

## Biocontrol de antracnosis de limón (*Colletotricum acutatum* S.) con *Trichoderma* spp.

OTERO-SÁNCHEZ, Marco Antonio\*†, MICHEL-ACEVES, Alejandro C., BARRIOS-AYALA, Aristeo, ARIZA-FLORES, Rafael

\* Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Av. Vicente Guerrero # 81, Col. Centro, Iguala, Gro. C.P. 40000.

† Campo Experimental Iguala, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y pecuarias. Km 3 carretera Iguala-Tuxpan, C.P. 40000. Iguala, Gro., México.

Recibido Julio 3, 2014; Aceptado Enero 6, 2015

### Resumen

La producción de limón es una de las actividades generadoras de empleos y divisas. México es el segundo productor a nivel mundial con una producción de 2, 147,740 toneladas (FAOSTAT, 2011), los principales estados productores son Veracruz, Michoacán y Colima con una producción de 558,130.40, 457,567.69 y 354,707.14 t respectivamente (SIAP, 2013). La baja rentabilidad del cultivo es causada principalmente por plagas, malezas, prácticas deficientes y enfermedades dentro de las cuales destacan: antracnosis (*Colletotricum acutatum* S), gomosis (*Phytophthora parasitica* D.), mancha foliar (*Alternaria limicola*) y fumagina (*Capnodium citri* Berk y Desm). La Antracnosis (*C. acutatum*) afecta el crecimiento de brotes, flores y frutos jóvenes; esta enfermedad y puede reducir significativamente la calidad y rendimiento del fruto. Uno de los métodos que usan los productores para controlar dicha enfermedad es el químico, por su rápida acción. Sin embargo la aplicación indiscriminada de agroquímicos, ha afectado gravemente el equilibrio del medio ambiente en general, causando problemas de contaminación en agua y suelo, así como una mayor resistencia de los fitopatógenos a la aplicación de fungicidas sintéticos. Actualmente existe mucha información sobre el uso de microorganismos antagonistas eficientes para el control de hongos fitopatógenos, los cuales son utilizados de manera preventiva en muchos cultivos a nivel comercial y los cuales constituyen un buen aliado en la disminución del deterioro ambiental. En este sentido el hongo antagonista *Trichoderma* spp. representa una excelente alternativa de control biológico de muchas enfermedades.

### Biocontrol, Antracnosis, Limón.

### Abstract

The lemon production is generating employment and foreign exchange activities. Mexico is the second largest producer worldwide with a production of 2, 147.740 tons (FAOSTAT, 2011), the main producing states are Veracruz, Michoacan and Colima with a production of 558,130.40, 457,567.69 and 354,707.14 t respectively (SIAP, 2013). The low profitability of the crop is mainly caused by pests, weeds and diseases poor practices among which are: anthracnose (*Colletotrichum acutatum* S), gomosis (*Phytophthora parasitica* D.), leaf spot (*Alternaria wader*) and sooty mold (*Capnodium citri* Berk and Cut). Anthracnose (*C. acutatum*) affects the growth of buds, flowers and young fruits; this disease and can significantly reduce the quality and yield of fruit. One of the methods used by farmers to control that disease is chemical, for your quick action. However the indiscriminate application of agrochemicals, has seriously affected the balance of the environment in general, causing pollution problems in water and soil, as well as increased resistance of pathogens to the use of synthetic fungicides. There is currently much information about the efficient use of antagonistic microorganisms to control phytopathogenic fungi, which are used preventively in many crops commercially and which constitute a good ally in reducing environmental degradation. In this sense the antagonist fungus *Trichoderma* spp. represents an excellent alternative for biological control of many diseases.

### Biocontrol, Anthracnose, Lemon.

**Citación** OTERO-SÁNCHEZ, Marco Antonio, MICHEL-ACEVES, Alejandro C., BARRIOS-AYALA, Aristeo, ARIZA-FLORES, Rafael. Biocontrol de antracnosis de limón (*Colletotricum acutatum* S.) con *Trichoderma* spp.. Foro de Estudios sobre Guerrero. Mayo 2014 – Abril 2015, 1-2:100-104

\* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: motero\_sanchez@yahoo.com.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

**Introducción**

La producción de limón es una de las actividades generadoras de empleos y divisas. México es el segundo productor a nivel mundial con una producción de 2, 147,740 toneladas (FAOSTAT, 2011), los principales estados productores son Veracruz, Michoacán y Colima con una producción de 558,130.40, 457,567.69 y 354,707.14 t respectivamente (SIAP, 2013). La baja rentabilidad del cultivo es causada principalmente por plagas, malezas, prácticas deficientes y enfermedades dentro de las cuales destacan: antracnosis (*Colletotrichum acutatum* S), gomosis (*Phytophthora parasítica* D.), mancha foliar (*Alternaria limícola*) y fumagina (*Capnodium citri* Berk y Desm). La Antracnosis (*C. acutatum*) afecta el crecimiento de brotes, flores y frutos jóvenes; esta enfermedad y puede reducir significativamente la calidad y rendimiento del fruto. Uno de los métodos que usan los productores para controlar dicha enfermedad es el químico, por su rápida acción. Sin embargo la aplicación indiscriminada de agroquímicos, ha afectado gravemente el equilibrio del medio ambiente en general, causando problemas de contaminación en agua y suelo, así como una mayor resistencia de los fitopatógenos a la aplicación de fungicidas sintéticos. Actualmente existe mucha información sobre el uso de microorganismos antagonistas eficientes para el control de hongos fitopatógenos, los cuales son utilizados de manera preventiva en muchos cultivos a nivel comercial y los cuales constituyen un buen aliado en la disminución del deterioro ambiental. En este sentido el hongo antagonista *Trichoderma* spp. representa una excelente alternativa de control biológico de muchas enfermedades.

**Objetivos**

El objetivo del presente estudio fue evaluar diferentes cepas de *Trichoderma* spp., nativas de la región en estudio, como una alternativa de control biológico, en comparación con los fungicidas recomendados para su control.

**Metodología**

El estudio se realizó en una plantación comercial de limón “Persa”, en Tepalcingo, Mor. El diagnóstico y los muestreos de suelo y material vegetal enfermo realizaron el 19 de enero del año 2013. Los ensayos se realizaron en el laboratorio de biotecnología del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CEP-CSAEGRO). Del material enfermo se aisló e identificó el patógeno *C. acutatum* y del suelo muestreado se aislaron cuatro cepas de *Trichoderma* spp. Se realizaron un total de tres ensayos in vitro: **Ensayo I** (Prueba del papel celofán) se evaluó la antibiosis de las cuatro cepas de *Trichoderma* spp.; las variables evaluadas fueron: crecimiento micelial del fitopatógeno y porcentaje de inhibición. **Ensayo II** (Prueba dual o cultivos apareados), se evaluó la eficiencia de *Trichoderma* en el control de *C. acutatum*.; las variables fueron: días a primer contacto, crecimiento micelial, zona de intersección y tipo de antagonismo. **Ensayo III** (Prueba de fungicidas), se evaluaron los fungicidas sintéticos Azoxystrobin, Captan, Sulfato de cobre, Clorotalonil y un testigo absoluto; las variables evaluadas fueron: crecimiento micelial y porcentaje de inhibición. Todos los ensayos fueron distribuidos en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones. Los datos obtenidos de cada ensayo se sometieron a un análisis de varianza y también se una prueba de Rangos múltiples de Tukey ( $\leq 0.05$ ).

## Resultados

En el primer ensayo (**Prueba del papel celofán**), las cepas 1 y 2 presentaron los máximos porcentajes de inhibición, con valores de 87.3 y 65.7 %, respectivamente (Tabla 1).

Tratamiento	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8
Cepa 1	100.00 a*	100.00 a*	100.00 a*	100.00 a*	100.00 a*	100.00 a*	92.33 a*	87.29 a*
Cepa 2	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	88.73 b	77.46 b	65.71 b
Cepa 3	100.00 a	100.00 a	88.73 b	81.29 b	72.66 b	63.55 c	52.76 c	42.09 c
Cepa 4	88.25 b	88.58 b	69.80 c	57.79 c	41.49 c	28.30 d	14.63 d	3.16 d

\* Medidas dentro de columnas seguidas con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey 0.05).

**Tabla 1** Porcentaje de inhibición de *C. acutatum*

En el segundo ensayo (**Prueba de cultivos apareados**), la prueba dual determinó un crecimiento máximo de 6.6 y 2.7 cm de *Trichoderma* y *C. acutatum*, respectivamente; 4.2 días a primer contacto para ambos hongos; y tres tipos antagonismo: uno, dos y tres (Tabla 2).

Trat.	Crecimiento (cm)		Días 1er contacto	Zona de intersección	clase de Antagonismo
	<i>C. acutatum</i> (Día 12)	<i>Trichoderma</i> spp. Día 11			
Cepa 1	2.00 b*	6.64 a*	4.20 b*	2.42 a*	1
Cepa 2	2.10 b	4.94 a	4.80 ab	1.42 a	2
Cepa 3	2.02 b	6.12 ab	4.20 b	2.38 a	2
Cepa 4	2.76 a	2.90 c	5.60 a	0.00 b	3

\*Medidas dentro de columnas seguidas con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey,0.05)

**Tabla 2** Características del cultivo apareados entre diferentes cepas de *Trichoderma* spp., y *Colletotrichum acutatum*

En el tercer ensayo (**Prueba de fungicidas**), se encontró que todos los fungicidas evaluados presentaron un 100 % de inhibición, con excepción de Sulfato de cobre que presentó un 95 %. (Tabla 3).

Tratamiento	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8
Azoxystrobin	100 a*	100 a*	100 a*	100 a*	100 a*	100 a*	100 a*	100 a*
Captan	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Clorotalonil	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Sulfato de cobre	100 a	100 a	100 a	100 a	97 a	95.76 b	95.29 b	95.06 b

\*Medidas dentro de columnas seguidas con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey 0.05).

**Tabla 3** Porcentaje de inhibición de los fungicidas en el crecimiento de *C. acutatum*

## Discusión

Todas las cepas de *Trichoderma* hicieron contacto con el fitopatógeno, ambos tuvieron un crecimiento rápido; para esta variable se registraron diferencias altamente significativas en los días cinco y seis después de la siembra (dds), mientras que *Trichoderma* tuvo diferencias altamente significativas a partir del segundo dds, para *C. acutatum*. Tukey a los 12 dds separó en dos grupos, en el primero se encuentra la cepa cuatro con un crecimiento de 2.76 cm, el segundo grupo fueron las cepas uno, dos, y tres con 2, 2.10 y 2.02 cm respectivamente, en *Trichoderma* Tukey separó en grupos, la cepa uno y dos pertenecen al primer grupo con 6.64 y 4.94 respectivamente; la cepa tres quedo en el segundo grupo con un crecimiento de 6.12 cm y en el tercer grupo se encuentra la cepa cuatro con 2.90 cm.

Resultados obtenidos por Valenzo (2005) y Figueroa (2010), al trabajar con *Colletotrichum* spp., reportaron crecimientos máximos de 4.82 y 2.7 cm respectivamente. Por su parte Ávila (2006), al trabajar con Damping off en jitomate reportó crecimientos máximos de 3.52. *C. acutatum* obtuvo valores de crecimiento de entre 2 a 2.7 cm de respectivamente. Que comparándolos con los crecimientos obtenidos por Figueroa (2010), son similares, pero son superiores a los que reportó Valenzo (2005), mientras que Ávila (2006), le crecimientos que reportó es inferior a los de este ensayo.

Días al primer contacto. la cepa 4 teniendo el contacto en el día 5 se encuentra en el primer grupo, la cepa 2 se encuentra en el segundo grupo teniendo el primer contacto a los 4 días y medio, y en el tercer grupo se encuentran las cepas 1 y 3 ambas teniendo el primer contacto a los 4 días

Rivera (2013), quienes reportaron rangos de 2 - 4 y 3 - 4 días a primer contacto entre ambos hongos respectivamente, cabe destacar que entre menor sea el tiempo de contacto, mayor es la agresividad del hongo antagonista (Chet y Beanhamou, 1998), los resultados obtenidos en nuestra investigación son mayores en cuestión de tiempo, debido probablemente a que el fitopatógeno aislado tuvo un lento crecimiento con respecto al que aisló Figueroa (2010) y Rivera (2013). Es decir que nuestras cepas de *Trichoderma* aisladas presentaron una menor agresividad.

Zona de intersección. Las cepas uno, dos y tres la zona fueron de entre 1.24 y 2.42, siendo la cepa 1 la más agresiva con 2.42 cm, y en el segundo grupo se encuentra la cepa cuatro quien no tuvo zona de intersección al detenerse el crecimiento de ambos hongos al momento de haber hecho el primer contacto.

Figueroa (2010), en su trabajo de investigación registro la mayor zona de intersección de 2.10 cm, mientras que Rivera (2013), la mayor zona de intersección fue de 4.36 cm, nuestros resultados son superiores a los obtenidos por Figueroa, pero inferior a los obtenidos por Rivera (2013).

Clase de antagonismo. La cepa uno presentó la clase uno, mientras que las cepas dos y tres presentaron la clase dos, y la cepa cuatro presentó la clase tres (Figura 27). Es importante mencionar que el tipo de antagonismo representa la principal prueba o cuantificación de la capacidad antagonista de una cepa (Bell *et al.*, 1982).

Con relación a la prueba de fungicidas, durante todas las observaciones diferencias altamente significativas, mientras que a los ocho dds Tukey separó en dos grupos, como primer grupo se encuentran los fungicidas asoxystrobin, captan y clorotalonil logrando inhibir el 100 %, y en el segundo grupo está el sulfato de cobre con un porcentaje de inhibición de 95.06 %. Comparando los resultados con los obtenidos por Cruz (2006), García (2011) y Rivera (2013), al evaluar la efectividad de los fungicidas contra *C. gloeosporoides* utilizaron a azoxystrobin donde obtuvieron un porcentaje de inhibición de 80, 39.97 y 100 % respectivamente, lo cual es similar a los obtenidos por Rivera (2013) (Tabla 3).

### Conclusión

De acuerdo a los objetivos planeados y en base a los resultados que se obtuvieron en los diferentes ensayos, se generaron las siguientes conclusiones:

1. De las cepas evaluadas la numero uno y dos fueron las mejores al presentar los porcentajes más altos porcentajes de inhibición con 87.29 y 65.71 % respectivamente.
2. La cepa uno presentó antagonismo de la clase uno, las cepas dos y tres presentaron de clase dos y finalmente la cepa 4 presentó antagonismo de la clase tres.
3. Los fungicidas azoxystrobin, captan y clorotalonil presentaron inhibición del 100 % de *C. acutatum*, excepto el sulfato de cobre que presentó 95 % de inhibición.

**Referencias**

Bailey, J. A., and Jeger, M.J. 1992. *Colletotrichum: biology, pathology and control*. CAB International. Wallingford, U.K. 388 p.

Bailey, J. A., O'Connell, R.J., Pring, R.J. and Nash, C. 1992. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Bailey, J.A. and Jeger, M.J. (Eds.). p. 88-120. CAB International. Wallingford, U.K.

Cervantes, A. 2013. Microorganismos del suelo beneficiosos para los cultivos. Obtenido de la red. [http://infoagro.comhortalizasmicroorganismos\\_beneficiosos\\_cultivos.htm](http://infoagro.comhortalizasmicroorganismos_beneficiosos_cultivos.htm). (Consulta 20/10/13).

Barnett, H. L and Hunter, B.B. 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi*. (4th Ed). The American Pytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA 218 pp.

Bell, D. K., Well, H.D., and Markham, C.R. 1982. "In vitro" antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72:379-382.