

## ENSAYOS DE CONTROL BIOLÓGICO DE LA PODREDUMBRE BLANCA DEL AGUACATE.

D. Ruano-Rosa, L. Moral Del-Navarrete, L y C. J. López-Herrera

**Instituto de Agricultura Sostenible., C.S.I.C. Apdo 4084, 14080 Córdoba. España.  
Correo electrónico: [lherrera@cica.es](mailto:lherrera@cica.es)**

### RESUMEN

Se ha estudiado la efectividad de 8 aislados masales de *Trichoderma* como agentes de control biológico en la podredumbre blanca del aguacate causada por *Rosellinia necatrix*. Para ello se han inoculado dichos aislados una sola vez (Experimento 1) y dos veces (Experimento 2), y un aislado muy virulento del patógeno, en plantas de aguacate procedentes de cultivo de embriones *in vitro*, de 3 y 7 meses de edad. Se han evaluado, el progreso epidémico de la enfermedad, el nivel de población de *Trichoderma* en suelo y en el rizoplaneo de la planta. En las plantas con menor edad no se pudieron diferenciar los tratamientos entre sí y no se obtuvo control de la enfermedad por ninguno de los aislados del antagonista ensayados. En las plantas de más edad se diferenciaron los aislados, CH 255 y CH 316, como potenciales antagonistas en el control de la enfermedad.

**Palabras Clave:** Antagonismo, *Persea americana*, *Rosellinia necatrix*, *Trichoderma* sp.

### INTRODUCCIÓN

La podredumbre blanca (PB), causada por *Rosellinia necatrix* Prillieux (anamorfo *Dematophora necatrix* Hartig), es una de las principales enfermedades en árboles de aguacate (*Persea americana*) en el área de la costa del Sur de España (López-Herrera, 1989). El hongo invade el sistema radicular del árbol mediante un micelio blanco en forma de abanico, causando clorosis, marchitez, y defoliación en algunos casos, que en condiciones ambientales óptimas, puede dar lugar a una muerte rápida. El control químico de PB de aguacate no ha tenido mucho éxito hasta la fecha (López Herrera, et al., 1996), mientras que se han obtenido mejores resultados del control de la enfermedad con la solarización de suelos infestados (López Herrera et al., 1998).

Los problemas y limitaciones del control de enfermedades fúngicas mediante el uso de fungicidas hacen que el control biológico de los hongos fitopatógenos se presente como un método de control alternativo. Algunos autores han evaluado *Trichoderma harzianum* como agente de control de *Rosellinia necatrix* (Freeman et al., 1986). Sin embargo otros autores encuentran que la incorporación de *Trichoderma* en campo no es efectiva, pudiendo deberse esto a una aplicación inadecuada del antagonista (Sztejnberg et al., 1987).

## MATERIAL Y MÉTODOS:

Se realizaron dos experimentos (1 y 2) con plantas de aguacate obtenidas por cultivo de embriones *in vitro* a partir de semillas de cv. Topa Topa (Pliego-Alfaro, 1988) ya adaptadas a las condiciones de incubación (López Herrera et al., 1992). Los hongos utilizados fueron un aislado masal muy virulento de *Rosellinia necatrix* (CH 53) y 8 aislados masales del antagonista, *Trichoderma* sp. (CH 218, CH 255, CH 256, CH 300, CH 303, CH 304, CH 314 y CH 316), seleccionados por sus buenos resultados en experimentos de cultivos duales realizados con anterioridad (Zea-Bonilla et al., 2001). El inóculo consistió en semillas de trigo colonizadas por el patógeno o antagonista, preparadas según el método descrito por Sztejnberg y Madar (1980).

### **Experimento 1.-**

Cada maceta, conteniendo un sustrato no estéril de fibra de coco, turba y perlita y una planta de aguacate de tres meses de edad, se inoculó incorporando al suelo 2.5 gramos de trigo colonizado con *Trichoderma* ( $10^9$  esporas/litro suelo). Transcurridos 10 días se inoculó con 0.18 g de trigo colonizado por *R. necatrix* por maceta (0.75 g/l de suelo).

### **Experimento 2.-**

Se inocularon dos veces con un intervalo de 4 meses, plantas de 7 meses de edad, con 7.5 g de trigo colonizado por *Trichoderma* para cada maceta ( $10^9$  esporas/litro suelo). Transcurridos 10 días desde la segunda inoculación del antagonista, se inoculó con 0.54 g de trigo colonizado por *R. necatrix* por maceta. (0.75 g/l de suelo). Las inoculaciones se realizaron del mismo modo que en el primer experimento.

Durante el desarrollo de los experimentos se evaluaron los siguientes parámetros:

- Lectura de síntomas aéreos: Según la escala 0 a 5, 0 =planta sana, 5 =planta muerta. Con estos datos se calculó para cada una de las 5 repeticiones de cada tratamiento el área bajo la curva de progreso de la enfermedad estandarizada (ABCPES), y se clasificaron los distintos tratamientos mediante un análisis de varianza y comparación de medias de las ABCPES (Campbell y Madden, 1990).

- Cuantificación de *Trichoderma* sp. en suelo. Se determinó en cada experimento la cuantificación del número de propágulos de *Trichoderma* sp. en extracciones de suelo infestado a los 15, 30 y 45 días desde de la última inoculación con el antagonista, utilizando el método descrito por Askew y Laing (1993). Para los distintos tratamientos se calculó el Área Bajo la Curva del Progreso de nivel de ufc/ g de suelo en el periodo en que se realizaron las extracciones (15-45 días), para comparar mediante un análisis de varianza la evolución del nivel de *Trichoderma* en suelo.

Al finalizar el experimento se evaluó:

- Cuantificación de *Trichoderma* existente en el rizoplano, utilizando la metodología de Melo et al (1997). Los datos del nivel de población *Trichoderma* obtenidos como ufc/g de raíz se analizaron mediante un análisis de varianza para diferenciar entre sí los diferentes tratamientos ensayados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el primer experimento, el progreso epidémico de la enfermedad puso de manifiesto la muerte de casi todas las plantas inoculadas con el patógeno y antagonista a los 35 días de la inoculación (Fig.1) y analizando el ABCPES, no se observaron diferencias significativas entre los diferentes aislados del antagonista utilizados (Tabla 1).

En el segundo experimento, cuando las plantas fueron inoculadas dos veces con el antagonista con una diferencia de cuatro meses, y posteriormente con el patógeno, el progreso epidémico de la enfermedad (Fig. 2) y su posterior valoración mediante el ABCPES (Tabla 1), estableció diferencias significativas entre los tratamientos. Esto sugiere que la inoculación con *R. necatrix* es conveniente realizarla en plantas de más edad, a la vez que mantener una población activa del antagonista con aplicaciones continuadas del patógeno para poder diferenciar la efectividad de los aislados de *Trichoderma* ensayados como agentes de control biológico.

Los aislados de *Trichoderma* que ejercieron un mejor control sobre la enfermedad fueron CH 255 y CH 316, presentándose ambos con todas las plantas sanas, el CH 303 presentó un 30% de plantas muertas y el resto de los aislados más 30% de plantas muertas y no diferenciándose significativamente con el testigo inoculado con el patógeno (Tabla 1).

Los resultados obtenidos en cuanto a la cuantificación del antagonista en suelo a lo largo del primer experimento analizados por el ABCPES, pusieron de manifiesto que los tratamientos con los aislados CH 314 y CH 255 presentaron los mayores niveles de población en suelo. Para el segundo experimento se presentaron con mayores niveles de población en suelo, el CH 218.

Aunque todos los aislados de *Trichoderma* ensayados fueron capaces de colonizar el rizoplasma, de las plantas inoculadas, sus niveles en él fueron muy diferentes. El aislado CH 218 presentó el más alto nivel y en segundo lugar el CH 255 para el primer experimento. En el segundo se presentaron como máximos CH 218, CH 314, CH 304, CH 300.

En el tratamiento con el aislado CH 255, su nivel en suelo descendió en el primer experimento desde  $379 \times 10^5$ , hasta  $149 \times 10^5$  ufc/g de suelo cuando se inoculó el suelo. Presentó uno de los niveles más altos en el rizoplasma del orden de  $10317$  ufc/g de raíz. En el segundo experimento en el cual este aislado ejerció un total control de la enfermedad su nivel en suelo descendió desde  $383 \times 10^5$  hasta  $41 \times 10^5$  ufc/g de suelo cuando se inoculó el suelo con el patógeno, quizás como un resultado de control de la enfermedad y su nivel en el rizoplasma fue bajo con respecto al testigo y del orden de  $1824$  ufc/g de raíz.

En estos experimentos no se ha podido obtener una correlación entre la posible acción antagonista de algunos aislados como el CH 255 y CH 316 en el control de la enfermedad y sus niveles de población en el suelo o en el rizoplasma. Es de interés destacar el alto nivel de propágulos del aislado CH 218 tanto en suelo inoculado como no inoculado y en el rizoplasma, aunque no consiguió controlar la enfermedad, quizás por su falta de capacidad antagonista, aunque sus niveles de población fueron los más elevados.

Debido a la gran capacidad de colonización del suelo y rizoplasma, así como su capacidad de control en el desarrollo de la enfermedad, podemos pues considerar principalmente al aislado CH 255 y en un segundo lugar al CH 316, procedentes ambos de árboles escape a la enfermedad, como potenciales antagonistas en el control de la PB del aguacate. Éstos serían susceptibles de ser utilizados, como aislados monoconídicos para evitar su esperada variabilidad en su acción antagonista, y también sería conveniente la utilización de combinaciones de aislados de probada efectividad para potenciar su efecto antagonista sobre el patógeno (Lorito *et al.*, 1996).

## BIBLIOGRAFÍA

- ASKEW DJ, LAING, MD 1993. An Adapted Selective Medium for the Quantitative Isolation of *Trichoderma* Species. *Plant Pathology* 42: 686-690
- FREEMAN S, SZTEJNBERG A, CHET I 1986. Evaluation of *Trichoderma* as a biocontrol agent of *Rosellinia necatrix*. *Plant and Soil* 94: 163-170.
- LÓPEZ-HERRERA CJ 1989. Podredumbres radiculares del aguacate en la Costa del Sol. Años 1987-88. En *Estudios de Fitopatología* (J. del Moral, ed.): 172-176. SEF/DGIEA, Badajoz.
- LÓPEZ-HERRERA CJ, GARCÍA-VERDUGO JC, PÉREZ-JIMÉNEZ RM 1992. Un nuevo método de inoculación de plántulas de aguacate. En *resúmenes del VI Congreso Latinoamericano de Fitopatología*, 30.
- LÓPEZ-HERRERA CJ, PÉREZ-JIMÉNEZ RM, BASALLOTE-UREBA MJ, ZEA-BONILLA T, MELERO-VARA JM 1998. Soil solarization in established avocado trees for *Dematophora necatrix*. *Plant Disease* 82: 1088-1092
- LORITO M, WOO SL, D'AMBROSIO M, HARMAN GE, HAYES CK, KUBICEK CP AND SCALA F 1996 Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrane affecting compounds. *Mol. Plant Microb. Intervt.* 9: 206-213.
- MELO IS, FAULL JL, GRAEME-COOK KA 1997. Relationship between *in vitro* cellulase production of uv-induced mutants of *Trichoderma harzianum* and their bean rhizosphere competence. *Mycological Research* 101: 1389-1392
- PLIEGO-ALFARO F 1988. Development of an *in vitro* rooting bioassay using juvenile-phase stem cuttings of *Persea americana* Mill. *Journal of Horticultural Science*, 63 (2): 295-301.
- SZTEJNBERG A, MADAR Z 1980. Host range of *Dematophora necatrix*, the cause of white root rot disease in fruit trees. *Plant Disease* 64: 662-664

**Tabla 1.** Área bajo la curva de progreso epidémico estandarizada (ABCPES) para los diferentes aislados de *Trichoderma* sp. ensayados.

Aislado	Experimento 1	Experimento 2
CH 218	25,69	2,32 cba*
CH 255	21,74	0,00 a
CH 256	12,60	2,39 cba
CH 300	20,37	1,21 ba
CH 303	17,38	1,06 a
CH 304	15,94	2,26 cba
CH 314	21,45	3,96 c
CH 316	23,69	0,00 a
CONTROL	13,58	3,65 cb

\* Números seguidos de la misma letra no se diferencian significativamente al nivel de probabilidad ( $P > 0.05$ ) según el test de la mínima diferencia significativa

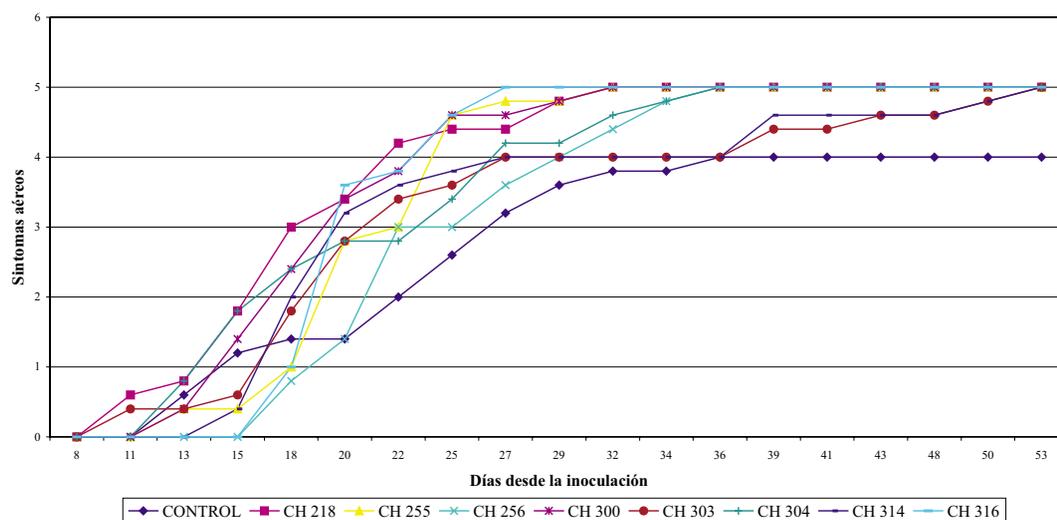


Fig. 1. Evolución de síntomas aéreos en plantas inoculadas. Experimento 1

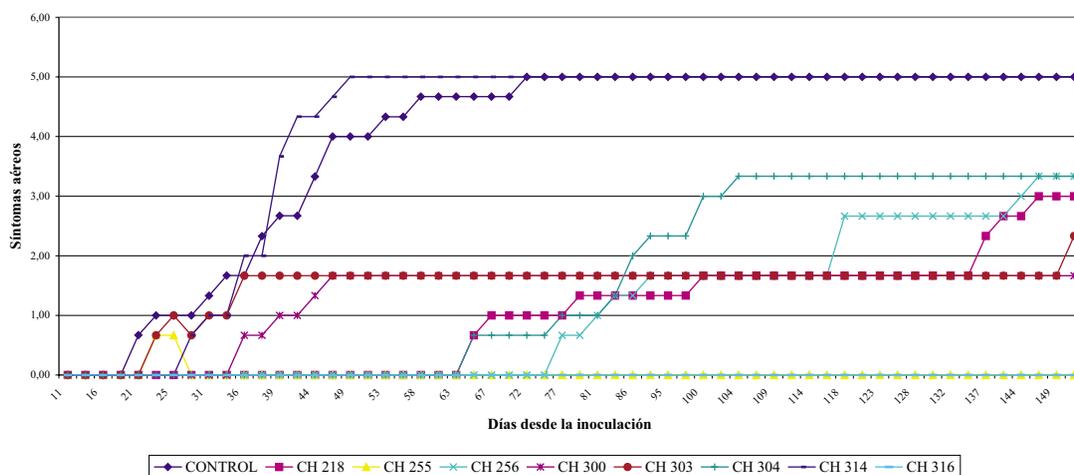


Fig. 2. Evolución de síntomas aéreos en plantas inoculadas. Experimento 2