



Biocontrol de la fusariosis de la sandía

La fusariosis vascular en sandía es causada por diferentes especies de *Fusarium* (*Fusarium oxysporum*, *F. solani* y *F. petrophilum*) y constituye una de las patologías más importantes del cultivo. En este trabajo se presentan dos agentes de biocontrol del género *Trichoderma* potencialmente eficaces en el control de estos patógenos.

Vicente González¹, Eugenia Armijos², Ana Garcés-Claver²

¹Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Unidad de Protección Vegetal

²Unidad de Hortofruticultura. Instituto Agroalimentario de Aragón - IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Zaragoza

La fusariosis vascular de las cucurbitáceas

El cultivo de la sandía (*Citrullus lanatus*) se ve habitualmente afectado por diversas enfermedades fúngicas de suelo, siendo una de las más importantes a nivel económico la fusariosis o marchitez vascular, causada por varias especies de *Fusarium*. Esta patología constituye un factor limitante de la producción en todas las áreas de cultivo (Martyn, 1996) y ocasiona una serie de síntomas que pueden aparecer en cualquier estadio fenológico de la planta, manifestándose tanto en plántulas como en planta adulta. Éstos incluyen crecimientos anormalmente retrasados, presencia de clorosis, amarilleamientos foliares, necrosis en la base del tallo y corona radicular (González-Torres y col., 1993), pudrición de corteza y mesocarpo en frutos, infecciones en semilla (Egel y Martyn, 2007), e incluso fenómenos de colapso y muerte súbita de toda la planta (Okungbowa y Shittu, 2012). En la actualidad se reconocen varias especies complejas y *formae specialis* (f. sp.) del género *Fusarium* como responsables de marchitez vascular en sandía: *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (Fon),

Foto 1
Campo comercial de sandías
prospectado en Peñaflo (Zaragoza)



Fusarium solani f. sp. *cucurbitae* (Fsc) y *Fusarium petrophilum* (Fp). Fon afecta específicamente a la sandía y está considerado como un patógeno grave del cultivo a nivel mundial (Keinnath y Hassell, 2014). Actualmente, se han descrito para Fon cuatro razas patogénicas (razas 0, 1, 2 y 3), que constituyen un último grado de especialización patogénica según el tipo de cultivar de sandía afectado. De entre éstas, la raza 2 es la que más problemas causa debido a su capacidad para sobrepasar numerosos genes de resistencia (Martyn, 2014). Junto a Fon, *F. solani* f. sp. *cucurbitae* (Fsc), causante de marchitez y pudrición de raíz, tallos o frutos en sandía, representa también una amenaza emergente para este cultivo (y otras especies de la familia) en España, ya que recientemente se ha detectado su presencia en nuestro país y zonas adyacentes mediterráneas (González y col., 2018). Para Fsc se describen dos razas patogénicas, 1 y 2, habiendo sido ésta última renombrada actualmente como *F. petrophilum*, y estando citadas ambas a nivel nacional (Armengol y col., 2000).

El control biológico de enfermedades mediante antagonistas microbianos

El empleo de programas de Control Integrado de Plagas (GIP) en aplicación de la legislación actual, determina la implementación de estrategias de desarrollo de nuevos fungicidas que, en muchos casos, han de combinarse con otros métodos de control (manejo cultural, control biológico, empleo de resistencias

naturales, etc.). La efectividad de los productos químicos se está viendo limitada con el desarrollo de mecanismos de resistencia (Eckert, 1988) o la creciente prohibición del uso de muchos de ellos, debido a su toxicidad o por razones de contaminación ambiental. En lo referente al control biológico, se conoce desde antaño que la mayoría de las plagas y patógenos tienen enemigos naturales o antagonistas biológicos, que pueden usarse como estrategia de control. Estos métodos no pretenden reemplazar por completo los sistemas de control químico y deben ser empleados junto con otras técnicas y tratamientos, como parte de los mencionados sistemas de gestión integrada.

La identificación de antagonistas apropiados es siempre el primer paso en este proceso. De este modo, en el desarrollo de herramientas de biocontrol de tipo conservativo, se debe tener en cuenta el empleo de enemigos naturales obtenidos a partir de microorganismos aislados del propio cultivo que se quiere controlar. El interior de los tejidos de la práctica totalidad de especies vegetales está colonizado por comunidades microbianas (hongos y bacterias) más o menos complejas y diversas, de modo de vida endofítico. Estas comunidades endofitas están compuestas de patógenos, parásitos secundarios y, en mayor medida, de microorganismos saprófitos y/o simbióticos. A partir de este reservorio de diversidad microbiana pueden ser aislada y caracterizada numerosas especies con potencialidad para su desarrollo como antagonistas microbianos. El modo de acción de estos microorga-

nismos antagonistas se puede dividir en dos grupos (Elad, 1986): (1) Interacciones directas, que implican algún tipo de contacto físico y síntesis de enzimas hidrolíticas, compuestos tóxicos o antibióticos, o fenómenos de competencia entre el patógeno y el antagonista; y (2) interacciones indirectas, basadas en la inducción de resistencia en las plantas o la modificación del ambiente que facilite el desplazamiento del patógeno en favor del antagonista.

Selección y evaluación del potencial antagónico de especies de hongos endófitos de sandía

Para el desarrollo del presente trabajo, se muestrearon tres parcelas productoras de sandía ubicadas en dos localidades de la provincia de Zaragoza (Peñaflo y Alfamén). Se recolectaron muestras de plantas de sandía asintomáticas (**Foto 1**), que fueron llevadas al laboratorio y procesadas, mediante la siembra de material vegetal desinfectado en medios sintéticos, para el aislamiento de colonias fúngicas.

De un total de 23 plantas de sandía muestreadas, se obtuvieron 347 cepas de hongos endofíticos a partir sus raíces y tallos, que fueron caracterizadas por pertenecer a 67 especies diferentes. De entre éstas, se seleccionaron siete cepas cuyos géneros y especies son conocidos por su capacidad antagonista: *Epicoccum purpurascens*, *Bionectria ochroleuca*, *Myrothecium verrucaria*, *Aureobasidium pullulans*, *Ceratobasidium* sp. (*Rhizoctonia binucleada*), *Trichoderma harzianum* y *T. lentiforme*. Con estos siete aislados, se realizaron ensayos, mediante cultivo dual patógeno - antagonista con siembra simultánea en placa, para conocer sus capacidades de inhibición del crecimiento de los patógenos Fon, Fsc y Fp. Para ello, se comparó, mediante el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR), el crecimiento del patógeno enfrentado al antagonista frente al crecimiento del patógeno en cultivo individual (**Figura 1**).

Los resultados de estos ensayos mostraron diferencias sensibles en los valores de inhibición del crecimiento de los patógenos según el tipo de antagonista

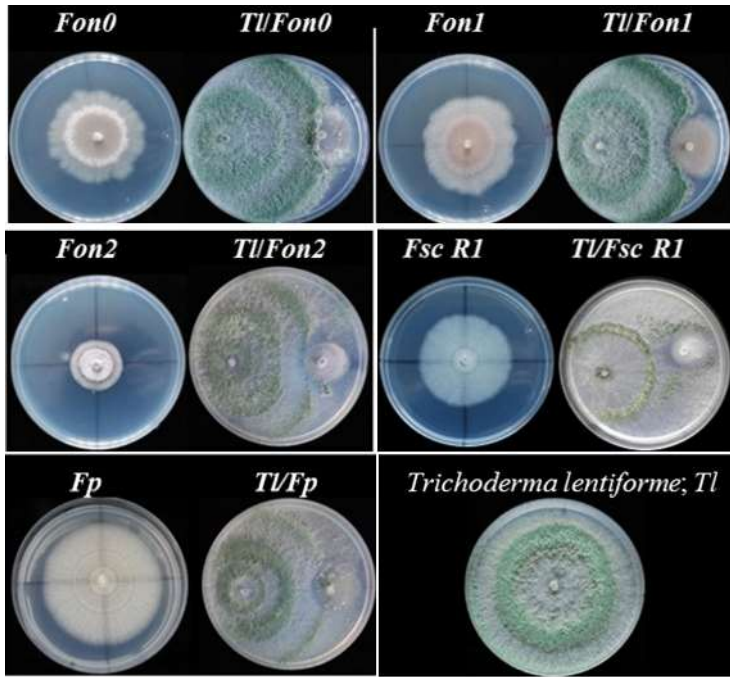


Figura 1. Enfrentamientos en cultivo dual de *Trichoderma lentiforme* (Tl) con *Fusarium* spp.: *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* raza 0 (Fon 0), raza 1 (Fon 1) y raza 2 (Fon 2); *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* raza 1 (Fsc R1); *Fusarium petrophilum* (Fp)

empleado (**Gráfico 1**), probablemente debido a su diferenciado modo de acción. Así, los valores más altos de PICR de hasta el 68 y 70% (**Gráfico 1a**), fueron encontrados en los enfrentamientos con los dos aislados de las especies de *Trichoderma*, probablemente debido a la acción simultánea de varios mecanismos de control: los fenómenos de competencia por el espacio, el hiperparasitismo y/o la lisis enzimática. Para el resto de antagonistas ensayados,

en líneas generales se obtuvieron valores de inhibición del crecimiento más bajos. De entre éstos, los obtenidos por el aislado de *Rhizoctonia binucleada*, con un 45% como máximo valor, (cuyo mecanismo de acción estaría basado en la competencia por sitios de infección) fueron ligeramente mayores que aquellos reseñados para *A. pullulans*, cuyo máximo fue de 43% (para el que se postula un mecanismo mixto de competencia por nutrientes e inducción de

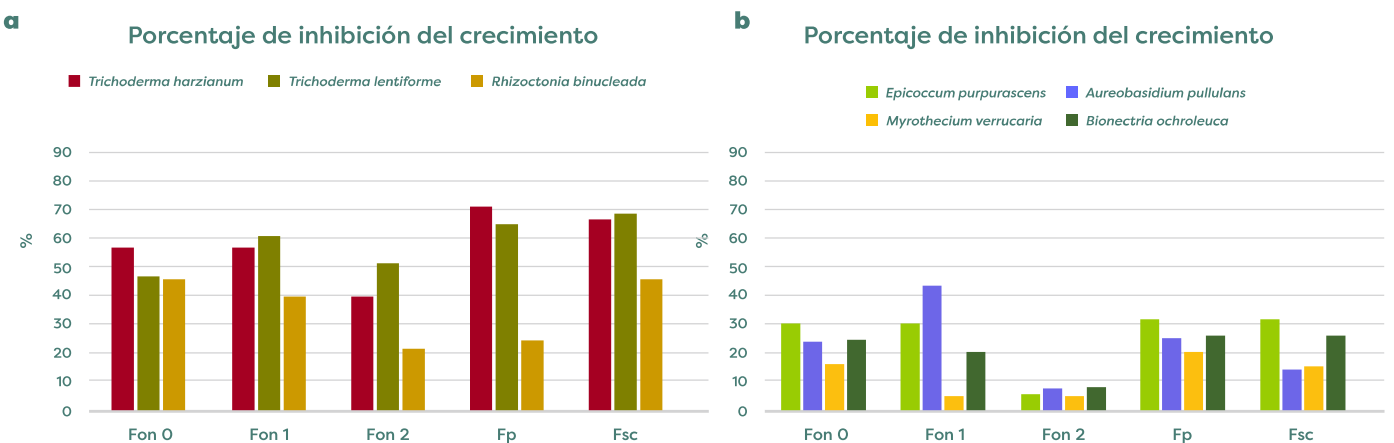
resistencias). *B. ochroleuca* con un valor máximo de 25% de PICR (cuya acción protectora estaría basada en la secreción de enzimas y competencia por nutrientes) y *M. verrucaria* con un 19% máximo (cuya acción antagonica se basaría en la secreción al medio de enzimas hidrolíticas) fueron los que presentaron menor PICR (**Gráfico 1b**). Finalmente, *E. purpurascens*, cuyo modo de acción estaría basado en la secreción y difusión al medio de metabolitos secundarios con efecto antibiótico, también presentó valores de PICR inferiores a los observados con las especies de *Trichoderma*. Como complemento a los ensayos en placa, se realizaron bioensayos con plantas de sandía y las 2 especies de *Trichoderma* para confirmar su capacidad protectora frente a especies de *Fusarium* patógenas (**Gráfico 2**). Los resultados obtenidos registraron reducciones moderadas en la incidencia de la enfermedad en las plantas inoculadas con *Fon 0*, *Fon 2*, *Fsc R1* y *Fp* tratadas con *T. lentiforme*, no así, para las inoculadas con *T. harzianum*. No obstante, los efectos inhibitorios fueron inferiores a los observados en placa.

A modo de conclusión

En resumen, el trabajo muestra la idoneidad de explorar la diversidad fúngica endófito asociada al cultivo de la sandía, pudiendo, a partir de la misma, seleccionar y testar distintas especies fúngicas con potencial como agentes de

Gráfico 1.

Porcentajes de inhibición del crecimiento (PICR) de los antagonistas frente a los distintos aislados patógenos del género *Fusarium*, obtenidos en enfrentamiento dual en placa; a) enfrentamientos de los patógenos con los antagonistas *T. harzianum*, *T. lentiforme* y *Rhizoctonia binucleada*; b) enfrentamientos con los antagonistas *E. purpurascens*, *A. pullulans*, *M. verrucaria* y *B. ochroleuca*



biocontrol. A partir de los muestreos y ensayos realizados en nuestro estudio, se constató que *T. lentiforme* y *T. harzianum* fueron los antagonistas más efectivos en el control del crecimiento en placa de especies y razas patogénicas del género *Fusarium*.

Agradecimientos

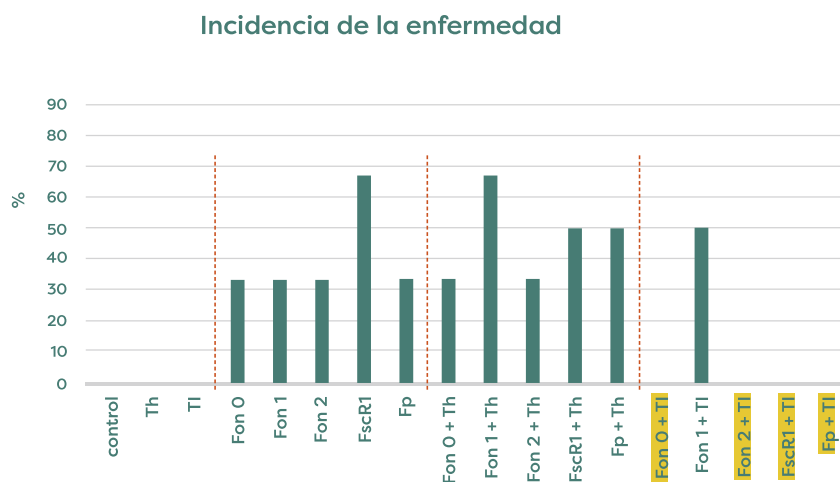
Los autores agradecen la financiación recibida por el proyecto AGL 2017-85563-C2-2R (financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades con cofinanciación de Fondos FEDER) y el proyecto A11-17R-Producción Vegetal Sostenible (PROVESOS) financiado por el Gobierno de Aragón.

Bibliografía

Queda a disposición del lector interesado en el correo electrónico: redaccion@editorialagricola.com

Gráfico 2.

Porcentaje de la incidencia de la enfermedad en las plantas de sandía evaluadas en los diferentes tratamientos. Control: plantas sin inocular; Th: plantas inoculadas con *T. harzianum*; TI: plantas inoculadas con *T. lentiforme*; Fon0, Fon1, Fon2, FscR1, Fp: plantas inoculadas con las distintas razas y especies de *Fusarium*; el resto de los tratamientos se refieren a la inoculación conjunta del antagonista (Th o TI) con el patógeno. En amarillo se resaltan los tratamientos en los que no hubo síntomas de enfermedad después de la inoculación del patógeno y el antagonista.



**Ligado a la
calidad** del fruto
aumentando su
vida útil



Síguenos en:



AGROMÉTODOS

C/ Dublin, 1 (Edificio Sevilla) • 28232 - LAS ROZAS (Madrid)
Tel. 91 352 43 96 • Fax 91 352 40 70
comunicaciones@agrometodos.com • www.agrometodos.com