

SELECCIÓN DE AISLAMIENTOS DE *Trichoderma* spp. CANDIDATOS A BIOFUNGICIDAS PARA EL CONTROL DE *Rhizoctonia* sp. EN ARROZ

B. Martínez*, Yusimy Reyes**, Danay Infante*, E. González*, Heyker Baños* y A. Cruz***

*Dpto. Fitopatología, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana. Cuba. Correo electrónico: bmcoca@censa.edu.cu; **Dpto. Biología y Sanidad Vegetal, Universidad Agraria de la Habana (UNAH), San José de las Lajas, La Habana, Cuba. ***Estación Experimental de Arroz, Los Palacios, Pinar del Río, CP22900, Cuba

RESUMEN: El Tizón de la Vaina, causado por el hongo *Rhizoctonia solani* Kühn, es considerada la segunda enfermedad de importancia en el cultivo del arroz, en Cuba y el mundo. La potencialidad de aislados del género *Trichoderma* como antagonista de patógenos del suelo es reconocida y muestra resultados positivos sobre *R. solani*. El presente trabajo tiene como objetivo seleccionar los aislamientos de *Trichoderma* spp. más promisorios en dependencia de su antagonismo *in vitro* y su eficacia en condiciones semicontroladas y de campo, para el biocontrol de *Rhizoctonia* sp. El antagonismo se evaluó por el método del cultivo dual, donde se observó la competencia por el sustrato, micoparasitismo y la antibiosis. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) a las 72 horas y los aislados que presentaron más de un 60 PICR y al menos dos tipos de interacción hifal se seleccionaron para evaluar su eficacia técnica (ET) sobre el patógeno en condiciones semicontroladas. Los aislamientos con una ET superior al 80% fueron seleccionados para ser evaluados en canteros tecnificados en campo. Los resultados mostraron que el 98,31% de los aislados presentaron alta capacidad antagonica, con diferentes tipos de interacción hifal como lisis, vacuolización, enrollamiento y penetración, de los que fueron seleccionados once. De ellos siete mostraron una ET superior al 80% en condiciones semicontroladas. Como promisorios para el control de la enfermedad en campo se destacaron los aislamientos 17, 75 y 78 con una ET superior al 90%.

(Palabras clave: *Rhizoctonia* sp.; *Trichoderma*; antagonismo; interacción hifal; antibiosis)

SELECTION OF *Trichoderma* spp. ISOLATE CANDIDATES TO BIOFUNGICIDES FOR THE CONTROL OF *Rhizoctonia* sp. ON RICE

ABSTRACT: Sheath blight, caused by *Rhizoctonia solani* Kühn is considered the second important disease on rice in Cuba and the world. *Trichoderma* potentiality as antagonist of soil pathogen is recognized with positive results on *R. solani*. The present work had as objective to select the best *Trichoderma* isolates according to their *in vitro* antagonism and efficacy in the control of *Rhizoctonia* sp. in greenhouse and in the field. Antagonism was evaluated by the dual culture method, where the competition by the substrate, mycoparasitism and antibiosis were observed. The inhibition percentage of radial growth (IPRG) was calculated at 72 hours. The isolates with more than 60 PICR and at least two types of hyphal interaction were selected for being tested under greenhouse conditions, where the selection criterion was the technical efficacy (TE) under these conditions. Isolates with a TE higher than 80% were selected for field screening. The results showed that the 98,31% of the isolates had high antagonist capacity. They presented several hyphal interaction types such as lyses, vacuolization, coiling and penetration. Eleven *Trichoderma* isolates were selected *in vitro*. Of them, seven showed a TE higher than 80% in greenhouse. As promissories for the disease control in the field, isolates: 17, 75 and 78 with a TE higher than 90% were those highlighted under these conditions.

(Key words: *Rhizoctonia* sp.; *Trichoderma*; antagonism; hyphal interaction; antibiosis)

INTRODUCCIÓN

El arroz constituye en Cuba un producto básico de la canasta familiar y se produce aproximadamente menos del 50% del consumo anual. Por esta razón, es necesaria la importación de este rubro para abastecer a la población con dicho grano y es un objetivo de los agricultores obtener una mayor producción, con mayor productividad y eficiencia económica (1).

Una de las causas que afecta el incremento de la producción de arroz en Cuba y el mundo es la incidencia de enfermedades, destacándose en los últimos años el Tizón de la Vaina o Mancha Oriental (*Rhizoctonia solani*). Este incremento de la enfermedad ha conllevado a la disminución paulatina de los rendimientos entre un 20-40% (1,2).

Se considera que la enfermedad seguirá en ascenso, producto del efecto acumulativo del hongo a través de los esclerocios (3), los cuales pueden permanecer en el suelo por largo tiempo, y por no establecerse un control eficiente de los mismos. Esto se ha demostrado en el tiempo, a pesar de una mayor aplicación de químicos (1). Es por esto que la búsqueda de agentes de control biológico que puedan disminuir la carga inicial infectiva del hongo e incorporarse al manejo de la enfermedad, constituye un reto y una vía más para disminuir las pérdidas y la contaminación ambiental. El objetivo de este trabajo fue seleccionar aislamientos del género *Trichoderma* eficientes como biorreguladores de *Rhizoctonia* sp.

MATERIALES Y MÉTODOS

Evaluación *in vitro* del efecto antagónico de aislados de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp.

Se probó el efecto antagónico de 59 aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre el aislamiento (304-11) de *Rhizoctonia* sp. de siete y diez días de edad respectivamente, pertenecientes al cepario del Laboratorio de Micología Vegetal del CENSA, siguiendo el método descrito para el cultivo dual (4) en medio Papa Dextrosa Agar (Biocen) 39 g.L⁻¹ (PDA), con este método se evaluó la competencia por el sustrato, la interacción hifal (micoparasitismo) y la antibiosis.

Competencia por el sustrato

Para evaluar la competencia por el sustrato se utilizó la Escala de Clase de 5 grados planteada por Bell *et al.* (5). A las 72 horas se evaluó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), mediante la fórmula de Samaniego *et al.* (1989) citada por Bernal *et al.* (6). $PICR = [(R1-R2)/R1] \times 100$. Donde R1 es el crecimiento radial del testigo y R2 el crecimiento radial del patógeno en los tratamientos.

Micoparasitismo

Se analizaron tres muestras por tratamiento (*Trichoderma* - *Rhizoctonia*) del sitio de contacto entre los dos hongos para determinar el tipo o tipos de interacción hifal (penetración, vacuolización, lisis y/o enrollamiento) observados al microscopio óptico con aumento de 400x.

Antibiosis

Para la comprobación del efecto antibiótico de los aislamientos de *Trichoderma* spp. se evaluó el PICR en cultivo dual a las 24 horas (momento donde no existía contacto físico entre el antagonista y el patógeno en estudio), así como a las 48 y 72 h.

El experimento se realizó con un diseño completamente aleatorizado, con cinco repeticiones por variante. Los datos fueron procesados por el paquete estadístico SPSS.11.5, aplicando un análisis de conglomerados (método de Ward y distancia euclidiana cuadrada) empleando como variable el PICR a las 24 horas.

Eficacia del antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. en condiciones semicontroladas

El experimento se realizó en las casas de malla del CENSA, en bandejas de acero inoxidable (0,30 m² de área), con suelo Ferralítico Rojo Típico estéril (pH 8,27). Primeramente se realizó la inoculación del suelo con esclerocios y micelio del patógeno, crecido sobre PDA (10-12 días de edad); a una concentración de $2,8 \times 10^4$ esclerocios.m²⁻¹ en agua destilada estéril, aplicándose homogéneamente con una probeta graduada. Siete días después se realizó la inoculación del antagonista, obtenido de una colonia de siete días de edad en medio PDA, a una concentración de 10^7 c.mL⁻¹ en agua destilada estéril, (250mL por réplica). A los 15 días de realizada la inoculación de este último se sembraron semillas de arroz de la variedad Perla susceptible al Tizón de la Vaina, a una densidad de siembra de 150g.m²⁻¹ (7). A los 15 días de brotadas las plántulas se anegaron las bandejas hasta el momento de la evaluación.

Se evaluaron 11 aislamientos de *Trichoderma* en dos campañas diferentes del cultivo, tres en julio-noviembre de 2003 (30-56-78) y ocho en julio-noviembre de 2004 (11-14-16-17-27-32-75-81). En ambos casos se dejó un testigo de *Rhizoctonia* sp. y un testigo absoluto sin inocular el patógeno, ni el antagonista. Se realizaron cuatro réplicas por tratamiento y la evaluación se ejecutó a los 90 días en la fase de embuchamiento - emergencia de la panícula, evaluando 25 plantas por réplica, teniendo en cuenta: la manifestación de los síntomas de la enfermedad y la formación de esclerocios en las lesiones.

Se calculó la eficacia técnica de los aislamientos por la fórmula de Abbott (8).

El experimento se realizó bajo un diseño completamente aleatorizado. Los datos en por ciento fueron transformados mediante la expresión $2\arcsin\sqrt{p}$, y procesados por el paquete estadístico SPSS.11.5, aplicando un análisis de varianza simple, las medias se compararon según la prueba de rangos múltiples de Duncan.

Evaluación de la eficacia de *Trichoderma* spp. sobre el Tizón de la Vaina en canteros en condiciones de campo

El experimento se realizó en la Estación Experimental "Los Palacios" del Instituto Nacional de Ciencias Agrícola (INCA), Pinar del Río en canteros tecnificados con un área de 0,90 m², con un suelo Amarillento Lixiviado. Las aplicaciones, concentraciones del patógeno y antagonista se realizaron como en el experimento en condiciones semicontroladas. Los canteros se mantuvieron húmedos; el trasplante de las posturas de arroz var. Perla de 20 días de edad se realizó 15 días después de la inoculación del antagonista, a una distancia de plantación de 0,15x0,15 m (7), manteniendo una lámina de agua estable hasta el momento de la evaluación.

Se montaron nueve tratamientos con tres réplicas, siete aislados de *Trichoderma* [17-27-32-56-75-78-81], un testigo de *Rhizoctonia* sp. y un testigo absoluto sin inoculación, durante el período de febrero a junio de 2005. La evaluación se realizó a los 110 y 150 días, seleccionando al azar tres macollas por réplicas y evaluando todas sus plantas, teniendo en cuenta los indicadores evaluados en condiciones semicontroladas:

La eficacia técnica de los aislamientos se calculó por la fórmula de Abbott (8) a los 110 días (Cantero.1) y a los 150 días (Cantero 2)

El experimento se realizó con un diseño completamente aleatorizado. Los datos en por ciento se transformaron mediante la expresión $2\arcsin\sqrt{p}$ y procesados por el paquete estadístico SPSS.11.5, aplicando un análisis de varianza simple, y las medias se compararon según la prueba de rangos múltiples de Duncan.

RESULTADOS

Evaluación *in vitro* del efecto antagónico de aislados de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp.

Competencia por el sustrato

El 81,35 % de los aislados en estudio se ubicaron en los grados 1 y 2 de la Escala de Bell *et al.* (5) a los tres días de evaluados (Fig. 1), lo que expresa el gran

potencial de competencia que presenta *Trichoderma* dado fundamentalmente por su velocidad de crecimiento que es superior a la del patógeno, y oscila en este caso, entre 0,15 mm.h⁻¹ a 0,79 mm.h⁻¹ en cultivo dual en la totalidad de los aislados evaluados. El testigo de *Rhizoctonia* alcanzó su máximo crecimiento a los cuatro días, iniciando la formación de esclerocios a partir de las 72 horas, completando el crecimiento micelial de la placa Petri después de los siete días.

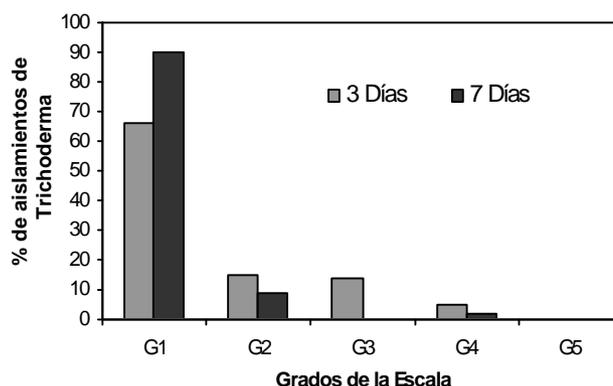


FIGURA 1. Capacidad antagónica de 59 aislados de *Trichoderma* en cultivo dual con *Rhizoctonia*. / *Antagonic capacity of 59 Trichoderma isolates in dual culture with Rhizoctonia.*

El menor número de aislamientos se ubicó en los grados 3 y 4 de la escala, relacionado esto, según Bell *et al.* (5), con una baja capacidad antagónica. En la evaluación a los siete días más del 90% de los aislados se ubicaron en grado 1 y 2 de la escala, excepto un aislamiento que se mantuvo en grado 4. Estos resultados demuestran que, aún cuando los aislados tengan una menor velocidad de crecimiento, mantienen su capacidad de competencia aunque necesiten un tiempo mayor para tener un mismo efecto. En general esto es un aspecto a tener en cuenta para la selección de aislados con mayor potencial para el control de patógenos del suelo.

Bell *et al.* (5) obtuvo resultados similares con más del 65% de diferentes aislados de *Trichoderma* spp. ubicados en el grado 1 frente a *R. solani* AG-2 y más del 85% para *R. solani* AG-3.

Esta capacidad competitiva frente a diferentes patógenos ha hecho que muchos autores consideren las especies de *Trichoderma* excelentes competidores por nutrientes y espacio (6, 9, 10).

El análisis de conglomerados (Fig. 2) de los aislamientos de *Trichoderma* estudiado muestra la formación de dos grupos bien definidos, al hacer un corte a

una distancia de 40, para este tiempo (72 h), el antagonista actúa mayormente sobre el patógeno por efecto de antibiosis y micoparasitismo, pero resultan favorecidos aquellos aislamientos que presentan mayor capacidad para competir por el sustrato. Estos se ubicaron en el **Grupo B** con el mayor PICR.

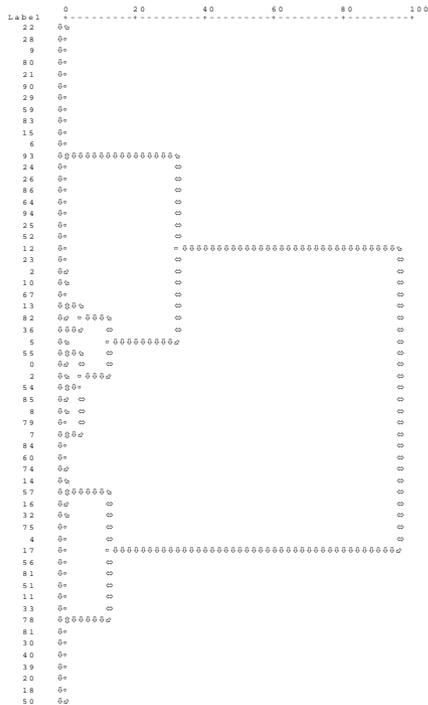


FIGURA 2. Dendrograma del PICR de los aislados de *Trichoderma* spp. en cultivo dual con *Rhizoctonia* sp. a las 72 horas. / *Dendrogram of PICR from Trichoderma* isolates in dual culture with *Rhizoctonia* sp. at 72 hours.

La competencia por el sustrato como modo de acción antagonico en *Trichoderma* es un elemento a considerar, ya que, al colonizar con mayor rapidez la zona de la rizosfera y los espacios de suelo, en general, limita la proliferación del hongo patógeno. En estudios de laboratorio Sandoval *et al.* (11), informaron un elevado nivel de competencia por el sustrato de la cepa A-34 de *Trichoderma harzianum* Rifai respecto a *R. solani*, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *F. oxysporum* Schl., *Sclerotium rolfsii* Sacc. y *Macrophomina phaseoli* (Maubl.) Ashby.

Hernández *et al.* (9) obtuvieron resultados similares con inhibición del crecimiento radial entre un 40-50% de *R. solani* aislada de Piña.

Micoparasitismo

En las observaciones microscópicas la apariencia de las hifas de *Rhizoctonia* en el cultivo dual varía

considerablemente respecto a la del testigo. Con la penetración de hifas de *Trichoderma* en hifas del patógeno, se detectó degradación parcial o total (lisis), enrollamiento o estrangulamiento y vacuolización del contenido citoplasmático.

El 98,31% de los aislamientos en estudio mostraron al menos un tipo de interacción hifal (TIH) con el patógeno. El 74% de los aislados presentaron 2 y 3 tipos de interacción hifal o micoparasitismo (M). Solo el 5% de los aislados mostraron los cuatro tipos de interacción hifal evaluados: lisis (L), vacuolización (V), enrollamiento (E) y penetración (P). La presencia de varios tipos de interacción resulta una característica significativa para la selección de agentes como control biológico. Estos resultados confirman una vez más la potencialidad de *Trichoderma*.

Los modos de interacción hifal en la micoparasitación de *Rhizoctonia* se representaron aparentemente de forma independiente. Se observó un alto por ciento (73%) de vacuolización en los aislados que presentaron un único TIH. Sin embargo, la penetración se presentó combinada con otras interacciones. La combinación más frecuente entre las diferentes formas de interacción hifal fue la lisis y vacuolización (LV) con un 68%. El por ciento de aislados que presentaron tres tipos de interacción hifal: LVM o VME o LVE fue similar, alrededor de 30%.

El micoparasitismo por *Trichoderma*, como un modo de interacción antagonico, se inicia al ser envueltas las hifas del hospedante por las de *Trichoderma* y formar apresorios relacionados con la penetración en la célula del primero. En la mayoría de los casos las paredes celulares son degradadas por enzimas y esto depende más del aislamiento que de la propia especie. El micoparasitismo culmina con la pérdida del contenido citoplasmático de la célula hospedante, donde el citoplasma restante está rodeando a las hifas invasoras, mostrando síntomas de disgregación (12,13). Otros autores han observado micoparasitismo directo y enrollamiento en hifas del patógeno, con deformación, acortamientos e hinchazón celular, además de granulación del citoplasma y desintegración hifal (14). Gonzales (15), al evaluar *Trichoderma viride* Pers, ex Fr. y *Trichoderma* sp. cepa C-66 detectó micoparasitismo sobre aislamientos de *R. solani* procedentes de frijol, con reducción del crecimiento micelial del hongo patógeno.

Antibiosis

Algunos aislados inhibieron el crecimiento lineal del patógeno respecto al testigo, efecto este que se le puede atribuir a la excreción de metabolitos al me-

dio con efectos fungistáticos y por ende limita el crecimiento del patógeno (16).

El análisis de su capacidad de antibiosis (Fig. 3), muestra que los aislamientos de *Trichoderma* estudiados, forman dos grupos bien diferenciados, al hacer un corte a la distancia de 20. En el **Grupo A**, se ubican aquellos aislados que no presentaron ningún efecto antibiótico, como es el caso de los aislados 28, 29, 0, 26, 27, 11, 23 y 9, o fue muy bajo, como manifiestan el resto de los aislados ubicados en este grupo. En el **Grupo B**, se relacionan los aislamientos de *Trichoderma* que presentaron mayor efecto antibiótico, donde se destacan los aislados 40, 59, 78, 52, 60, 74, 82 y 94, con más de 50 PICR. Este comportamiento ha sido atribuido a que *Trichoderma* además de excretar metabolitos con acción fungistática al medio produce antibióticos volátiles que tienen un efecto esencialmente fungistático que debilitan al patógeno y lo hacen más sensible a los antibióticos solubles (16).

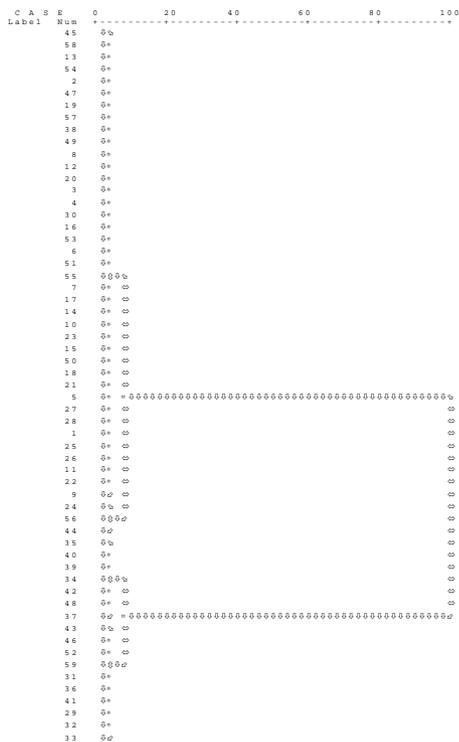


FIGURA 3. Agrupación de aislados de *Trichoderma* spp. por su efecto antibiótico en cultivo dual con *Rhizoctonia* sp. a las 24 horas. / *Aggregation of Trichoderma isolates by their antibiotic effect on Rhizoctonia in dual culture at 24 hours.*

Del análisis integral, entre los 59 aislamientos de *Trichoderma* evaluados, 11 resultaron promisorios, los que mostraron una alta capacidad antagónica al es-

tar ubicados en el grado 1 de la escala de Bell y presentar dos o más tipos de interacción hifal, cualidades relevantes para en el micoparasitismo.

La alta capacidad antagónica de los aislamientos seleccionados se expresa en el PICR, desde las primeras 24 horas (Fig. 4A), donde sobresalen los aislamientos 30, 56 y 78 con una actividad mayor que a las 48 horas. Es posible que en estos casos estén involucrados metabolitos primarios que tengan actividad antifúngica. A las 72 horas (Fig. 4B) coincidiendo con el criterio de selección, los aislados presentaron más del 60 PICR y es a partir de este momento, (24 horas después del enfrentamiento de ambos hongos), que *Trichoderma* spp. creció sobre el patógeno y para algunos aislados del antagonista (11-16-17-27-32- 56-75), comienza a decrecer discretamente la colonia del patógeno en el cultivo dual, lo que se expresa con un incremento en el PICR, que no está dado por la competencia por el espacio de la placa Petri.

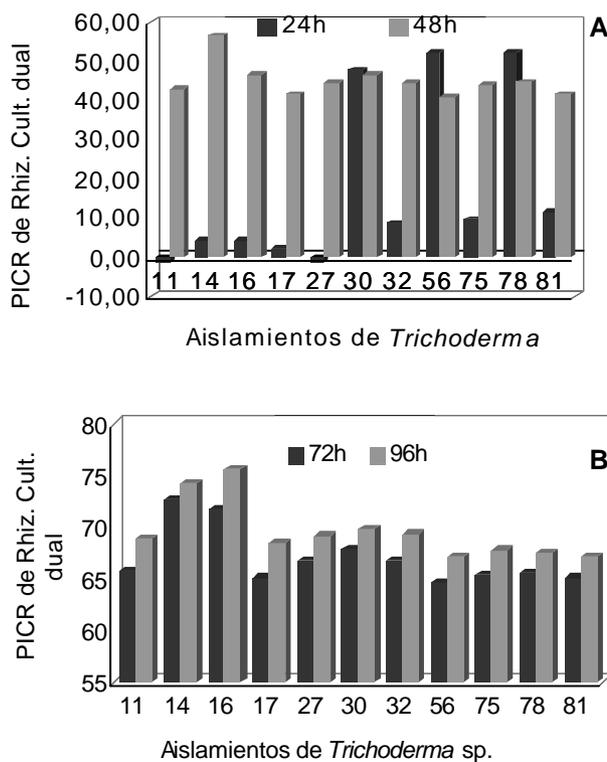


FIGURA 4. Comportamiento de los aislamientos seleccionados de *Trichoderma* sobre el crecimiento de *Rhizoctonia* en cultivo dual. / *Behavior of Trichoderma selected isolates on Rhizoctonia growth in dual culture.*

Estos aislamientos en la evaluación microscópica de la interacción hifal, provocaron lisis en las paredes celulares del patógeno como acción micoparasítica.

Wells (1986) y Chet (1987) citados por Bernal (6), plantean que la invasión total de la colonia del patógeno por *Trichoderma* es la manifestación macroscópica de los procesos de micoparasitismo, siempre y cuando no haya un simple compartimiento del sustrato.

Eficacia del efecto antagónico de *Trichoderma* sobre *Rhizoctonia* en condiciones semicontroladas

Los once aislamientos seleccionados por su manifestación *in vitro* frente al agente causal de la enfermedad, presentaron más de un 50% de eficacia técnica. De estos, resaltan los aislamientos 32, 75, 27, 17 y 16, sin diferir significativamente entre ellos (Tabla 1).

TABLA 1. Eficacia de *Trichoderma* spp. en el control de *Rhizoctonia* en condiciones semicontroladas. / *Efficacy of Trichoderma spp. for Rhizoctonia control under greenhouse conditions*

Aislamientos de <i>Trichoderma</i>	Eficacia técnica Media Original	Eficacia técnica Media Transf.
11	74,49	1,70de
14	76,53	1,82cde
16	88,53	2,26abc
17	92,35	2,39ab
27	91,33	2,30abc
30	69,03	1,54e
32	97,97	2,76a
56	82,84	1,96bcde
75	89,29	2,29abc
78	87,44	2,14bcd
81	86,73	2,14bcd
ESx	3,95*	0,06*
CV	9,11%	20,26%

Medias con letras diferentes difieren significativamente ($p < 0,05$).

Estos resultados son muy alentadores para los ensayos de campo, ya que la presión de inóculo fue elevada ($2,8 \times 10^4$ esclerocios. m^{-2}), la humedad de la bandejas fue superior al 95%, y la literatura plantea que con 1 esclerocio. mm^{-2} en condiciones de humedad (superior al 80%) y temperatura favorables, es suficiente para que se produzca la infección. Otro aspecto importante es que no se observaron esclerocios asociados a los síntomas en la mayoría de los aislados, con excepción del aislado 30. La inhibición o la formación tardía de esclerocios de *Rhizoctonia* pudiera estar dado por la presencia de metabolitos con acción fungistática. Esto ha sido notificado en *M. phaseoli* por Lorenzo (17), con un 30% de inhibición de la producción de esclerocios.

Estos resultados coinciden con los de otros autores que han evaluado las potencialidades de *Trichoderma* en condiciones controladas. Veitia *et al.* (18) para el control de *R. solani* en albahaca obtuvieron una eficacia entre 60 y 90% en bandejas, con diferentes aislamientos de *Trichoderma* a los 45 días. Martínez y Solano (4), evaluaron dos aislamientos de *Trichoderma* sobre *Alternaria solani* Sor. en hojas de tomate, la efectividad del biocontrol estuvo entre 38 y 46%, argumentando que estos resultados son aceptables y se encuentran dentro de los amplios rangos de efectividad determinados para el antagonismo.

En Mérida, Venezuela, fue desarrollado por García *et al.* (19) un fungicida biológico cuyo ingrediente activo es *T. harzianum*, con una disminución del 40% o más de la incidencia de las enfermedades producidas por *R. solani*, *S. rolfsii*, *Fusarium* sp., *Plasmiodiophora brassicae* Woron. y *Phytophthora* sp.; llegando a 98 % para el caso de *R. solani*.

Para la realización del ensayo de campo se seleccionaron los aislados que tuvieron una eficacia técnica superior al 80%, es decir los aislamientos 16, 17, 27, 32, 56, 75, 78 y 81.

Evaluación de la eficacia de *Trichoderma* sobre *Rhizoctonia* en condiciones de canteros en campo

Los resultados de la eficacia técnica de *Trichoderma* para el biocontrol de *Rhizoctonia* en campo se expresan en la Tabla 2. En la primera evaluación a los 110 días (primer cantero), el aislamiento 17 presentó la mayor eficacia técnica (96,3%), aunque no difirió significativamente de los aislados 27, 56, 75, 78, ni estos de los restantes.

En la segunda evaluación a los 150 días (segundo cantero), los aislados 75 y 78 presentan la mayor eficacia técnica sin diferir entre sí; los aislamientos 17 y 81 no difieren del 78 ni del resto de los aislados evaluados en campo. No obstante, los aislados 17, 75 y 78 presentan un comportamiento estable y destacado con una eficacia superior al 90% al menos en una de las dos repeticiones. En el caso del aislamiento 81, presentó esclerocios sobre los síntomas y próximo a estos. En el resto de los aislados no hubo manifestación de los mismos.

Montealegre *et al.* (20), sugieren que *Bacillus lentimorbus* (Dutky), *T. harzianum* cepa 650 y *Trichoderma polysporum* (Link ex Pers.) Rifai cepa 34, pueden ser empleados en campo dentro de un programa de manejo integrado de *R. solani*.

Gonzales *et al.* (21), lograron una elevada efectividad sobre el hongo patógeno *R. solani* con las cepas A-34 y C-66 de *Trichoderma* sp., con tratamientos al suelo cada 15 días hasta el final del ciclo del cultivo.

TABLA 2. Eficacia de los aislamientos de *Trichoderma* spp. para el biocontrol de *Rhizoctonia* en condiciones de campo./ *Efficacy of Trichoderma isolates for the control of Rhizoctonia under field conditions*

Aislados de <i>Trichoderma</i>	Eficacia técnica			
	Cantero 1 (110 días)		Cantero 2 (150 días)	
	Media original (%)	Media transf.	Media original (%)	Media transf.
17	96,3	2,67a	90,3	2,29bc
27	87,6	2,26ab	84,3	2,05c
32	75,9	1,85b	83,9	2,03c
56	85,6	2,21ab	85,1	2,10c
75	80,6	2,08ab	95,8	2,64a
78	83,7	2,12ab	93,1	2,42ab
81	76,8	1,91b	86	2,12bc
ESx	7,24*	0,069*	0,79*	0,04*
CV	29,81%	30,63%	8,46%	15,57%

Medias con letras diferentes (en columnas) difieren significativamente ($p < 0,05$).

Como se aprecia los resultados obtenidos en la presente investigación, permiten seleccionar a los aislamientos 17, 75 y 78 que poseen las cualidades de antagonismo necesarias como candidatos a ingredientes activos para la elaboración de biofungicidas.

AGRADECIMIENTOS

A los técnicos María Isabel Blanco Campo, José Zambrana Díaz por su cooperación en la realización de los ensayos y a la Dra. Ileana Miranda por su apoyo en los análisis estadísticos.

REFERENCIAS

- Cordero V, Rivero L. Principales enfermedades fungosas que inciden en el cultivo del Arroz en Cuba. Edit. IIA: La Habana; 2001.
- Infoagro. El cultivo del Arroz. 2001. Consultada: 10 abr 2006. Disponible en: <http://www.infoagro.com/herbaceos/cereales/arroz.htm>.
- Damicone JP, Patel MV, Moore WF. Density of sclerotia of *Rhizoctonia solani* and incidence of sheath blight in rice fields in Mississippi. *Plant Dis.* 1993;77:257-270.
- Martínez B, Solano T. Antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *Alternaria solani* (Ellis y Martin) Jones y Grout *Rev. Protección Veg.* 1995;10:221-225.
- Bell K, Wells D, Markham R. *In Vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology.* 1982;72:379-382.
- Bernal A, Andreu C, Moya M. Utilización de *Trichoderma* spp. como alternativa ecológica para el control de *Fusarium oxysporum* sp. *cubense* (E.F. Smith) Snyd. & Hans. en Cuba. 2004. Consultado: 22 abr 2004. Disponible en: <http://www.virtualcentr.org/es/enlIBTJ%20Tallr/bernalalezander.htm>.
- MINAGRI. Instructivo Técnico del Arroz. 1999. C. de La Habana (Cuba); Instituto del Arroz; 1999.
- Ciba-Geigy. Manual de ensayos de campo. 1979. Basilea. Suiza.
- Hernández A, Sierra A, Carr A. Evaluación *in vitro* del antagonista de especies de *Trichoderma* sobre hongos fitopatógenos que afectan las vitroplantas de Piña. (*Ananas comosis* L. Merr). En Memorias del Taller Latinoamericano. Biocontrol con *Trichoderma* y otros antagonistas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Ciudad de La Habana del 28-31 de mayo de 2006.
- Harman G, *Trichoderma harzianum*, *T. viridis*, *T. koningii*, *T. hamatum* (Deuteromycetes: Moniliales). 2003. Consultada: 2 feb 2003. Disponible en: <http://www.ibun.unal.edu.co/r2r7e.html>.
- Sandoval Ileana, López María Ofelia. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* A-34 hacia *Macrophomina phaseoli* y otros patógenos fúngicos del fríjol. *Fitosanidad.* 2002;4(3-4):69-72.
- Ezziyyani M, Pérez Consuelo, Sid A, Requena María Emilia, Candela María Emilia. *Trichoderma*

- harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales de Biología*. 2004;26:35-45.
13. Nico AI, Monaco CI, Dal Bello G, Alippi H. Efecto de la adición de enmiendas orgánicas al suelo sobre la capacidad patogénica de *Rhizoctonia solani*: II Micoflora asociada y antagonismo *in vitro* de los aislados más frecuentes RIA. 2005;34(Pt II)(1):29-44.
 14. Galan M, Ilag L. Potential for biocontrol of *Lasiodiplodia thebromae* (Pat.) Griff. & Maubl in banana fruits by *Trichoderma* species. *Biological Control*. 1999;15:235-240.
 15. Gonzales Mercedes. Utilización de *Trichoderma* spp. para el control de hongos patógenos de la semilla y del suelo en el cultivo del Frijol. Tesis en Opción al título de Máster en Protección Vegetal. Universidad Agraria de La Habana; 2001.
 16. Martínez T. Uso de *Trichoderma* para el Control Biológico de Organismos Patógenos de Plantas. En Memorias del Simposium sobre Agricultura Orgánica y de baja residualidad; Cuauhtémoc, Chih. México. Julio, 1998.
 17. Lorenzo ME. Prospección de hongos antagonistas en la provincia de Cienfuegos. Efectividad y posibilidades de reproducción de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. Tesis en Opción al título de Master en Protección Vegetal. Universidad Agraria de La Habana; 2001.
 18. Veitia M, García V, Izquierdo D, Porra A, Wong W. Control de *Rhizoctonia* en Albahaca blanca (*Ocimum bacilicum* L.) con *Trichoderma harzianum* cepa- 34. *Fitosanidad*. 2000;4(1-2):67-70.
 19. García R, Ricia R, Zambrano C, Gutiérrez L. Desarrollo de un fungicida biológico con base a una cepa del hongo *Trichoderma harzianum* proveniente de la región Andina Venezolana. En Memorias del Taller Latinoamericano. Biocontrol con *Trichoderma* y otros antagonistas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Ciudad de La Habana del 28-31 de mayo de 2006.
 20. Montealegre J, Santander C, Herrera R, Besoain X, Pérez LM. Utilización de microorganismos bioantagonistas para el control biológico de *Rhizoctonia solani* en tomate. *Fitopatología*. 2002;37(1):89-90.
 21. Gonzales Mercedes, Castellanos L, Ramos María, Pérez Grisel. Efectividad de *Trichoderma* spp. para el control de hongos patógenos de la semilla y el suelo en el cultivo del Frijol. *Fitosanidad*. 2005;9(1):37-41.

(Recibido 25-9-2007; Aceptado 15-5-2008)