

## ALELOPATÍA Y SUSTANCIAS BIOACTIVAS

# Efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Plasmodiophora brassicae* Woronin, en brócoli, en la localidad de Escagüey, municipio Rangel, estado Mérida Effects of *Trichoderma harzianum* Rifai over *Plasmodiophora brassicae* Woronin in broccoli, in Escagüey, municipality of Rangel, Mérida state

Mirna Labrador Morales<sup>1</sup>, Elio M. del Pozo Núñez<sup>2</sup>, Irma García Cruz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas Mérida, Av Urdaneta, Mérida 5101, Venezuela. C.P. 97454

<sup>2</sup> Universidad Agraria de la Habana, Autopista Nacional km 23½, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. C.P. 32700

E-mail: epozo@isch.edu.cu; mirnalabrador@yahoo.es

**RESUMEN.** El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Plasmodiophora brassicae* Woronin, en brócoli, en la localidad de Escagüey, del municipio Rangel, en el Estado Mérida, Venezuela. Se determinó la efectividad técnica y económica de las aplicaciones del antagonista, en diferentes dosis, en condiciones de campo. Las aplicaciones de un biopreparado a base del antagonista resultaron efectivas en la regulación de *P. brassicae*, manifestado en un efecto positivo sobre el porcentaje de plantas sanas y los rendimientos estimados del cultivo, en un grado que dependió de la dosis utilizada. Los indicadores económicos obtenidos con las aplicaciones del hongo resultaron favorables, con una relación beneficio/costo cuyo valor estuvo en dependencia de la dosis en que se aplicó el mismo. Los resultados obtenidos demostraron que para las condiciones donde se realizó el ensayo se puede disponer de una alternativa biológica, no agresiva al medio ambiente y la salud del hombre, que puede ser de utilidad en la fase de transición hacia una agricultura sostenible al sustituir a los productos químicos.

**Palabras clave:** brócoli, *Trichoderma harzianum*; *Plasmodiophora brassicae*.

**ABSTRACT.** The effectiveness of *Trichoderma harzianum* in suppressing clubroot of brassicas, which is caused by *Plasmodiophora brassicae*, was tested on broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck), in field conditions, in Escagüey, municipality of Rangel, Merida State, Venezuela. The experiment showed that the applications of a biopesticide based on this antagonist had a significant effect on the percentage of health plants and the crop yields, in dependence of the dose used. In addition, the relation benefits/cost was also favorable. These results showed that, for these particular conditions, *P. brassicae* is an adequate biological alternative to control the clubroot of brassicas, no aggressive to environment and human beings, useful for the transition phase toward a sustainable agriculture, without chemical pesticides.

**Key words:** broccoli, *Trichoderma harzianum*, *Plasmodiophora brassicae*.

## INTRODUCCIÓN

Dentro de las hortalizas, el brócoli constituye una de las especies cuya producción y consumo se ha incrementado más en las últimas décadas (USDA, 2011). Actualmente, es ampliamente cultivada en Europa, Norteamérica, parte de América Central y América del Sur, así como el este de Asia y Australia. (CAB International, 2007)

Una de las enfermedades más dañinas al cultivo es la conocida como “hernia de las crucíferas”, producida por el protozoo *Plasmodiophora brassicae* Woronin, cuyas pérdidas son considerables, llegando a ser casi totales cuando no se maneja adecuadamente. Ataca a las crucíferas

en general, y se presenta en cualquier región del mundo donde se cultivan estas especies (Dixon, 2009; Faggian y Strelkov, 2009; Cuevas y Bul-long, 2009; Rashid *et al.*, 2013). García *et al.* (2005) informaron de su incidencia, distribución y alta virulencia en cultivos de importancia de la región andina venezolana.

Teniendo en cuenta la ineficacia de las medidas que tradicionalmente se han utilizado contra esta enfermedad, en los últimos años se han venido explorando diversas alternativas, dentro de las cuales el control biológico con antagonistas, ha resultado de las más promisorias. En ese sentido, se han

desarrollado investigaciones con diversos microorganismos, como bacterias y hongos (Cheah et al., 2000; Choi et al., 2007; Jäschke et al., 2010). Entre las especies probadas, en experimentos de laboratorio y de campo, se ha destacado por su efectividad el hongo antagonista *Trichoderma harzianum* Rifai (Cheah et al., 2000; Wang et al., 2011; Timila, 2011; Castillo y Guerrero, 2012;), un microorganismo que ha sido ampliamente utilizado contra diversos patógenos vegetales en todo el mundo (Verma et al., 2007). En Venezuela, incluyendo el

estado de Mérida, *T. harzianum* ha sido evaluado contra diversas enfermedades fungosas (García et al., 2008, 2010). No obstante, aún es insuficiente la información disponible, y no existe para el caso del control de *P. brassicae* en el cultivo del brócoli.

Teniendo en cuenta lo anterior se propuso la realización del presente trabajo, con el objetivo de evaluar el efecto de *T. harzianum* sobre *P. brassicae* en brócoli en la localidad de Escagüey, del municipio Rangel, en el Estado Mérida.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en una Unidad de Producción ubicada en la Carretera Trasandina Sector de Escagüey del Municipio Rangel, estado Mérida, Venezuela, donde la temperatura promedio anual es de 16°C, las precipitaciones de 1000 mm y la humedad relativa de 49%. La altitud es de 2 249 msnm, con una latitud de 8° 40' N y una longitud de 71° 5' W.

Para el establecimiento y conducción del cultivo se procedió de la forma tradicional para la región y se utilizaron plántulas de brócoli del híbrido Panther F<sub>1</sub>, de 22 días de edad. La distancia de siembra fue de 40 cm entre surcos y 40 cm entre plantas. El producto biológico utilizado, basado en *T. harzianum*, se obtuvo del INIA-Mérida, con una concentración de 1 x 10<sup>12</sup> UFC en 150 g, con una pureza de 100% y viabilidad de conidios de 95% (García et al., 2006). Antes de ser plantadas, las plántulas fueron sumergidas durante 5 min. en una suspensión de conidios del hongo con una concentración de 4 x 10<sup>7</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>.

Los tratamientos utilizados en el ensayo fueron los siguientes:

Tratamiento 1: 2,53 x 10<sup>8</sup> UFC.m<sup>-2</sup>.

Tratamiento 2: 5,16 x 10<sup>8</sup> UFC.m<sup>-2</sup>.

Tratamiento 3: 7,81 x 10<sup>8</sup> UFC.m<sup>-2</sup>.

Tratamiento Control: sin la utilización de *Trichoderma* u otro producto para el control de la enfermedad.

Las aplicaciones, realizadas con una asperjadora manual, comenzaron inmediatamente después de la siembra y se repitieron cada 15 días, hasta el momento de la cosecha (90 días)

El ensayo se montó según un diseño de bloques al

azar con cuatro réplicas. Cada unidad experimental estuvo constituida por una parcela con 200 plantas, o sea, 800 plantas para cada tratamiento y 3 200 para todo el ensayo.

Las evaluaciones se realizaron en el momento de la cosecha, tomando al azar 50 plantas por unidad experimental, a las cuales se midió, separadamente, con la ayuda de una regla de 30 cm, el tamaño de la "hernia", para su clasificación según la siguiente escala:

Grado 0..... No hay Agallas

Grado 1..... Agallas incipientes, tamaño 1-2 cm

Grado 2..... Agallas de tamaño 2-5 cm

Grado 3..... Agallas de tamaño >5cm

Además, se determinó la masa de las inflorescencias (g) para lo cual se utilizó una balanza marca METTLE BB240, de 5000 g. A partir de lo anterior se calculó el porcentaje de plantas sanas y se estimó el rendimiento total y el de inflorescencias comercializables.

Los datos del ensayo fueron sometidos a un análisis de varianza de clasificación doble, y las medias fueron comparadas mediante la Prueba de Tukey al 5% (SAS Institute, 2004). En el caso de los datos del porcentaje de plantas sanas se transformaron previamente, según la expresión  $\arcsen(p)^{1/2}$

Teniendo como base los rendimientos del cultivo (comercializable), así como los costos de producción y los precios de venta establecidos en la ficha técnica (MAT, 2010), se calculó el valor de la producción en Bolívares (BsF.ha<sup>-1</sup>), el costo de producción (BsF.ha<sup>-1</sup>), la ganancia neta (BsF.ha<sup>-1</sup>) y la relación costo/beneficio para cada una de las variantes en estudio.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La distribución de las plantas en los grados de la escala fue diferente en los distintos tratamientos (Figura 1). Como puede apreciarse, el efecto se debió no solo a la aplicación o no de *Trichoderma*, sino también a la dosis en que este fue aplicado.

En la variante donde no se aplicó el antagonista ni alguna otra medida para el control de *P. brassicae* se observaron los mayores porcentajes de plantas en los grados más altos de la escala. Por el contrario, en los tratamientos con el hongo, los porcentajes más altos de plantas correspondieron a los grados bajos de la escala, lo cual fue más marcado en la medida que se aplicó una dosis más alta.

Lo anterior corrobora los informes sobre la efectividad de especies del género *Trichoderma*

como antagonista de los patógenos vegetales (Verma *et al.*, 2007), fundamentalmente sobre aquellos que viven en el suelo, tales como *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Fusarium*, *Plasmodiophora* y *Phytophthora*. (García *et al.*, 2008, 2010)

Específicamente, para el caso de *P. brassicae*, se corroboraron los informes de Cheah *et al.* (2000), quienes, al aplicar *Trichoderma*, lograron reducir la severidad de la enfermedad sobre el sistema radical de la planta, mientras que García *et al.* (2005) encontraron que los tratamientos que contenían *Trichoderma* lograron disminuir la incidencia de la hernia en el cultivo de la acelga “Pack Choi”, donde el 20% de las plantas fueron afectadas por la enfermedad con una alta intensidad, perdiendo las macollas su valor por la reducción en el tamaño.

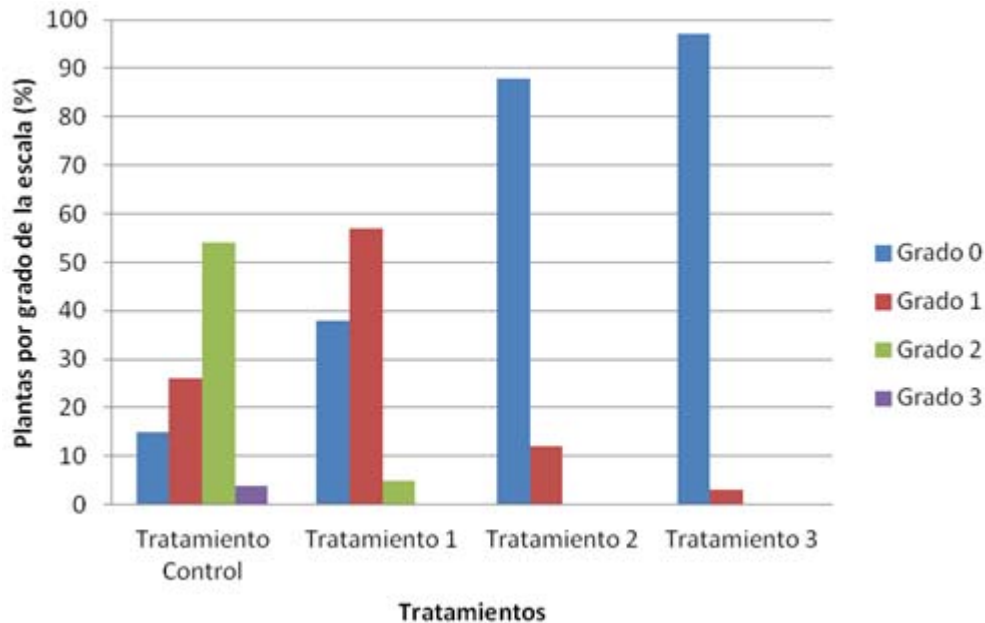


Figura. Distribución de las plantas muestreadas en los grados de la escala, en los distintos tratamientos

Con relación al efecto de la dosis en el control del patógeno, se corrobora lo señalado por diversos autores en cuanto a la importancia de este factor (Verma *et al.*, 2007; Reyes, 2011). Hay que tener en cuenta que la distribución de los patógenos del suelo hay que referirla a un volumen determinado, y no a una superficie, como pudiera ser el caso de los patógenos que se encuentran en el follaje de la planta. En la Tabla 1 se muestran los resultados referidos a las plantas sanas, libres de síntomas y signos de la enfermedad, en los distintos tratamientos. Como puede apreciarse, todos los tratamientos difirieron entre sí, correspondiendo el mayor porcentaje de plantas sanas a las dosis más altas del antagonista,

siendo bajo el valor obtenido en el control donde no se aplicó el biopreparado. Lo anterior ratifica la importancia de la dosis de aplicación cuando se trabaja con biopreparados basados en este antagonista en tratamientos al suelo. (Reyes, 2011)

Por otro lado, el bajo porcentaje de plantas sanas en el control, hace evidente que es prácticamente imposible cultivar el brócoli en las condiciones agroclimáticas donde se desarrolló este trabajo, si no se dispone de alguna alternativa para el control de *P. brassicae*, lo cual ratifica los criterios de diversos autores sobre los daños que este patógeno produce en las crucíferas en diversas regiones del

mundo, causando entre un 70 a 80% de pérdidas en los rendimientos. (Castillo y Guerrero, 2012)

Los análisis de varianza realizados a los datos del rendimiento total y del rendimiento en inflorescencias comercializables mostraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos. En la tabla 2 se muestran los resultados de las dos variables evaluadas.

En el caso del rendimiento total, los valores mayores correspondieron a los tratamientos 2 y 3, que no difirieron estadísticamente entre sí, aunque sí lo hicieron con relación al tratamiento 1 y el tratamiento control, los cuales también difirieron entre ellos. Con relación al rendimiento de inflorescencias comercializables, los resultados fueron evidentemente superiores en los tratamientos donde se utilizó el antagonista. Aquí, igualmente, los tratamientos 2 y 3, cuyas medias resultaron iguales a las del rendimiento total, no difirieron entre ellos, aunque sí lo hicieron con relación a los tratamientos 0 y 1, que también difirieron entre sí.

**Tabla 1. Plantas sanas en los distintos tratamientos con *T. harzianum***

Tratamientos	X originales (%)	X transf.
Tratamiento Control	15,50	0,40d
Tratamiento 1	38,00	0,66c
Tratamiento 2	87,50	1,21b
Tratamiento 3	98,00	1,43a
C.V. (%)		9,74
ES±x		0,045

Medias con letras iguales no difieren significativamente, según Tukey ( $p \leq 0.05$ )

**Tabla 2. Estimado del rendimiento del cultivo en los tratamientos con *T. harzianum***

Tratamientos	Rendimiento total (t.ha <sup>-1</sup> )	Rendimiento comercializable (t.ha <sup>-1</sup> )
Tratamiento Control	11,30c	9,49c
Tratamiento 1	21,78b	21,58b
Tratamiento 2	27,85a	27,85a
Tratamiento 3	28,94a	28,94a
C.V. (%)	5,07	5,57
ES±x	0,57	0,61

Medias con letras iguales, dentro de cada columna, no difieren significativamente según Tukey ( $p \leq 0.05$ )

Es de señalar que con las aplicaciones a las dos dosis superiores, se obtuvieron rendimientos superiores a las 24 t.ha<sup>-1</sup> señaladas en la ficha de costo del cultivo para la región. (MAT, 2010)

Los indicadores técnico-económicos estimados a partir del experimento realizado en el año 2010 (tabla 3), en comparación con la ficha técnica del cultivo del brócoli para estas condiciones (MAT, 2010). En todas las variantes utilizadas se obtuvo una relación beneficio/costo favorable. El ordenamiento, en orden descendente, de los tratamientos de acuerdo al valor de la relación beneficio/costo, fue: tratamiento 3, tratamiento 2, tratamiento 1 y tratamiento Control.

En los tratamientos 2 y 3 la relación beneficio/costo fue superior a lo estimado en la ficha técnica del

cultivo, y fue inferior en los tratamientos 1 y 0. El mejor resultado fue el que se logró con el tratamiento 3, la mayor dosis de aplicación.

Con estos resultados se demostró que las variantes evaluadas, no solo logran reducir las afectaciones al cultivo del brócoli por *P. brassicae*, en las condiciones del municipio Escagüey, Estado Mérida, sino que permiten el logro de producciones de calidad, con altos rendimientos e indicadores económicos favorables, superiores a los previstos en la ficha técnica del cultivo. Resultados similares han sido informados por Reyes (2011), al evaluar el uso de *T. harzianum* contra *R. solani*, en arroz.

Los resultados obtenidos demostraron que para las condiciones donde se realizó el ensayo, se puede disponer de una alternativa biológica, no agresiva



al medio ambiente y la salud del hombre, que puede ser de utilidad en la fase de transición hacia una agricultura sostenible, sustituyendo a los productos químicos.

**Tabla 3. Valoración económica estimada en los distintos tratamientos con *T. harzianum***

Tratamiento	Rendimiento (t.ha <sup>-1</sup> )	Valor de la producción (BsF.ha <sup>-1</sup> )	Costo de producción (BsF.ha <sup>-1</sup> )	Ganancia (BsF.ha <sup>-1</sup> )	Relación Beneficio/Costo
Tratamiento Control	9,49	37980,00	18405,32	19554,68	1,06
Tratamiento 1	21,58	86320,00	18529,29	67790,71	3,66
Tratamiento 2	27,85	111400,00	18658,16	92741,84	4,97
Tratamiento 3	28,94	115760,00	18788,01	96971,99	5,16
Ficha Técnica	24,00	96000,00	18405,32	77594,68	4,22

## CONCLUSIONES

1. Las aplicaciones de un biopreparado a base del hongo antagonista *Trichoderma harzianum* resultaron efectivas en la regulación de *P. brassicae* en brócoli, manifestado en un efecto positivo sobre el porcentaje de plantas sanas y los rendimientos estimados del cultivo, en un grado que dependió de la dosis utilizada.
2. Los indicadores económicos obtenidos por las aplicaciones de un biopreparado a base de *Trichoderma harzianum* para el control de *P. brassicae* en brócoli, resultaron favorables, con una relación beneficio/costo cuyo valor estuvo en dependencia de la dosis en que se aplicó dicho biopreparado.

## BIBLIOGRAFÍA

1. CAB International: Crop Protection Compendium, Wallingford, UK: CAB International, 2007.
2. Castillo, J.; O. Guerrero: **Efecto de controladores biológicos sobre la hernia de las crucíferas en Tabío, Cundinamarca.** En sitio web: <http://ingenieria.uniminuto.edu/inventum/index.php?option=comcontent&view=article&id=26:efecto-de-controladores-biologicos-sobre-la-hernia-de-las-cruciferas-en-tabio-cundinamarca&catid=11:n5&Itemid=4> (Consultado: 26 de mayo de 2012), 2012.
3. Cheah, L. H.; S. Veerakone.; G. Kent: Biological control of clubroot on cauliflower with *Trichoderma* and *Streptomyces* spp. En: Zydenbos, S. M. (Ed.) New Zealand Plant Protection Vol. 53, New Zealand Plant Protection Volume 53, 2000. Proceedings of a conference, Commodore Hotel, Christchurch, New Zealand, 8-10 August 2000, pp. 18-21..
4. Choi, K.; Y. Yi; S. Lee; K. Kang; E. Lee; S. Hong; J. Young; Y. Park; G.J. Choi; B. J. Kim; Y. Lim: Microorganisms against *Plasmodiophora brassicae*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17(5): 873-877, 2007.
5. Cuevas, V.C.; M. S. Bul-long: Yield, Production Cost and Incidence of Club Root Disease of Crucifers under Soil Fertility Management Practices using Various Combinations of Soil Additives. *The Philippine Agricultural Scientist* 92(4):398-406, 2009.
6. Dixon, G. R.: *Plasmodiophora brassicae* in its Environment. *Journal of Plant Growth Regulation* 28(3): 212-228, 2009.
7. Faggian, R.; S. Strelkov: Detection and Measurement of *Plasmodiophora brassicae*. *Journal of Plant Growth Regulation* 28(3): 282-288, 2009.
8. García, R.; J. Salas; R. Riera: Uso del Antagonista *Trichoderma harzianum* para controlar tres Enfermedades Fungosas del suelo. INIA Divulga 4: 8-14, 2005.
9. García, R.; R. Riera; C. Zambrano; L. Gutiérrez: Desarrollo de un fungicida biológico a base de una cepa del hongo *Trichoderma harzianum* proveniente de la región andina venezolana. *Fitosanidad* 10(2): 115-121, 2006.
10. García, R.; F. González; R. Riera; L. Gutiérrez; R. Mora; J. Zerpa: Validación del uso de *Trichoderma harzianum* (Cepa T12-andina) asociado a otras prácticas para el combate de seis

- Efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Plasmodiophora brassicae* Woronin, en brócoli... Labrador et al., 2014
- enfermedades fungosas en cultivos agrícolas en Mérida. Memorias X Congreso Mundial de *Trichoderma* y *Gliocladium*. San José de Costa Rica, 20–23 de mayo de 2008.
11. García, R.; F. Urbina; F. González; L. Gutiérrez; R. Mora; J. Zerpa; B. Infante: Estrategias de producción e incorporación de *Trichoderma harzianum*, cepa T12-andina, para el manejo de enfermedades fungosas de cultivos agrícolas en comunidades del estado de Mérida, Venezuela. *Fitosanidad* 14(1): 49, 2010.
12. Jäschke, D.; D. Dugassa-Gobena; P. Karlovsky; S. Vidal; J. Ludwig-Müller: Suppression of clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) development in *Arabidopsis thaliana* by the endophytic fungus *Acremonium alternatum*. *Plant Pathology* 59: 100-111, 2010.
13. MAT: Costo de Producción del Cultivo de Brócoli, Mérida, Ministerio de Agricultura y Tierras, Venezuela, 2010.
14. Rashid, A.; H. U. Ahmed; Q. Xiao; S. F. Hwang; S. E. Strelkov: Effects of root exudates and pH on *Plasmodiophora brassicae* resting spore germination and infection of canola (*Brassica napus* L.) root hairs. *Crop Protection* 48(1): 16-23, 2013.
15. Reyes, Y. Aislamientos de *Trichoderma* promisorios para el control del tizón de la vaina *Rhizoctonia solani* (K.) en arroz. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Agraria de la Habana, Cuba, 2011.
16. Timila, R. D.: Evaluation of some *Trichoderma* spp. for clubroot disease management. *Nepal Agriculture Research Journal* 11: 97-102, 2011.
17. USDA: US Broccoli Statistics. Economic, Statistics, and Market Information System. Economic Research Service, United States Department of Agriculture. En sitio web: <http://usda.mannlib.cornell.edu/MannUsda/viewDocumentInfo.do?documentID=1816> (Consultado: 24 de enero de 2012), 2011.
18. Verma, M.; S.K. Brar; R.D. Tyagi; R.Y. Surampalli; J.R. Valero: Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal* 37: 1-20, 2007.
19. Wang, J.; Y. Huang; Y. Peng; L. Zhao; H. Xiong; Y. Yun Qin: Suppression of clubroot on Chinese cabbage and oilseed rape by *Trichoderma* spp. in China. *Advances in Biomedical Engineering* (1-2):56.58, 2011.

Recibido:21 /05 /2013

Aceptado: 17/02 /2014