



AISLAMIENTO DE CEPAS DE *Trichoderma* POTENCIALMENTE APLICABLES COMO AGENTES DE BIOCONTROL CONTRA *Thielaviopsis paradoxa*

Vladimir Sánchez², Orfil González¹, Jesús Córdova¹ y Gary J. Samuels.

¹Universidad de Guadalajara. Depto. de Ing. Química. García Barragán 1421, 44480 Guadalajara, Jal.

²Tecnológico de Estudios Superiores de Villa Guerrero, Carr. Fed. Toluca-Ixtapan de la Sal, Km 64.5, C.P.51760, Edo. de México. Fax: (714)-146-14-65. E-mail: vladimir_vsl@yahoo.com.mx.

Palabras clave: Enfermedad de Agave tequilana, *Thielaviopsis paradoxa*, *Trichoderma longibrachiatum*

Introducción. *Thielaviopsis paradoxa* es un hongo fitopatógeno que afecta a diferentes plantas de importancia comercial, tales como palma datilera (*Phoenix dactylifera*), piña (*Ananas comosus*) y palmas de coco (*Cocos nucifera*). Este patógeno fue encontrado atacando plantas de *Agave tequilana* Weber var. 'Azul' (Agave 'Azul') en el Estado de Jalisco, afectando hasta un 23% de las plantas (1). Las estrategias de control de este fitopatógeno (culturales y fungicidas químicos), han sido muy poco eficaces, por lo que es urgente encontrar alternativas biotecnológicas.

El objetivo del presente trabajo fue investigar si cepas de *Trichoderma* presentes en la rizosfera de plantas de Agave 'Azul', son capaces de antagonizar la proliferación del hongo fitopatógeno *Th. paradoxa*.

Metodología. Se colectaron muestras de suelo en 28 plantaciones de Agave 'Azul', ubicadas en las región de Los Altos, Jalisco. Las cepas de *Trichoderma* se aislaron con el método de dilución en placa. La identificación de los aislados de *Trichoderma* se realizó por análisis morfológico y molecular (2). Para realizar el análisis molecular, se extrajo el ADN genómico, y se amplificó por PCR una región nuclear del ADN ribosomal, que contuvo el gen ITS1, 5.8S, ITS2 rDNA, y el gen EF-1 α . Las secuencias obtenidas (Cuadro 1) se compararon con secuencias de otras especies de *Trichoderma* incluidas en el GenBank, se determinó la especie si la secuencia fue idéntica al 100%. Para evaluar el efecto de los metabolitos no volátiles producidos por los aislados de *Trichoderma* sobre el crecimiento de *Th. paradoxa* (ATCC MYA-1387), se utilizó el método del celofán (3). Se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio de *Th. paradoxa*.

Resultados y Discusión. En total se aislaron 79 cepas de *Trichoderma*. En base a sus características morfológicas, 70 de los aislados se identificaron como *T. longibrachiatum*, cuatro como *T. harzianum* y cinco no se identificaron porque se contaminaron, no pudiendo ser recuperadas. Fue inesperado encontrar que la mayoría de las cepas aisladas correspondieran a *T. longibrachiatum*, lo cual sugiere que esta especie es la más apta para sobrevivir en los suelos semiáridos donde se cultiva al Agave 'Azul'. Relevantemente, nueve cepas de *Trichoderma* fueron las más agresivas contra el fitopatógeno, debido a que produjeron los metabolitos no volátiles más estables, que inhibieron completamente el crecimiento del patógeno durante los 12 días que duró el experimento. Esta capacidad de algunas especies de *Trichoderma*, de inhibir el desarrollo de varios hongos patógenos, ha sido atribuida

por otros autores, a la síntesis de metabolitos no volátiles, tales como antibióticos y enzimas.

Finalmente, se confirmó la identificación de estas nueve cepas con la secuenciación y análisis de ADN como *T. longibrachiatum* y fueron depositadas en dos colecciones internacionales de microorganismos: The American Type Culture Collection, USA (ATCC) y Centraalbureau voor Schimmelcultures, The Netherlands (CBS) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Cepas de T. longibrachiatum que inhibieron completamente a Th. paradoxa y que fueron depositadas en colecciones internacionales.

Cepa	ATCC	CBS	GenBank accession number (ITS1, 5.8s & ITS2) (EF-1 α)	
VSL 22	MYA-3646	118638	DQ297054	DQ297064
VSL 41	MYA-3647	118641	DQ297055	DQ297067
VSL 62	MYA-3643	118640	DQ297056	DQ297069
VSL 65	MYA-3645	118643	DQ297057	DQ297062
VSL 103	MYA-3651	118642	DQ297053	DQ297066
VSL 131	MYA-3649	118637	DQ297058	DQ297063
VSL 133	MYA-3648	118636	DQ297059	DQ297068
VSL 152	MYA-3650	118644	DQ297060	DQ297065
VSL 243	MYA-3644	118639	DQ297061	DQ297070

Conclusiones. 79 cepas de *Trichoderma* fueron aisladas de campos agrícolas donde se cultiva Agave 'Azul', de las cuales, nueve (*T. longibrachiatum*) fueron clasificadas como excelentes agentes en el biocontrol de *Th. paradoxa*. Uno de los mecanismos de acción de *T. longibrachiatum*, involucrado en el biocontrol *in vitro* de *Th. paradoxa*, fue la antibiosis, conferida por la síntesis de metabolitos no volátiles.

Agradecimiento. El presente trabajo de investigación se llevó a cabo gracias al financiamiento de CONACYT (proyecto No. 42303-Z).

Bibliografía.

1. Fucikovsky, L. 2001. "Tristeza" and death of *Agave tequilana* Weber var. Blue. In: Plant Pathogenic Bacteria. (De Boer S.H., ed.). Proceedings of the 10th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Kluwer Academic Publishing, Dordrecht, Netherlands. 359-361.
2. Sánchez, V., Rebollo, O., Picaso, R. M., Cárdenas, E., Córdova, J., González, O., and Samuels, G. J. 2007. *In vitro* antagonism of *Thielaviopsis paradoxa* by *Trichoderma longibrachiatum*. *Mycopathologia* 163: 49-58.
3. Dennis, C., and Webster, J. 1971. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile antibiotics. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 57:25-39.