

EVALUACIÓN DE DIFERENTES CEPAS DE *TRICHODERMA* SPP. PARA EL CONTROL DE *PHYTOPHTHORA PALMIVORA* EN EL CULTIVO DE *THEOBROMA CACAO* L. BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO EN EL ESTADO MIRANDA

José Matías Hernández Ruiz¹, Dercy Margarita Parra Martínez¹, Alberto Fernández Turro², Juana Iris Durand Coss², Carmen Yaritza Camejo Aponte¹

1. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. INIA- Miranda. República Bolivariana de Venezuela.
2. Universidad de Guantánamo, Cuba.

Introducción

En Venezuela, según Parra *et al.* (2009) las enfermedades causadas por las especies del género *Phytophthora*, son la principal causa de pérdidas de mazorcas, plantas en el campo y plántulas bajo condiciones de vivero y puede provocar la pudrición de raíces, muerte de injertos y manchas foliares (Evans, 2007).

En este sentido, es necesario incorporar prácticas de manejo contra plagas y enfermedades del cacao que posibiliten la disminución de aplicación de productos químicos protectores y fungicidas sistémicos, debido a sus altos costos y los riesgos asociados con la contaminación de las almendras y daños medioambientales (Meinhardt *et al.* 2008, Guest, 2007 y Reyes, *et al.* 2000).

El antagonista *Trichoderma* spp. ha mostrado una gran capacidad controladora de diversos patógenos en una amplia gama de especies vegetales cultivadas, tanto bajo condiciones de laboratorio como en condiciones de campo.

Sin embargo, las potencialidades de este microorganismo antagonista no han sido aprovechadas eficientemente como herramienta a incorporar en el manejo agronómico del cultivo en las región. Por lo que el objetivo de este trabajo es evaluar la efectividad de *Trichoderma* spp aisladas de compost sobre el control de *Phytophthora palmivora* en condiciones de laboratorio.

Materiales y métodos

La investigación se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del estado Miranda. Se realizó el aislamiento de las cepas de *Trichoderma* sp. de los compost elaborados a partir de diferentes mezclas de fuentes de materia orgánica. Se elaboraron siete (7) compost a partir de diferentes fuentes de materia orgánica obtenidas de las mezclas de cáscaras de cacao (*T. cacao*) provenientes de las plantaciones del Campo Experimental Padrón, hojas de cacao, estiércol bovino, hojas de Árnica (*Thitonia diversifolia*), hojas de mata ratón (*Gliricidia sepium*), pseudo tallo de musáceas, urea y cal. Fueron colocadas en contenedores de un metro cúbico (1m³) de capacidad de Urape (*Bauhinia* sp.) y Bambú (*Bambusa vulgaris*) conformando cada contenedor un "Compostero". Los componentes se fraccionaron manualmente hasta obtener trozos de 5-10cm de diámetro. Se colocaron las cáscaras de cacao intercaladas por un acelerador de descomposición. Se aplicaron uno (1) y cuatro (4) kilogramos Urea y Cal respectivamente, obteniéndose las mezclas como muestra la Tabla 1. (Girón *et al.* 1997).

Se realizaron muestreos semanales donde se extrajeron cinco submuestras de cada compostero para formar una muestra compuesta de 1kg. La evaluación de las muestras se realizó según el Manual de Métodos de Micología de INIA (2006).

Se determinó la riqueza micológica de las siete mezclas, el número de colonias en el tiempo y número totales de colonias de *Trichoderma sp* por mezcla.

Tabla 1. Conformación de las mezclas de materiales orgánicos utilizados.

Mezclas	Cáscaras de cacao (m ³)	Hojas secas de cacao (m ³)	Estiércol de ganado bovino (m ³)	Hojas de Árnica (m ³)	Seudo tallos de musáceas (m ³)	Hojas Mata ratón (m ³)	Urea (kg)	Cal (kg)
1	1,12							
2	0,84		0,28					
3	0,56	0,28	0,28					
4	0,56	0,28	0,14	0,14				
5	0,56	0,21	0,07		0,14	0,14		
6	0,84	0,14		0,14			1,0	
7	1,12							4,0

Además, se evaluó la efectividad del control de cepas de *Trichoderma spp.* sobre *Phytophthora palmivora*, este patógeno fue obtenido a partir de frutos recolectados con síntomas de pudrición parda y procesados según lo establecido en el Manual de Métodos de Micología de INIA (2006) y las siete cepas de aislamientos de *Trichoderma spp.* fueron obtenidas de los muestreos de los compost realizados.

Para la prueba de confrontación, entre las cepas de *Trichoderma sp.* sobre el control de *P. palmivora* se conformaron siete tratamientos mediante la combinación de las cepas escogidas por cada sección contra la cepa del patógeno (Tabla 2).

Tabla 2 Tratamientos de confrontación antagonista contra patógeno

TRATAMIENTOS			
TRAT.	SECCIÓN (Según Bissett, 1991)	CEPA ANTAGONISTA	CEPA PATOGENO
1	Longibrachiatum	C1	<i>P. palmivora</i>
2	Pachybasium	C3	<i>P. palmivora</i>
3	Trichoderma	C9	<i>P. palmivora</i>
4	Hypocreanum	C10	<i>P. palmivora</i>
5	Longibrachiatum	C17	<i>P. palmivora</i>
6	Pachybasium	C18	<i>P. palmivora</i>
7	Trichoderma	C25	<i>P. palmivora</i>

Los resultados experimentales fueron sometidos al Análisis de Varianza Doble. Las comparaciones de medias se realizarán según Test de rango múltiples de Duncan (1955) para el 95% de probabilidad de error. Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico STATGRAPHICS versión 5.1.

Resultados y discusión

En el aislamiento de cepas de *Trichoderma sp.* de los compost elaborados a partir de diferentes mezclas de fuentes de materia orgánica, la tabla 3 muestra el número de colonias de *Trichoderma sp.* donde se observó que los tratamientos (mezclas) 1, 3, 4, 5, 6 y 7 alcanzaron los mayores números de colonias de este antagonista, no existiendo diferencias entre ellos. Solo el tratamiento donde se utilizó el estiércol bovino difirió del resto (Tratamiento 2); lo cual puede estar dado por el contenido

elevado de celulosa de la cáscara del fruto, que puede ser descompuesta por este hongo celulolítico.

Así mismo, parece ser que el estiércol vacuno durante su proceso de descomposición genera sustancias que afectan negativamente la germinación de las esporas de las diferentes especies de hongos. Esta situación se debe considerar al seleccionar el sustrato que se utiliza en la reproducción masiva de *Trichoderma* (Fernández L., O. 2001).

Tabla 3. Número totales de colonias de *Trichoderma* por mezcla.

Mezcla	Descripción	Número de colonias (U) x 10³
1	1,12 m ³ de Cáscara de cacao	11,40ab
2	0,84 m ³ Cáscara cacao + 0,28 m ³ estiércol bovino	10,09b
3	0,56 m ³ de Cáscara cacao + 0,28 m ³ estiércol bovino + 0,28 m ³ hojas cacao secas	11,75ab
4	0,56 m ³ Cáscara cacao + 0,28 m ³ hojas cacao secas + 0,14 m ³ estiércol bovino + 0,14 m ³ hojas Árnica	12,40a
5	0,56 m ³ Cáscara cacao + 0,21 m ³ hojas cacao secas + 0,07m ³ estiércol bovino + 0,14 m ³ seudotallo musáceas + 0,14 m ³ hojas matarratón	12,63a
6	0,84 m ³ Cáscara cacao + 0,14 m ³ hojas cacao secas + 0,14 m ³ hojas Arnica + 0,14 m ³ urea	11,64ab
7	1,12 m ³ Cáscara de cacao+0,28 m ³ de cal	12,16a
	ESx	0,5988

*Medias con letras iguales no difieren entre sí para Duncan (p≤ 0,05).

La composición de géneros de hongos parece ser influenciada por los compuestos químicos del material orgánico usado para preparar el compost. La preparación con sustancias lignocelulósicas, tales como corteza de árboles son colonizados principalmente por *Trichoderma* (Hoitink, 2001).

Durante la evaluación de la efectividad de control de cepas de *Trichoderma spp.* sobre *Phytophthora palmivora*, aislada de diferentes mezclas de compost se evidenció que los mayores diámetros de las colonias se obtuvieron con el empleo de la cepa C18 (*Pachybasium*) a los 96 días, seguidas de las cepas C17 (*Longibrachiatum*), C10 (*Hypocreanum*) y C9 (*Trichoderma*) en igual tiempo, existiendo diferencias significativas entre los mismos para un nivel de significación de 0,05%, tal como se muestra en la tabla 4.

Además, a las 96 horas las diferentes cepas alcanzaron los mayores valores para el diámetro. En ambos casos se demuestra que el hongo patógeno dejó de crecer, mientras el antagonista continuaba creciendo hasta invadir totalmente la superficie de la colonia del hongo patógeno, lo que puede constituir una manifestación de los procesos de micoparasitismo.

Por otro lado, la actividad antagónica de *Trichoderma* depende del patógeno a controlar. Aspectos que han sido demostrados por Folgueras *et al.* (2008) sobre Antibiosis “*in vitro*” entre el antagonista *Trichoderma spp* y organismos patógenos causantes de pudriciones radicales en yuca, donde se demostró que a partir de las 48 horas de incubación, el aislamiento de *Trichoderma* empleado produjo un porcentaje

de inhibición del crecimiento radial (PICR) de los patógenos en estudio superior al 28%, cuya capacidad antagónica se mantuvo en ascenso.

Tabla 4. Diámetro de las colonias según tratamiento (72 y 96 horas)

Tratamientos		Diámetro de las colonias (cm)
Sección/ cepa	Tiempo (Horas)	
Longibrachiatum C1	72	3,13h
Pachybasium C3		3,05ih
Trichoderma C9		3,24h
Hypocreanum C10		4,10g
Longibrachiatum C17		2,89i
Pachybasium C18		4,84f
Trichoderma C25		2,14j
Longibrachiatum C1	96	6,23d
Pachybasium C3		5,34e
Trichoderma C9		8,09b
Hypocreanum C10		8,18b
Longibrachiatum C17		8,21b
Pachybasium C18		8,52a
Trichoderma C25		7,73c
ESx		0,0752476

*Medias con letras iguales no difieren entre sí para Duncan ($p \leq 0,05$).

En cuanto al Índice de efectividad media de las cepas de *Trichoderma* y el tiempo sobre *Phytophthora palmivora*, en el análisis estadístico realizado a estas variables no se encontraron interacciones entre los factores en estudio, por lo que se analizaron los efectos de los mismos por separado.

La tabla 5 muestra el efecto de las diferentes cepas de *Trichoderma* sobre *Phytophthora palmivora*, donde se observó que las cepas C9 (*Trichoderma*), C10 (*Hypocreanum*) y C17 (*Longibrachiatum*) tuvieron un mayor control sobre el fitopatógeno con valores de 1,076; 0,87 y 1,125 respectivamente, no existiendo diferencias entre ellos para un 0,05% de significación.

Por otro lado, las cepas C9 y C10 no difirieron significativamente de la cepa C17.

Con respecto al tiempo, los mayores índices se alcanzaron a las 72 y 96 horas con valores de 0,95 para ambos casos, difiriendo estadísticamente con el índice alcanzado a las 48 horas.

Las cinco cepas de antagonistas aislados presentaron diferente nivel de inhibición del *P. palmivora*. En la investigación todos los antagonistas fueron aislados de los compost elaborados. Las cepas de 9,10 y 17 fueron las más efectivas para inhibir el crecimiento de los microorganismos fitopatógenos.

Es importante mencionar que en la mayoría de los tratamientos el índice de efectividad media de *Trichoderma spp.* es alto, lo que significa un mayor número de cepas que pueden ser utilizadas en el control de fitopatógeno.

Conclusiones.

1. La evaluación de la capacidad del compost elaborado a partir de diferentes fuentes de materia orgánica permitió el aislamiento de siete (7) cepas del antagonista *Trichoderma* pertenecientes a las secciones: Longibrachiatum, Pachybasium, Trichoderma y Hypocreanum.
2. Se comprobó la efectividad de control de las diferentes cepas de *Trichoderma spp.* sobre *Phytophthora palmivora* obteniéndose que los aislamientos con

mayor IEM fueron: C17 (*Longibrachiatum*), C9 (*Trichoderma*) y C10 (*Hypocreanum*).

Tabla 5. Índice de efectividad media (IEM) de las cepas de *Trichoderma* y el tiempo sobre *Phyphthora palmivora*

Tratamientos	IEM *
Sección/Cepa	
<i>Longibrachiatum</i> (Cepa 1)	0,44c
<i>Trichoderma</i> (Cepa 9)	1,07ba
<i>Hypocreanum</i> (Cepa 10)	0,88ba
<i>Longibrachiatum</i> (Cepa 17)	1,13a
<i>Pachybasium</i> (Cepa 18)	0,81b
ESx	0,106
Tiempo	
48 horas	0,69 b
72 horas	0,95 a
96 horas	0,95 a
ESx	0,094
*Medias con letras iguales no difieren entre sí para Duncan ($p \leq 0,5$).	

Bibliografía.

1. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (2006). Manual de Métodos de Micología de INIA
2. Evans, H. C. (2007). Cacao diseases-The trilogy revisited. *Phytopathology*, 97, 1640-1643.
3. Folgueras, M., Herrera, Lidcay, Rodriguez S. y Rojas Xiomara. (2008). Antibiosis "In vitro" entre el antagonista *Trichoderma* spp. Y organismos patógenos causantes de pudriciones radiculares en yucca (*Manihot esculenta* Crantz). *Centro Agrícola*, 35(2), 51-53.
4. Guest, D. (2007). Black pod: Diverse pathogens with a global impact on cocoa yield. *Phytopathology* 97, 1650-1653.
5. Fernández L., O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado de Plagas*. 62:96-100.
6. Meinhardt, L. W., J. Rincones, B. A. Bailey, M. C. Aime, G. W. Griffith, D., Zhang. (2008). *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao: what's new from this old foe? *Molecular Plant Pathology*, 577-588.
7. Parra, D. P., M., S.; Sosa, D.; Rumbos, R.; Gutiérrez, B.; Moya. A. (2009). Avances en las investigaciones venezolanas sobre enfermedades del cacao. *Estudios Transdisciplinarios*, 1(2), 56-75.
8. Reyes, H. y. Capriles, L. (2000). El Cacao en Venezuela. Moderna Tecnología para su cultivo. *Chocolates el Rey*. Disponible en <http://es.scribd.com/doc/23271157/Cacao-REYES>
9. Girón C. y Tortolero J.J. 1997. Evaluación del vermicompost en el crecimiento de las plantas de cacao en vivero. FONAIAP- Estación Experimental del Estado Miranda. Memoria Anual 1996. 240-244.
10. Hoitink G.E. 2001. Changes in Perceptions Derived from Research on *Trichoderma harzianum* T-22. Cornell University and BioWorks, Inc., Geneva, NY.