

## EVALUACIÓN DE CEPAS DE *TRICHODERMA* SPP Y SU ROL COMO PROMOTOR DEL CRECIMIENTO EN ESPECIES VEGETALES.

**Valentina Mázzaro**

*Facultad de Ciencias Agrarias – UNL*

Director: Ricardo Germán Dunger

Codirectora: Camila Jaime

Área temática: Ciencias Biológicas

Palabras clave: bioestimulante, biocontrol, alfalfa.

### INTRODUCCIÓN

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es la principal especie forrajera y la base de la producción de carne y leche en la región pampeana argentina. Es la leguminosa más distribuida en el mundo. Se caracteriza por altos rendimientos y valor nutritivo, y juega un papel particularmente importante en el desarrollo de la ganadería (Basigalup, 2007). Debido a la expansión de cultivos extensivos, como los de soja, la producción de alfalfa se ha desplazado a zonas marginales con suelos pobres, lo que afecta directamente la productividad y persistencia de los alfalfares.

*Trichoderma* es un género de hongos filamentosos que incluye diversas especies ampliamente estudiadas y usadas como agente de control biológico. Promueven el crecimiento de las plantas en los suelos y facilitan significativamente el crecimiento y el desarrollo de las mismas a través de numerosos mecanismos: aumentando la solubilización de los nutrientes del suelo, aumentando la eficacia y el reciclaje de los nutrientes, liberando agentes estimulantes del crecimiento de las plantas e induciendo resistencia sistémica (Hermosa et al, 2012).

En este estudio, se analizó la influencia de la inoculación de cepas nativas de *Trichoderma* en el crecimiento de alfalfa y *Arabidopsis thaliana* y su acción como protector biológico frente a hongos patógenos.

### OBJETIVOS

- Analizar la acción de cepas nativas de *Trichoderma* como protector biológico.
- Evaluar el rol de *Trichoderma* sobre el sistema radicular de plantas de alfalfa y *Arabidopsis thaliana*.

Título del proyecto: Persistencia de alfalfares

Instrumento: SPU

Año convocatoria: 2018

Organismo financiador: Consejo Interuniversitario Nacional

Director: Dunger, Ricardo Germán

## METODOLOGÍA

### Material vegetal y hongos

Se utilizaron plantas de alfalfa Vaquera 9 (NK) y de *Arabidopsis thaliana* Col0 mantenidas en placas de Petri conteniendo medio basal Murashige y Skoog (MS) y en cámara de crecimiento con temperatura promedio de 25°C y ciclo de luz de 14hs. También, se utilizaron las cepas nativas de *Trichoderma* aisladas y provistas por el Grupo de Procesos Biológicos en Ingeniería Ambiental (FICH-UNL), conformado por los docentes investigadores Raúl Comelli, Lisandro Seluy y María Benzzo. El control comercial utilizado fue provisto por la empresa FACyT S.R.L.

Control comercial: *Trichoderma atroviride*.

208: *Trichoderma* spp.

206: *Trichoderma* sp.

10G3: *Trichoderma* spp.

201: *Trichoderma* spp.

904: *Trichoderma reesei*.

205: *Trichoderma*.

Patógeno: *Fusarium* spp.

Patógeno: *Macrophomina* spp.

### Ensayo de competencia

La competencia se llevó a cabo enfrentando las cepas listadas previamente de *Trichoderma* frente a dos patógenos (Zhang et al, 2019). El porcentaje de inhibición se calculó según la ecuación 1:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(R2-R1)}{R1} \times 100 \quad (\text{ecuación 1})$$

R1 es el radio del halo de crecimiento del patógeno en la placa control y R2 el radio del halo de crecimiento por parte del patógeno enfrentado a *Trichoderma* (Rahman et al, 2009).

### Estudio de crecimiento radicular

Se evaluó el efecto de cepas seleccionadas de *Trichoderma* en el crecimiento de plantas de *A. thaliana* y alfalfa. Se utilizaron semillas esterilizadas, sometidas a crecimiento vertical en placas de Petri conteniendo medio MS agarizado como sustrato. Al día 4 posterior a la germinación, se inoculó con *Trichoderma* colocando un disco del hongo a 5 cm del extremo inferior de la raíz (Alonso-Ramirez et al, 2014).

Seguido, se llevó a cabo el escaneado de las raíces y posterior análisis utilizando el programa informático libre ARIA (Automatic Root Image Analysis), que permite la evaluación de diversas características del sistema radicular, a saber: longitud total de la raíz, longitud de la raíz principal y longitud total de las raíces secundarias.

## RESULTADOS

El ensayo de competencia utilizando las seis cepas aisladas y los patógenos *Fusarium* spp. y *Macrophomina* spp. nos permitió seleccionar las cepas 201, 205 y 208 de *Trichoderma* debido a que presentaron el mayor porcentaje de inhibición del patógeno (Figura 1 y Tabla 1). Siendo que la cepa 201 de *Trichoderma* inhibió en un 70,69% a *Fusarium* spp. y las cepas 205 y 208 inhibieron en un 72,31% y 70,76% respectivamente a *Macrophomina* spp (Tabla 1), se seleccionaron para ser utilizadas para evaluar su rol como bioestimulador radicular.

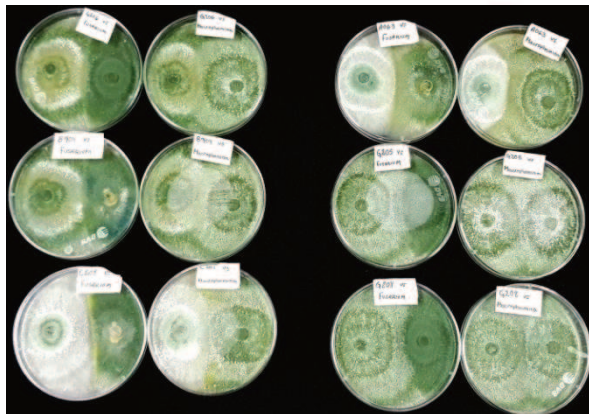


Figura 1: Ensayo de competencia *Trichoderma*-patógeno. Se observaron diferentes grados de inhibición de los patógenos *Fusarium* (izquierda) y *Macrophomina* (derecha) por parte de las cepas de *Trichoderma* aisladas. El ensayo se realizó en medio PDA. Se muestra una composición fotográfica resultado de tres repeticiones.

Tabla 1: Ensayo de competencia *Trichoderma*-patógeno. Se observan los diferentes porcentajes de inhibición de los patógenos *Fusarium* (izquierda) y *Macrophomina* (derecha) por parte de las diferentes cepas de *Trichoderma*. Los porcentajes fueron establecidos utilizando la ecuación descrita en Rahman et al, 2009.

	% DE INHIBICIÓN VS FUSARIUM	% DE INHIBICIÓN VS MACROPHOMINA
CONTROL +	67.24%	58.46%
10G3	62.07%	52.31%
C201	70.69%	61.54%
B904	67.24%	63.08%
G206	68.96%	55.38%
G208	68.96%	70.76%
G205	68.96%	72.31%

Seguido, se llevó a cabo un análisis para estudiar la capacidad de promover el desarrollo radicular en plantas de alfalfa y arabidopsis por parte de las cepas de *Trichoderma* seleccionadas en el ensayo de competencia. Se pudo observar que las plantas de arabidopsis y de alfalfa tratadas con las cepas de *Trichoderma* 201, 205 o 208 (figura 2) presentaban un incremento significativo de raíces secundarias y un aumento en la cantidad de pelos radiculares cuando se compararon con plantas sin tratamiento (Figura 2 y Figura 3).

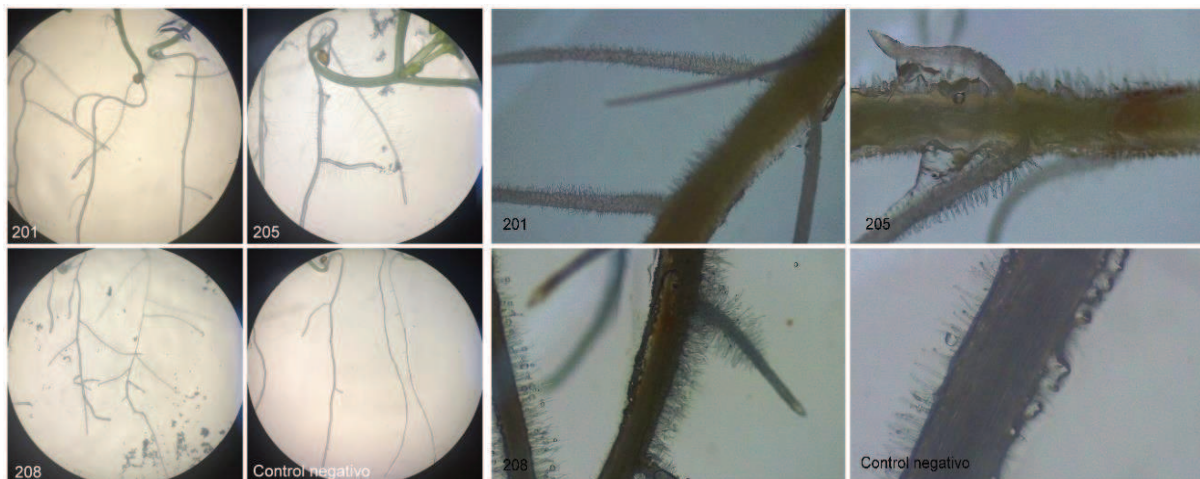


Figura 2: Visualización de la modificación de la estructura radicular inducida por *Trichoderma*. Se observaron raíces de plantas de arabidopsis (izquierda) o de alfalfa (derecha) crecidas en medio MS y tratadas con diferentes cepas de *Trichoderma* o sin tratamiento (control negativo). La observación se realizó utilizando una lupa.

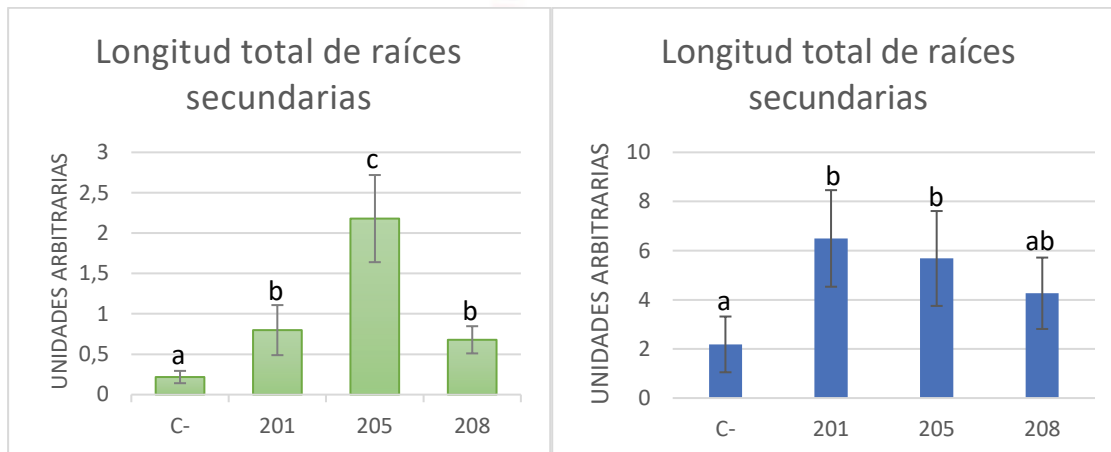


Figura 3: Análisis de longitud radicular. Resultados obtenidos al analizar plantas de *Arabidopsis thaliana* (izquierda) o plantas de alfalfa (derecha) tratadas con *Trichoderma* o sin tratamiento (C-) y crecidas en medio MS. Las raíces se escanearon y se analizaron utilizando el software ARIA.

## CONCLUSIONES

Se pudo observar un aumento en la actividad controladora *in vitro* frente a hongos patógenos por parte de las cepas 201, 205 y 208 de *Trichoderma*. En este sentido, la cepa 201 fue la que mejor inhibición presentó frente a *Fusarium* spp. y las cepas 205 y 208 las que inhibieron en mayor porcentaje a *Macrophomina* spp.

Las plantas tratadas con las cepas 201, 205 y 208 de *Trichoderma* mostraron un aumento significativo del desarrollo de raíces secundarias, tanto en plantas de arabis como de alfalfa. La cantidad de pelos radiculares está directamente relacionada con la capacidad de absorción de agua y nutrientes, por lo que el incremento de pelos observado en las plantas tratadas con *Trichoderma* podría traducirse en una mayor producción de biomasa de estas plantas, hipótesis que se encuentra en estudio.

## BIBLIOGRAFIA

- Alonso-Ramírez, A., Poveda, J., Martín, I., Hermosa, R., Monte, E., & Nicolás, C.** (2014). Salicylic acid prevents *Trichoderma harzianum* from entering the vascular system of roots. *Molecular Plant Pathology* 15, 823-831
- Basigalup, D.H.** (2007). El cultivo de la alfalfa en Argentina. Buenos Aires. Ediciones INTA.
- Hermosa, R., Viterbo A., Chet, I. and Monte, E.** (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 158, 17–25.
- Rahman, M., Begum, M. and Alam, M.,** (2009). Screening of *Trichoderma* Isolates as a Biological Control Agent against *Ceratocystis paradoxa* Causing Pineapple Disease of Sugarcane. *Mycobiology*, 37(4), p.277.
- Zhang, F., Xu, X., Huo, Y., & Xiao, Y.** (2019). *Trichoderma*-Inoculation and Mowing Synergistically Altered Soil Available Nutrients, Rhizosphere Chemical Compounds and Soil Microbial Community, Potentially Driving Alfalfa Growth. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03241>