



## Manejo de hongos fitopatógenos en *Oryza sativa* con la aplicación de *Trichoderma asperellum*

### Management of phytopathogenic fungi on *Oryza sativa* with the application of *Trichoderma asperellum*

 Ariel Cruz\*,  Deyanira Rivero,  Anayza Echevarría,  Aida Tania Rodríguez

Unidad Científico Tecnológica de Base "Los Palacios". Km 1½ carretera La Francia, Los Palacios, Pinar del Río, Cuba. CP 22900

**RESUMEN:** Las enfermedades fúngicas en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* Lin.) están consideradas entre las principales causas de los bajos rendimientos del cereal. Numerosos estudios indican que las aplicaciones al suelo de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg en campos destinados al cultivo del arroz, son promisorias para el control de numerosos hongos fitopatógenos. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la cepa *Ta. 78* de *T. asperellum* frente a las enfermedades más importantes del cultivo del arroz, en condiciones de campo. Para ello, se asperjó al suelo la cepa *Ta. 78* de *T. asperellum*, en un sistema de terrazas durante la preparación de suelo, y se utilizó una terraza sin asperjar como testigo de producción. Se evaluó la severidad y la incidencia de las principales enfermedades causadas por los hongos, así como el número de plantas, hijos y panículas por m<sup>2</sup>. Los hongos que más afectaciones causaron al arroz fueron, *R. solani*, *Helminthosporium* sp. y *Cercospora* sp. La incidencia y la severidad de las enfermedades evaluadas en los tratamientos con *T. asperellum* disminuyó, significativamente, con respecto al tratamiento control, independientemente del momento de la evaluación. Por otro lado, el número de hijos y de espigas fue significativamente mayor en la parcela tratada con el control biológico.

**Palabras clave:** control biológico, incidencia, rendimiento, severidad.

**ABSTRACT:** Fungal diseases in rice crop (*Oryza sativa* Lin.) are considered among the main causes of low cereal yields. In this sense, numerous studies indicate that the applications of *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg strains to the soil in fields destined to the cultivation of rice, are promising for the control of numerous phytopathogenic fungi. The objective of the work was to evaluate the effect of the *Ta 78* strain of *T. asperellum* against the most important diseases of rice cultivation under field conditions. For this, the strain of *T. asperellum* was sprayed in a terrace system during soil preparation, and a terrace was used as a production control. The severity and incidence of the main diseases caused by fungi were evaluated at various times and the number of plants, tillers and panicles per m<sup>2</sup> was evaluated. *R. solani*, *Helminthosporium* sp. and *Cercospora* sp. were the fungi that most affected rice crop. The incidence and severity of the diseases evaluated in the treatment with *T. asperellum*, decreased significantly with respect to the control treatment, regardless of the time of the evaluation. On the other hand, the number of tillers and spikes was significantly higher in the plot treated with biological control.

**Key words:** biological control, severity, incidence, yield.

\*Autor para correspondencia: [actriana@inca.edu.cu](mailto:actriana@inca.edu.cu)

Recibido: 05/11/2020

Aceptado: 02/04/2021

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



## INTRODUCCIÓN

Los bajos rendimientos en la producción de arroz en los países productores de este cereal, están estrechamente relacionados con la alta incidencia de enfermedades fúngicas, las que pueden reducir los rendimientos entre el 20 y el 40% (1,2).

En Cuba, para el control de estas enfermedades, los productores usan numerosos fungicidas a dosis cada vez mayores, sin lograr el control deseado, situación que incrementa los costos de producción y reduce los beneficios. Por otra parte, se informa que la aplicación de productos en base a cepas de *Trichoderma* spp., es promisorio para el control de numerosos hongos fitopatógenos (3,4). Estos resultados positivos se deben, fundamentalmente, a la presencia en las cepas de *Trichoderma*, de varios mecanismos de acción con efectos directos e indirectos sobre los microorganismos fitopatógenos diana, como son: inactivación de sistemas de infección, competencia, antibiosis, micoparasitismo, además de estimular el desarrollo vegetal e inducir mecanismos defensivos en la planta (5-7). Se conoce que especies del género *Trichoderma* son simbioses vegetales avirulentos y existen registros de su presencia en diversos hábitats. Son microorganismos que interactúan activamente con las raíces de las plantas, el suelo y los ambientes foliares. Puede colonizar las raíces de las plantas, tanto externa como internamente (7) y, por lo tanto, es eficaz no solo contra una variedad de microorganismos fitopatógenos, sino también para mejorar el rendimiento de la planta en general.

El Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) cuenta con un cepario con aislamientos de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg promisorios para el control de hongos fitopatógenos del arroz (8).

Sobre la base de estos antecedentes, el objetivo del trabajo fue evaluar la incidencia y la severidad de enfermedades en el cultivo del arroz al ser tratado el suelo con la cepa *Ta. 78* de *T. asperellum*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en la Unidad Científico Tecnológica de Base, Los Palacios, Pinar del Río, Cuba; perteneciente al Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), durante la pre primavera (abril) del 2016, en un sistema de terrazas planas, en suelo arrocero clasificado como Hidromórfico Gley Nodular Petroférrico (9).

Se utilizaron dos terrazas con un área de 0,6 ha.

La cepa de *T. asperellum* (*Ta. 78*) utilizada en el experimento se aisló, caracterizó y se conserva en el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) (10).

La cepa se asperjó antes del fanguero, a la dosis recomendada para el control de otros hongos fitopatógenos en el cultivo del arroz (1kg.ha<sup>-1</sup>), con una titulación de 10<sup>9</sup> conidios.g<sup>-1</sup> (5); para ello se suspendieron en 1600 L de agua, 420 g del producto, se coló con una tela y se aplicó en una terraza con una mochila MATABI, con capacidad de

20 L y se tomó otra terraza, sin asperjar, como testigo de producción.

Se utilizó la tecnología de siembra directa en aguas claras, a una densidad de siembra de 120 kg.ha<sup>-1</sup> y se siguieron las normas técnicas del cultivo del arroz, con la excepción que no se aplicó ningún fungicida (10).

Se evaluaron las enfermedades que aparecieron de manera endémica. Las plantas con síntomas típicos de enfermedades causadas por hongos se analizaron en el laboratorio de Micología Vegetal de la UCTB Los Palacios, mediante observaciones al estereomicroscopio (Novel NSZ-606) y microscopio óptico y se compararon con los síntomas y las estructuras microscópicas descritas en la literatura (10).

Posteriormente, las evaluaciones se realizaron en cada variante en 5 puntos (1 m<sup>2</sup>/punto) en forma de bandera Inglesa y se determinó la severidad y el porcentaje de incidencia de las principales enfermedades causadas por los hongos en el cultivo del arroz (10).

### Evaluación de la severidad

Se evaluaron los síntomas de las enfermedades en las plantas a los 65 días después de germinadas (ddg) las semillas, hasta los 115 ddg con una frecuencia de 15 días. Las escalas de evaluación utilizadas para cada enfermedad fueron las citadas en el Sistema Estándar de Evaluación del International Rice Research Institute IRRRI (11) y se determinó la severidad a través de la fórmula (12):

$$S = [\sum(a \cdot b) / NK] 100$$

donde:

S- Severidad

$\sum(a \cdot b)$  - Sumatoria de los productos del número de órganos o plantas con síntomas (a) por su correspondiente grado de la escala (b)

N- Número total de plantas observadas

K- Mayor grado de la escala

El análisis de la severidad de las enfermedades en la terraza tratada con *Trichoderma asperellum* y la testigo de producción se realizó mediante la Prueba de Comparación de Medias con Muestras independientes, a través del estadígrafo "t de student".

### Evaluación de la incidencia de las enfermedades

A los 80 días después de germinado (ddg) el arroz, se contaron 100 plantas en diagonal cruzada/punto y se evaluó el número de plantas con síntomas de las enfermedades y se determinó el porcentaje de incidencia (13) de las mismas:

$$P = (a/100)N$$

donde:

P- Porcentaje de incidencia

a- Número de plantas enfermas

N- Total de plantas evaluadas

El análisis de la incidencia de las enfermedades en la terraza tratada con *Trichoderma asperellum* y la testigo de producción se realizó mediante la Prueba de Comparación

de Medias con Muestras independientes a través del estadígrafo "t de student".

### Variables de rendimiento

A los 110 ddg se evaluó el número de plantas, hijos y panículas en un m<sup>2</sup> en cinco puntos del área, tomándose en cuenta dejar 1 m de efecto de borde de la terraza. Con los datos de cada una de las variables de rendimiento evaluadas en cada variante, se realizó el análisis estadístico mediante la Prueba de Comparación de Medias con Muestras independientes a través del estadígrafo "t de student".

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la [tabla 1](#) se observa que a medida que transcurrieron los días de aplicada *Trichoderma* aumentó la severidad de los hongos evaluados, esto pudiera deberse a que haya disminuido la concentración de conidios del control biológico en el suelo, debido a que se trata de un microorganismo aeróbico y a que las condiciones de aniego del cultivo no favorecen su permanencia y desarrollo. Otros autores proponen una segunda aplicación del biocontrol en la fase de maduración de cultivos como el frijol y la soya para el control de hongos que inciden en fases tardías de los cultivos (14,15).

El tratamiento con *T. asperellum*, en la mayoría de los casos, redujo significativamente la severidad de los hongos fitopatógenos evaluados con respecto al tratamiento control, independientemente del momento evaluado, sin embargo, no se observaron diferencias entre los tratamientos a los 95 y 110 ddg, al evaluar el hongo *P. grisea* y en todas las evaluaciones al hongo *S. oryzae*,

por lo que no se evidenció el control deseado de los mismos. Esto pudiera deberse a que estos patógenos, principalmente, manifiestan sus síntomas en las partes aéreas (panícula) de las plantas durante la fase reproductiva del cultivo, por lo que la acción del biocontrolador es limitada, ya que se trata de un hongo del suelo y que fue aplicado previo a la siembra. Resultados similares fueron obtenidos por otros autores, con esta misma cepa, al evaluar la severidad de hongos fitopatógenos en otros escenarios y diferentes tecnologías de siembra (5).

Los hongos que mostraron mayor severidad fueron *R. solani* y *Helminthosporium* sp. Estos resultados están en concordancia con evaluaciones realizadas en los últimos cinco años en áreas arroceras de la Empresa Agroindustrial de Granos de Los Palacios.

En estudios realizados se encontró un antibiótico peptídico conocido como alameticina, secretado por *Trichoderma*, para permeabilizar eficientemente las células de las plantas, este antibiótico permite un mecanismo potencial para la tolerancia de las plantas a *Trichoderma*, necesario para la simbiosis mutualista, beneficiándose el crecimiento de las plantas y la resistencia a los patógenos (16). Una vez establecida la simbiosis, ocurre la interacción de *Trichoderma* con los hongos fitopatógenos, la que involucra una secuencia de eventos complejos que incluye: reconocimiento, crecimiento hacia el patógeno, excreción de exoquitinasas, liberación de oligómeros de la pared celular del hospedante, producción de endoquitinasas fungitóxicas que difunden y comienzan a afectar al patógeno antes del contacto (5,17,18).

Antes del micoparasitismo, el antagonista se adhiere a lectinas del patógeno a través de carbohidratos de la pared

**Tabla 1.** Severidad (%) de las enfermedades fúngicas presentes en el cultivo del arroz en diferentes momentos después de germinado y en áreas tratadas y sin tratar con *T. asperellum*.

Enfermedad	Momento (ddg)	Test. producción	<i>Trichoderma asperellum</i>	<i>T student</i>
<i>R. solani</i>	65	24	14	0,001675 *
	80	28	5	0,001665 *
	95	34	10	0,001874 *
	110	50	28	0,000247 *
<i>P. grisea</i>	65	0	0	Ns
	80	0	0	Ns
	95	11	4	0,000623 *
	110	16	9	0,023542 *
<i>Helminthosporium</i>	65	18	12	0,031267 *
	80	30	21	1,67E-05 *
	95	35	27	0,004358 *
	110	48	43	0,000388 *
<i>Cercospora</i>	65	16	13	0,010655 *
	80	18	31	4,21E-06 *
	95	24	18	0,004290 *
	110	24	19	0,007951 *
<i>S. oryzae</i>	65	0	0	Ns
	80	0	2	Ns
	95	11	11	Ns
	110	10	9	Ns

celular, se enrolla y/o forma estructuras semejantes a apresorios y secreta enzimas degradadoras de la pared celular (quitinasas, glucanasas, proteasas, entre otras) y antibióticos peptaboles (19), que facilitan la entrada de la hifa de Trichoderma a la del hongo fitopatógeno y la asimilación del contenido de la pared celular (20). Se ha comprobado que la producción de estas enzimas hidrolíticas no depende del contacto, sino de una molécula difusible producida por el hospedante (21). Es probable que los fitopatógenos del arroz que no fueron afectados por Ta. 78 produzcan estos metabolitos en bajas concentraciones o no lo produzcan, lo que explicaría el resultado obtenido.

En la figura 1 se aprecia que, excepto el hongo *S. oryzae* que no afectó el cultivo a los 80 ddg, se observó una distribución significativamente menor de los hongos fitopatógenos en el área tratada con *T. asperellum* con respecto a la no tratada. El hongo *Cercospora* sp. tuvo la distribución más intensa, seguido por *Helminthosporium* sp., *R. solani* y *P. grisea*. *Cercospora* y *Helminthosporium* sp., mostraron una distribución intensa y media, respectivamente. De manera diferente se distribuyeron los hongos *R. solani* y *P. grisea*, los cuales manifestaron un comportamiento diferencial entre los tratamientos evaluados. En este sentido, *R. solani* y *P. grisea* tuvieron una distribución media y ligera en el área no tratada y ligera y ninguna en el área tratada con el control biológico, respectivamente.

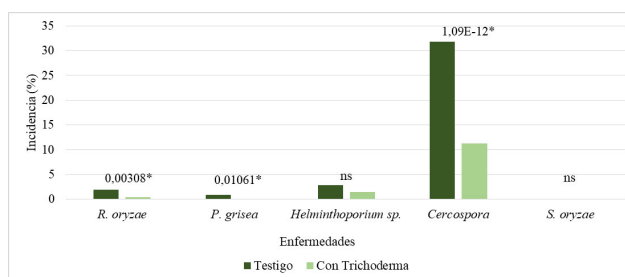
Las evaluaciones de las variables fisiológicas (Figura. 2) mostró que las plantas tratadas tenían un número de hijos y de espigas significativamente mayor que las testigos. Autores plantean que *Trichoderma*, además de ser un agente biocontrolador, tiene la capacidad de estimular el crecimiento y desarrollo de las plantas, por lo que pueden soportar más el ataque del patógeno, además induce mecanismos de defensa en las plantas que incrementan su resistencia a una amplia gama de agentes fitopatógenos (5,22).

## CONCLUSIONES

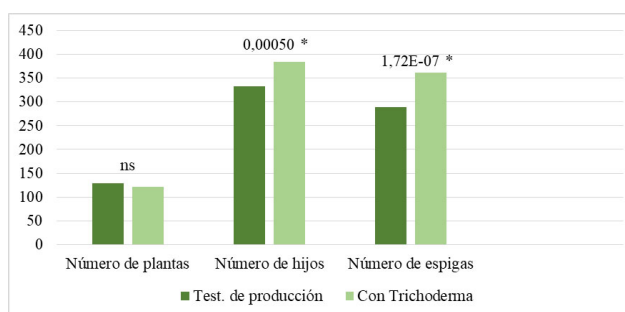
De manera general, la cepa Ta. 78 de *T. asperellum* disminuyó, significativamente, la incidencia y la severidad de la mayoría de los hongos evaluados, al ser comparados con el tratamiento control, con excepción de *S. oryzae*. Sin embargo, su actividad reguladora disminuyó con el transcurso del tiempo, aspecto que debe tenerse en cuenta para el manejo adecuado de las mismas. De igual modo, el número de hijos y de espigas fue significativamente mayor con la aplicación del control biológico.

## BIBLIOGRAFÍA

- Martínez S, Bao L, Escalante F. Manual de identificación de enfermedades y plagas en el cultivo de arroz. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. 2018;(116).
- Pérez\_Iglesias HI, García-Batista RM. Principales enfermedades que afectan al cultivo del arroz en Ecuador



**Figura 1.** Incidencia (%) de las enfermedades más importantes del cultivo del arroz a los 80 días después de germinado (ddg) en áreas tratadas con *T. asperellum* y sin tratar



**Figura 2.** Componentes del rendimiento por m<sup>2</sup> en parcelas tratadas con *T. asperellum* y sin tratar

y alternativas para su control. Revista Científica Agroecosistemas. 2018;6(1):16-27.

- Bhumi-Narsimha R, Kamma-Venkata S, Amballa H. In vitro screening for antagonistic potential of seven species of *Trichoderma* against different plant pathogenic fungi. *Research Journal of Biology*. 2014;2:29-36.
- Companioni González B, Domínguez Arizmendi G, García Velasco R, Companioni González B, Domínguez Arizmendi G, García Velasco R. *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Biotecnología Vegetal*. 2019;19(4):237-48.
- Coca BM, Infante D, Reyes Y, González I, Peteira B, Arias Y, et al. Bases científico - metodológicas para la selección, caracterización y uso de aislamientos de trichoderma como agente de control biológico del tizón de la vaina (*rhizoctonia solani kühn*) en arroz. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba* [Internet]. 2017;7(1). [cited 14/09/2022] Available from: <http://revistaccuba.sld.cu/index.php/revacc/article/view/470>
- Singh U, Singh S, Malviya D, Chaurasia R, Imran M, Rai J. Harnessing biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* for control of *Meloidogyne incognita* in tomato. *Indian Phytopathol*. 2017;70:331-5.
- De Palma M, Salzano M, Villano C, Aversano R, Lorito M, Ruocco M, et al. Transcriptome reprogramming, epigenetic modifications and alternative splicing orchestrate the tomato root response to the beneficial fungus *Trichoderma harzianum*. *Horticulture Research* [Internet]. 2019;6(5). [cited 14/09/2022] doi:10.1038/s41438-018-0079-1

8. Infante D, Martínez B, Peteira B, Reyes Y, Herrera A. Identificación molecular y evaluación patogénica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a *Rhizoctonia solani* Kühn. *Biología Aplicada*. 2013;30(1):17-22.
9. Hernández A, Pérez J, Bosch D, Castro N. Clasificación de los suelos de Cuba 2015. Mayabeque, Cuba: Ediciones INCA; 2015.
10. MINAG. Instructivo Técnico para el cultivo del arroz. La Habana: Instituto de Investigaciones del Arroz; 2015 p. 115.
11. Estándar. Evaluation System for Rice (SES) [Internet]. International Rice Research Institute (IRRI); 2016. Available from: <http://www.knowledgebank.irri.org/images/docs/rice-standard-evaluation-system.pdf>
12. Townsend GR. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Reporter*. 1943;27:340-3.
13. Folguera-Montiel M, Rodríguez-Morales S, Herrera-Isla L, Sánchez-Rodríguez R. Influencia de diferentes métodos de plantación en la incidencia de las pudriciones radicales de la yuca ("Manihot esculenta Crantz"). *Cuadernos de fitopatología: Revista técnica de fitopatología y entomología*. 2011;28(108):23-7.
14. Cruz-Triana A, Rivero-González D, Martínez-Coca B, Echevarría-Hernández A, Tania-Rodríguez A. Evaluación de la actividad antifúngica de *Trichoderma asperellum* Samuels ante patógenos fúngicos que afectan al cultivo de la soya (*Glycine max* L.). *Cultivos Tropicales*. 2017;38(4):15-21.
15. Cruz-Triana A, Rivero-González D, Infante-Martínez D, Echevarría-Hernández A, Martínez-Coca B, Cruz-Triana A, et al. Manejo de hongos fitopatógenos en *Phaseolus vulgaris* L. con la aplicación de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg. *Revista de Protección Vegetal* [Internet]. 2018;33(3). [cited 14/09/2022] Available from: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&id=S1010-27522018000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&id=S1010-27522018000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=en)
16. Dotson BR, Soltan D, Schmidt J, Areskoug M, Rabe K, Swart C, et al. The antibiotic peptide alamethicin from *Trichoderma permeabilis* Arabidopsis root apical meristem and epidermis but is antagonised by cellulase-induced resistance to alamethicin. *BMC Plant Biology*. 2018;18(1):165. doi:10.1186/s12870-018-1370-x16
17. Pineda-Insuasti JA, Benavides-Sotelo EN, Duarte-Trujillo AS, Burgos-Rada CA, Soto-Arroyave CP, Pineda-Soto CA, et al. Producción de biopreparados de *Trichoderma* spp: una revisión. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*. 2017;51(1):47-52.
18. Malmierca MG, Barua J, McCormick SP, Izquierdo-Bueno I, Cardoza RE, Alexander NJ, et al. Novel aspinolide production by *Trichoderma arundinaceum* with a potential role in *Botrytis cinerea* antagonistic activity and plant defence priming. *Environmental Microbiology*. 2015;17(4):1103-18. doi:<https://doi.org/10.1111/1462-2920.12514>
19. Companioni-González B, Domínguez-Arizmendi G, García-Velasco R, Companioni-González B, Domínguez-Arizmendi G, García-Velasco R. *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Biología Vegetal*. 2019;19(4):237-48.
20. Benhamou N. Elicitor-Induced Resistance in Tomato Plants Against Fungal Pathogens: Ultrastructure and Cytochemistry of the Induced Response. *Scanning Microscopy* [Internet]. 1995;9(3). Available from: <https://digitalcommons.usu.edu/microscopy/vol9/iss3/22>
21. Cortés C, Gutiérrez A, Olmedo V, Inbar J, Chet I, Herrera-Estrella A. The expression of genes involved in parasitism by *Trichoderma harzianum* is triggered by a diffusible factor. *Molecular and General Genetics* MGG. 1998;260(2):218-25. doi:10.1007/s004380050889
22. Schirawski J, Perlin MH. Plant-Microbe Interaction 2017- The Good, the Bad and the Diverse. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(5):1374. doi:10.3390/ijms19051374