, Venezuela. E-mail: cguédez@ula.ve ²Escuela Técnica Agropecuaria Robinsoniana Zamorana. “Adolfo Navas Coronado”, Ministerio de Educación, Trujillo, Venezuela.

Resumen

La enfermedad “Damping off” o “caída de plántulas” causada por *Rhizoctonia solani* Kühn, causante de la necrosis del tallo de plántulas de tomate, es uno de los principales problemas fitopatológicos a nivel de semilleros. El objetivo fue evaluar en control de *Rhizoctonia solani* en tomate, incorporando *Trichoderma harzianum* a un sustrato orgánico. Se sembraron semillas de tomate en germinadores con el sustrato orgánico que contenía el biocontrolador a razón de 50g/25 Kg sustrato. Se conformaron cuatro tratamientos para un total de 400 plántulas y se determinó la población de *T. harzianum* en cuatro muestreos, tomando una muestra del sustrato a 3 cm de profundidad. Se evaluó la incidencia de la enfermedad y se determinó la altura, peso fresco y seco de la parte aérea y peso fresco de las raíces. El crecimiento poblacional fue sostenido, no presentando diferencias significativas ($P > 0,05$) en donde se aplicó, mientras que si hubo diferencias significativas ($P < 0,05$) con respecto a los tratamientos donde no se aplicó. La presencia de la enfermedad se detectó a partir del noveno día después de la germinación, presentando la mayor incidencia en el testigo con un 100% de plantas enfermas. Los resultados obtenidos indican que la incorporación de *T. harzianum* en el sustrato orgánico limitó la aparición de la enfermedad y estimuló la multiplicación de este biocontrolador, aumentando el vigor de las plantas, lo que sugiere que este biocontrolador puede ser empleado para el control de la enfermedad conocida como “Damping off” en el cultivo del tomate.

Palabras clave: Damping off, plántulas, Trichoderma, incidencia de enfermedad.

Abstract

The disease “Damping off” caused by *Rhizoctonia solani*, causing of the necrosis in the stem of tomato seedling, it is one from the main problems to level of seedling. The objective was to evaluate the control of *Rhizoctonia solani* in tomato, incorporating *Trichoderma harzianum* to an organic substrate. Tomato seeds were sowed in seedbed with the organic substratum that contained the biocontrolador to reason of 50g/25 Kg substratum. They conformed to four treatments for a total of 400 seedlings and the population of *T. harzianum* was determined in four samplings, taking sample from the substratum to 3 cm of depth. The incidence of the disease was evaluated and the height, fresh weight was determined and I dry off of the air port and fresh weight of the roots. The population growth was sustained, not presenting significant differences ($P > 0,05$) where was applied, while if there are significant differences with regard to the treatments where it was not applied ($P < 0,05$). The presence of the disease was detected starting from the ninth day, presenting the biggest incidence in the witness with 32% of sick plants. The obtained results indicate that the combined presence of the organic substratum and *T. harzianum* still limit the appearance of the disease existing the pathogen in the floor and it stimulates the multiplication of this biocontrolador, increasing the vigor of the plants, what suggests that this biocontrolador can be an employee for the control of the well-known disease as “Damping off” in the cultivation of the tomato that is caused by *Rhizoctonia solani*.

Key words: Damping off, seedling, Trichoderma, incidence of disease.

Recibido: 18/10/2011 - Aprobado: 27/06/2012

Introducción

El hongo *Rhizoctonia solani* Kühn, es un patógeno de suelo, que causa enfermedades en un amplio rango de hospedantes de cultivos agrícolas, hortícolas y florícolas. Este hongo es parte del complejo de hongos que provocan la enfermedad conocida como “Damping off”, “Mal del talluelo” o caída de plántulas, que causa el estrangulamiento y necrosis del tallo a nivel de cuello en las plantas. En plantas adultas los síntomas se caracterizan por presentar manchas secas bien delimitadas en raíces, y lesiones hundidas de color pardo en el cuello (Van den Boogert, P.H.J. 1999).

Actualmente la tendencia en el control de plagas y enfermedades, es la utilización de procedimientos de control que garanticen una máxima efectividad, sin provocar las alteraciones a nivel ecológico que se generan por el empleo excesivo de agroquímicos (Díaz, 1996). La necesidad de encontrar mecanismos que eleven la productividad del campo ha impulsado la búsqueda de estrategias de control de enfermedades agrícolas que sean alternativas eficientes al control químico y que además implique bajar el riesgo ambiental y sanitario sin arriesgar la salud humana, constituye hoy en día un gran reto para la agricultura y su desarrollo (Harman et al., 2004; Zavaleta, 1999).

La utilización de controladores biológicos se considera dentro de los métodos de control en la implantación de los programas de desarrollo. El control biológico utilizado para estos fines fundamenta su efecto en las relaciones sinérgicas o antagónicas entre microorganismos de la rizósfera, así como la producción de algunas sustancias benéficas e inactivación de sustancias tóxicas (Martínez y García, 1984; Pérez, 1993).

El antagonista *Trichoderma* es uno de los organismos más promisorios en el manejo agroecológico de las plantas en un sistema de producción orgánico, no solo como control biológico sino como bioestimulante (Pérez et al. 1995). Las especies de este género son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos, debido a su ubicuidad, a su facilidad para ser aislada, cultivadas y a su rápido crecimiento en diferentes sustratos (Papavizas et al., 1982)

La incorporación al agroecosistema de abonos orgánicos provenientes de diferentes materiales vegetales y animales también ha demostrado tener ciertos efectos supresivos hacia algunas enfermedades, debido a que contienen poblaciones microbianas (Chung et al., 1988; Craft y Nelson, 1996; Hoitink et al., 1997; Hoitink y Boehm, 1999); Bulluck III et al., 2002).

El objetivo de esta investigación, fue evaluar el control de *Rhizoctonia solani* Kühn en tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) incorporando el hongo *Trichoderma harzianum* a un sustrato orgánico.

Materiales y métodos

Se sembraron semillas de tomate Var. Río Grande en germinadores de 200 celdas con sustrato proveniente de la combinación de estiércol de caballerizas y hojas secas descompuesto por lombriz californiana, previamente esterilizado en autoclave a 121°C, 15 lb de presión por 30 minutos, que de acuerdo al tratamiento fueron inoculados con *R. solani* y el biocontrolador *T. harzianum*, mantenidos bajo condiciones protegidas, 28°C y 70% humedad relativa.

Patógeno

El aislamiento del hongo *Rhizoctonia solani* utilizado, es procedente de la zona de Monay aislada de plántulas de tomate, se cultivó en medio de cultivo PDA (Papa, Dextrosa, Agar) por 10 días a temperatura ambiente (+/- 27°C) y del crecimiento de este hongo se realizó un raspado del micelio contenido en una caja de Petri y se distribuyó en 1 kg de sustrato.

Biocontrolador

Se utilizó el aislamiento Th01, del hongo *Trichoderma harzianum*, perteneciente a la colección de hongos del laboratorio de Fitopatología y Control Biológico del NURR-ULA. Trujillo, Venezuela. El hongo se masificó en sustrato arroz y se utilizó a una concentración de 1×10^9 esp/ml, el cual se adicionó al abono orgánico a razón 50 grs por 40 lts (25 Kg) de sustrato, 8 días antes de la siembra.

El diseño experimental fue completamente al azar, con cuatro tratamientos con 10 repeticiones cada uno, y cada repetición con 40 plantas para un total de 400 plantas.. Los tratamientos fueron: Sustrato con *T. harzianum* sin *R. solani* (T1); Sustrato sin *T. harzianum* sin *R. solani* (T2); Sustrato con *T. harzianum* con *R. solani* (T3) y Sustrato sin *T. harzianum* con *R. solani* (T4). Se utilizaron 8 germinadores de 200 cavidades cada uno (10x20).

Dinámica poblacional

Se determinó la población de *Trichoderma harzianum* en los germinadores en cuatro muestreos: al momento de la siembra, y uno por semana por 3 semanas. Las muestras se tomaron a 3 cm de profundidad formando con ellas una muestra compuesta para cada tratamiento que fue analizada en el laboratorio, y luego sembrada en PDA, y se contó las U.F.C. (unidades formadoras de colonias) de los hongos.

Incidencia de la enfermedad

Para evaluar la incidencia de la enfermedad “Damping off”, “Caída de plántulas” en las plántulas de tomate y conocer la eficacia de *Trichoderma harzianum* se realizó un seguimiento cada 3 días desde la siembra hasta los 30 días, tomando en cuenta la presencia o no de la enfermedad, contando número de plantas con síntomas por tratamiento.

Evaluación fisiológica

A las plántulas no se les adicionó ningún fertilizante durante el tiempo que duró el ensayo, suministrándole riego cada dos días. A los 30 días después de la siembra se determinó altura, medida desde el cuello hasta el ápice de crecimiento más alto, peso fresco y seco de la parte aérea y peso fresco de raíces, en cada uno de los tratamientos. Los resultados se analizaron a través de un análisis de varianza y pruebas de media Tukey, con el programa estadístico SPSS. 11 para Windows.

Resultados

La incorporación de *T. harzianum* a un sustrato orgánico limitó la manifestación de la enfermedad aún estando el patógeno en el suelo y estimuló la multiplicación de este biocontrolador, y aumentó el vigor de las plántulas, expresado en un incremento de la altura, biomasa aérea y desarrollo radicular de las mismas (Tabla 1).

Dinámica poblacional

El crecimiento poblacional de *T. harzianum* (U.F.C.) fue sostenido desde el inicio hasta el final del muestreo, en los tratamientos donde fue aplicado, no mostrando diferencias significativas ($P>0,05$) entre ellos, mientras que si se observó diferencias significativas entre los tratamientos donde se aplicó *T. harzianum* con respecto a los tratamientos donde no se aplicó ($P<0,005$) (testigos). El establecimiento de *T. harzianum* al sustrato demostró que fue utilizado por él, como lo mencionan los autores Boer et al., 2003; Bulluk III et al., 2002; Avila y Gutierrez, 2000; Bruggen y Semenov, 2000; Craft y Nelson, 1996.

En los tratamientos donde no se aplicó *T. harzianum*, aparecieron U.F.C. a partir de la segunda semana tanto donde se inoculó *R. solani* como donde no se aplicó, con una población similar en ambos casos ($P>0,05$), la presencia de U.F.C. de *T. harzianum* en donde no fue aplicado este hongo puede ser atribuible a que en el sustrato existía el hongo en ínfimas cantidades y la población fue aumentando, la cual se detectó a partir de la segunda semana después de la siembra.

Incidencia de la enfermedad

La presencia de la enfermedad “Damping off”, “Caída de plántulas” producida por *R. solani*, se detectó a partir del noveno día después de la siembra (Fig. 2), presentando la mayor incidencia en el T4 (donde no se aplicó el biocontrolador) con un 100% de plantas enfermas, mientras que donde se aplicó el biocontrolador y se inoculó con *R. solani* (T3), se presentó un 23% de plantas enfermas a los 18 días después de la siembra, existiendo diferencias significativas ($P<0,05$) entre estos dos tratamientos. En los T1 y T2 no se observaron plantas enfermas por cuanto no estaba presente el patógeno y después de los 18 días no se observaron nuevas plantas enfermas. Similares resultados encontraron Montealegre et al. (2010), al utilizar aislamientos de *T. harzianum* para controlar *R. solani* en plántulas de tomate en condiciones de invernadero y campo, controlaron el 100% de la enfermedad 92,95 y un 40% en el cultivar Góndola, y al mismo tiempo aumentaron los parámetros desarrollo radicular, peso fresco y peso seco.

Se comprobó el efecto controlador que posee el aislamiento estudiada de *Trichoderma harzianum* en el control de *R. solani*. Sandoval et al. 1995 obtuvieron resultados similares con la aplicación del biopreparado de *Trichoderma harzianum* Rifai (cepa A- 34) contra los hongos *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani*, causantes de la pudrición de las plantas (Damping-off) del tomate. Al tratamiento de la semilla y el suelo con *T. harzianum* resultó altamente satisfactorio para el control de *R. solani* y *Phytophthora parasitica* en tomate y *P. capsici* en pimiento y para el control de *P. parasitica* en semilleros de tomate en cultivo hidropónico (Rodríguez y Sandoval 1998).

Evaluación fisiológica

Se manifestó un estímulo del crecimiento de las raíces y de la planta en general, expresado en un mayor peso seco, en los tratamientos donde se aplicó *Trichoderma harzianum*; estos resultados coinciden con González et al., 2004, que observó que la aplicación de *T. harzianum* incrementó el peso seco y la altura de las plantas de tomate cuando se aplicó cepas de *Trichoderma* para el control de *Fusarium solani*.

Conclusiones

La incorporación de *Trichoderma harzianum* al sustrato utilizado, resultó efectivo para controlar la enfermedad “Damping off” o “Caída de plántulas” en el cultivo del tomate, la cual es ocasionada por *Rhizoctonia solani*, siendo sostenida la población del biocontrolador durante el tiempo que duró el cultivo.

Trichoderma harzianum estimula el crecimiento de las raíces y de la plántulas en general, expresado en un mayor peso seco de las mismas.

Agradecimiento

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes de la Universidad de Los Andes (CDCHTA-ULA), por el financiamiento otorgado a la investigación, a través del Proyecto código NURR-C-503-09-01.B.

Referencias bibliográficas:

1. AVILA DE MC Y GUTIERREZ A, (2000). Biocontrol de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary en lechuga (*Lactuca sativa* L). *Fitopatología Colombiana* 16 (1-2):172-179.
2. BOER, W. VERHEGGEN P, PAULIEN JA, GUNNEWIEK K, KOWALCHUK GA Y VAN VEEN JA, (2003). Microbial community composition affects soil fungistasis. *Appl. Environ. Microbiol.* 69 (2):835-844.
3. BRUGGEN, AH., VAN C. Y SEMENOV AM, (2000). In search of biological indicators for soil health and disease supresión. *Applied Soil. Ecology* 15:13-24.
4. BULLUCK III, LR, BROSIUS M, EVANYLO G K, RISTAINO JB, (2002). Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology* 19: 147-160.
5. CHUNG YR, HOITINK HAH, LIPPS PE, (1988). Interactions between organic-matter decomposition level and soil-borne disease severity. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 24: 183-193.
6. CRAFT CM, NELSON EB, (1996). Microbial properties of compost that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (5): 1550-1557.
7. DÍAZ R, (1996). Comparación entre el uso de la solarización y el Bromuro de Metilo en el control de *Rhizoctonia solani* (Kühn) y malezas en un suelo destinado al monocultivo del tomate. *Memoria de título Ing. Agr. Santiago*, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. 81 p.
8. GONZALEZ R, MONTEALEGRE J Y HERRERA R, (2004). Control Biológico de *Fusarium solani* en tomate mediante empleo de los bioantagonista *Paenibacillus lentimorbus* y *Trichoderma* spp. *Cien. Inv. Agr.* 31 (1): 21-28.
9. HARMAN GE, HOWELL CR, VITERBO A, CHET I, Y LORITO M. (2004). *Trichoderma* species: opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2 (1): 43- 56.

10. HOITINK HAH, ZHANG W, HAN D Y DICK WA, (1997). Making compost to suppress plant disease. *BioCycle* 38(2): 40-42.
11. HOITINK HAH, BOEHM MJ, (1999). Biocontrol within the context of soil microbial communities: A substrate-dependent phenomenon. *Ann. Rev. Phytopathol.* 37: 427-451.
12. MARTÍNEZ V Y GARCÍA R, (1984). Control biológico de *Fusarium oxysporum* mediante aislados de *Trichoderma*. *Ciencia de la Agricultura*. No. 18 ACC. La Habana.
13. MONTEALEGRE J, VADERRAMA L, SÁNCHEZ S, HERRERA R, BESOIN X, Y PÉREZ LM. (2010). Biological control of *Rhizoctonia solani* in tomatoes with *Trichoderma harzianum* mutants. *Electronic Journal of Biotechnology* 13(2): 1-11.
14. NASEBY D, PASCUAL J. Y LYNCH J. (2000). Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* populations, soil microbiol communities and soil enzyme activities. *Journal of Applied Microbiology* 88 (1):161-169.
15. PAPAVIDAS GC, LEWIS JAY ABD-ELMOITY TH, (1982). Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerancia to benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology* 72: 126-132.
16. PÉREZ N, (1993). Posibilidades del uso del control biológico en la Agricultura Sostenible. *Primer Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica*. INCA. La Habana.
17. PÉREZ MC, BORRAS O, NOGUEIRA J, FELIX E Y MARTÍN A, (1995). Empleo de *Trichoderma viride* en el control de la pudrición de la piña causada por *Phytophthora nicotinae* var *parasítica* en la fase de adaptación de vitroplantas y segmentos de tallos de piña en el suelo. *Evento 95 aniversario Resúmenes*.- La Habana: ISCA.
18. RODRÍGUEZ, F.; SANDOVAL, I. (1998). Efectividad de diferentes productos químicos y del biopreparado de *Trichoderma harzianum* Rifai contra enfermedades fúngicas del tomate de hidropónico. *Fitosanidad* 2(1- 2):51- 56.
19. SANDOVAL-RAMÍREZ I, LÓPEZ MO, GARCÍA D, MENDOZA I, (1995). *Trichoderma harzianum* (Cepa A-34): Un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y del pimiento. (*Boletín Técnico CID- INISAV3*). 36 p.
20. SANTANDER C, MONTEALEGRE J. Y HERRERA R. (2003) Control biológico de *Rhizoctonia solani* en tomate en suelos previamente sometidos a solarización y bromuro de metilo. *Ciencia e Investigación Agraria* 30 (2):107-112.
21. VAN DEN BOOGERT, PHJ, (1999). Mycoparasitism and biocontrol of *Rhizoctonia solani*. *Summa Phytopathologica* 25:107-110.
22. YA-CHUNC, YIH-CHANG Y BAKER R, (1996). Increased growth of plants presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. *Plant Disease* 70: 145-147.
23. ZAVALETA, ME. (1999). Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. *Terra* 17(3) 201-207.

Tabla 1. Altura, biomasa y desarrollo radicular de las plántulas de tomate a los 30 días después de la siembra.

Tratamiento	Altura cm	Peso fresco (Aérea) g	Peso seco (Aérea) g	Peso fresco (Raíces) g
T1 Con <i>T. harzianum</i> sin <i>R. solani</i>	13.5 a	4.4 a	0.30 a	2.4 a
T2 (Control) Sin <i>T. harzianum</i> sin <i>R. solani</i>	8.4 b	3.9 b	0.12 b	2.0 b
T3 Con <i>T. harzianum</i> con <i>R. solani</i>	12.5 a	4.3 a	0.29 a	2.5 a
T4 Sin <i>T. harzianum</i> con <i>R. solani</i>	7.9 b	3.9 b </td <td>0.11 b</td> <td>2.0 b</td>	0.11 b	2.0 b

Letras iguales en columnas significa que no hay diferencias significativas (p>0,05)

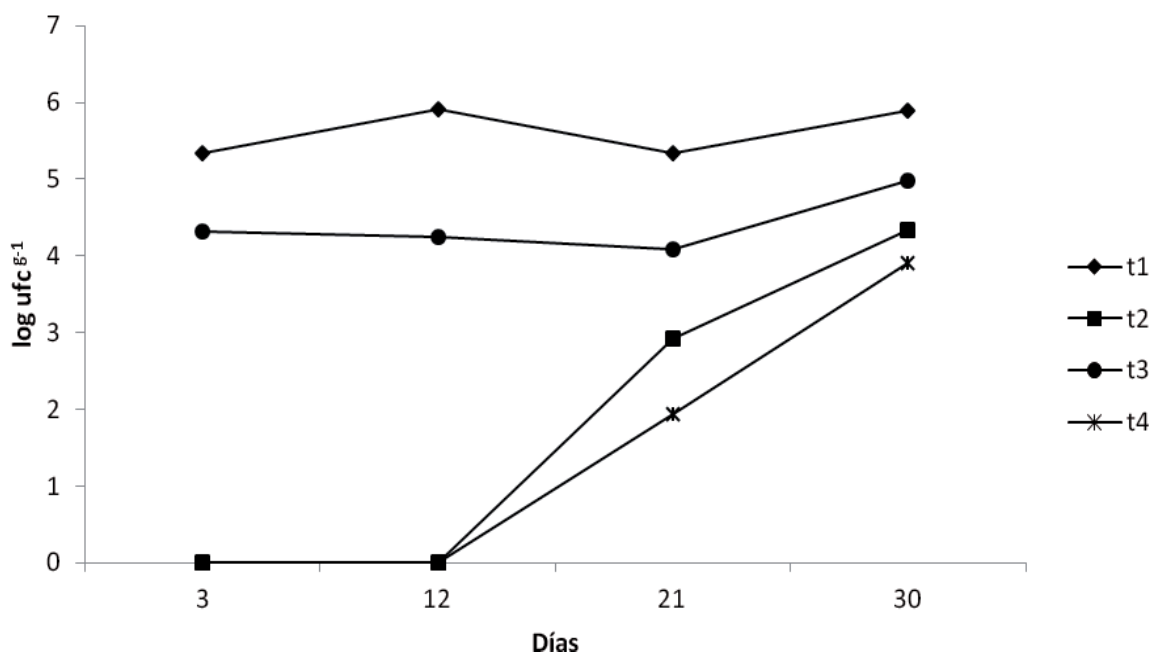


Fig. 1. Población de *Trichoderma harzianum* (log ufc⁻¹ suelo seco) en germinadores de tomate (*Lycopersicon esculentum*). t1=Con *T. harzianum*, sin *R. solani*; t2= Sin *T. harzianum*, sin *R. solani*; t3=Con *T. harzianum*, con *R. solani*; t4= Sin *T. harzianum*, con *R. solani*.

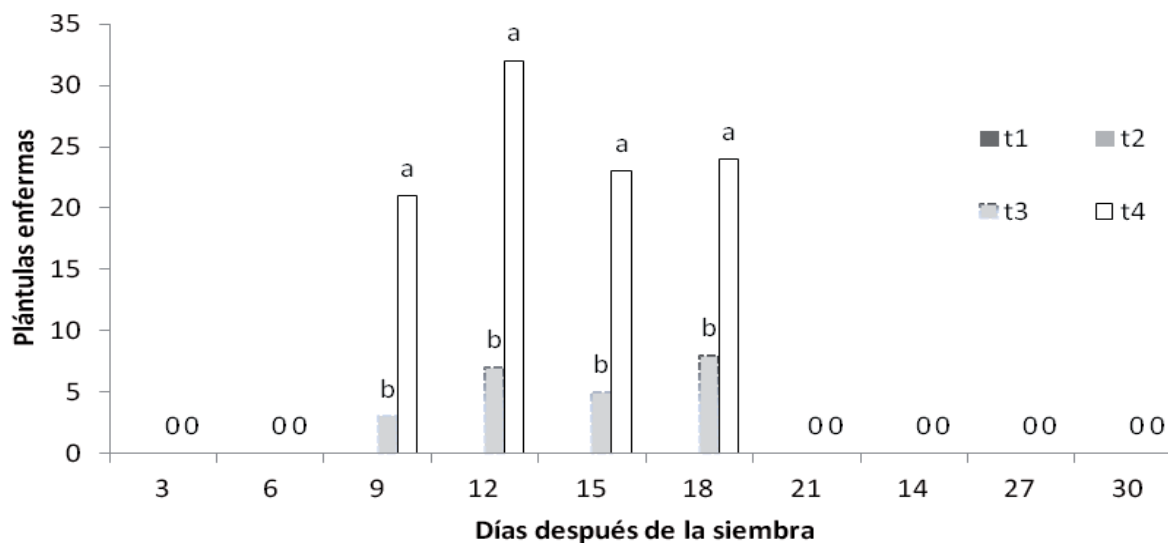


Fig. 2. Número de plántulas de tomate enfermas por *Rhizoctonia solani*, por tratamiento y por día. Barras con letras diferentes son significativamente diferentes.