

UTILIZACION DEL ANTAGONISMO DE LOS MICROORGANISMOS EN LA LUCHA BIOLOGICA

Según Snyder, el antagonismo es el conjunto global de las influencias desfavorables que un organismo ejerce sobre otro organismo.

La utilización de tal fenómeno como medio de lucha biológica contra las enfermedades de las plantas está siendo considerada por los fitopatólogos que, dentro de cada biocenosis microbiana, están buscando aquellos microorganismos saprofitos que puedan oponerse a los microorganismos patógenos.

Los mecanismos de acción que un microorganismo antagonista pone en marcha frente a un patógeno son de tres clases: la antibiosis, que es la producción de sustancias perjudiciales al patógeno, por ejemplo, antibióticos; la competencia, que consiste en la utilización preferencial de los factores nutricionales necesarios al patógeno; el parasitismo, que es la acción directa ejercida por el microorganismo antagonista contra el patógeno.

Los modos de utilización del antagonismo son variados y pueden afectar a biocenosis microbianas terrestres y aéreas. Algunos antagonismos son conocidos desde hace mucho tiempo mientras que otros son muy recientes o inéditos. En todos los casos, los patólogos se esfuerzan en encontrarles una aplicación práctica, gracias a los conocimientos que en la actualidad se tienen de la biología y ecología de los microorganismos.

ANTAGONISMOS TERRESTRES

El suelo es un medio heterogéneo y complejo cuyo poder amortiguador es grande, por lo que atenúa las variaciones a que puede someterse. Es, por tanto, difícil poder influirle profunda y durablemente.

Esencialmente seleccionadas por el suelo y su vegetación, las poblaciones microbianas terrestres se agrupan en nichos ecológicos donde el medio ambiente les es favorable. Ejercen entre sí constantes interacciones que les unen con fuerza en una misma comunidad biológica.

Tanto desde el punto de vista físico-químico como desde el microbiológico, el suelo aparece como un medio equilibrado, equilibrio que es a la vez estable y dinámico a través del tiempo. Es necesario tener en cuenta tal circunstancia para poder calcular las posibilidades de empleo del antagonismo.

En este sentido, las actuales investigaciones del INRA se dirigen por tres caminos: aporte al suelo de microorganismos antagonistas; regulación de la microflora terrestre y uso de suelos naturalmente «resistentes».

APORTE DE MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS

El sistema de lucha biológica que primeramente se estudió consiste en añadir al suelo un microorganismo cuyo poder antagonista frente al patógeno que se quiere eliminar ha sido reconocido y experimentado ya, lo más frecuentemente en el laboratorio. La introducción de un microorganismo antagonista es una biocenosis microbiana terrestre en equilibrio, sólo puede conseguirse si se le sustrae, al menos de momento, a la acción de la microflora del lugar mediante una previa desinfección del suelo. También es preciso aportar con el microorganismo un sustrato nutritivo que asegure su mantenimiento.

Por este camino, Bernadette Dubos y J. J. Guillaumin, han buscado el medio de luchar contra la podredumbre producida por *Armillariella mellea*. El antagonismo utilizado contra ella es el hongo *Trichoderma viride*.

Usando macetas, se efectúa la desinfección parcial del suelo con bromuro de metilo o sulfuro de carbono con lo que se reduce la microflora terrestre, se debilita el patógeno y se estimula el antagonista que, cultivado sobre granos de cebada, se incorpora al suelo. El *T. viride* es capaz de invadir con rapidez los fragmentos leñosos enterrados en el terreno y colonizados por *Armillaria*. El *T. viride* des-

truye más o menos completamente el micelio del hongo patógeno y actúa sobre la iniciación de los rizomorfos, aunque no sobre su crecimiento cuando ya están formados. Por lo tanto, ejerce un típico efecto de reducción de la infección en su fase de iniciación.

Es difícil valorar el efecto de esta reducción del inóculo sobre el desarrollo de una enfermedad. Sin embargo, se puede afirmar que esta reducción tiene mucho más efecto en el suelo para un hongo cuya propagación se realiza por rizomorfos que en el aire con un hongo patógeno que produzca muchas esporas.

Como consecuencia de sus estudios en condiciones controladas, estos investigadores franceses han montado una red de ensayos en pleno campo, cuyos primeros resultados hacen pensar que la eliminación de la podredumbre causada por *Armillaria* no será total, pero que se puede conseguir una gran disminución de los focos de la enfermedad. Con esta perspectiva prosiguen sus investigaciones según el plan de combinar la desinfección del suelo y el aporte de un microorganismo antagonista.

Con este mismo hongo, *T. viride*, J. M. Oliver y sus colaboradores, tratan de combatir el *Verticillium malthousei* en los cultivos del champiñón. Este patógeno puede manifestarse a partir de la segunda recogida de champi-

ñones, reduciendo mucho la cosecha y limitando la duración del cultivo.

Las especiales condiciones del cultivo del champiñón permiten utilizar el microorganismo antagonista sin previa desinfección del suelo. Espolvoreado el *T. viride* después de la segunda recogida sobre la tierra de cobertura, a razón de 10^{10} propágulos/m² se consigue una protección del cultivo de champiñón comparable a la que hoy día se obtiene con una pulverización de benomilo a la dosis de 0,375 gramos/m².

Este resultado ha llevado a recomendar la utilización de un preparado comercial de *T. viride* recientemente autorizado de modo provisional. La técnica recomendada consiste en efectuar una aplicación de benomilo cinco días después de la cobertura, para estimular la fructificación y a continuación hacer uno o varios tratamientos con *T. viride*, según que el cultivo de champiñón sea «lento» o «forzado».

De la misma manera P. Davet y A. Beyries han estudiado la lucha contra *Sclerotinia minor* en la lechuga, mediante la utilización de un hongo parásito de los esclerocios. Los primeros resultados obtenidos son muy buenos, pero queda por averiguar si el hiperparásito puede resistir a la microflora de los suelos hortícolas.



El hongo *Armillariella mellea* que causa la podredumbre de las raíces figura entre las especies que pueden ser combatidas por el *Trichoderma viride*.

REGULACION DE LA MICROFLORA TERRESTRE

Otro camino consiste en buscar la manera de estimular la acción natural de los grupos microbianos ya existentes en el suelo y susceptibles de impedir la acción de los organismos fitopatógenos. Simultáneamente, es preciso hacer pasar a los microorganismos patógenos a un estado de mayor susceptibilidad a los efectos de los antagonistas.

Según este método, los investigadores B. Jouan y J. M. Lemaire están efectuando ensayos en macetas para controlar el mal de pie del trigo y la rizoctonia de la patata. El estado sanitario de las plantas cultivadas en macetas, cuya tierra se ha infestado artificialmente, se encuentra modificado por la previa incorporación a este suelo de diversos sustratos. La gelatina, que, en general, favorece el desarrollo de los actinomicetos y bacterias, reduce mucho los ataques del mal de pie del trigo, aumentando el ahijado y la vegetación. Por el contrario, el almidón favorece a todos los hongos, y además agrava los daños de *Cercospora herpotrichichoides* y *Ophiobolus graminis*. En relación con *Rhizoctonia solani* se ha visto que algunos sustratos, como la glucosa, la celulosa y la gelatina, mejoran el estado sanitario de los tubérculos. La mezcla de glucosa y celulosa es la que, por sinergia, proporciona una mayor eficacia (95 por 100 de los tubérculos sanos).

Los resultados obtenidos en las macetas se han confirmado en el terreno. Los ensayos efectuados para el control del mal de pie, han evitado perfectamente la enfermedad mediante un tratamiento de gelatina a la dosis de 100 a 200 kg./ha. Sin embargo, la generalización de este método de lucha biológica necesita aún estudios que lo complementen ya que la descomposición de los sustratos que se añaden

y, en consecuencia, sus efectos sobre la microflora terrestre dependen de las características físico-químicas y microbiológicas de los suelos.

Un reciente estudio demuestra que el aporte al suelo de un sustrato como la harina de soja, sólo es eficaz para controlar los daños de *R. solani* cuando la microflora del suelo es rica y variada, sobre todo en bacterias y actinomicetos. Este control se ha conseguido aumentando el pH de los suelos ácidos hasta la proximidad de la neutralidad.

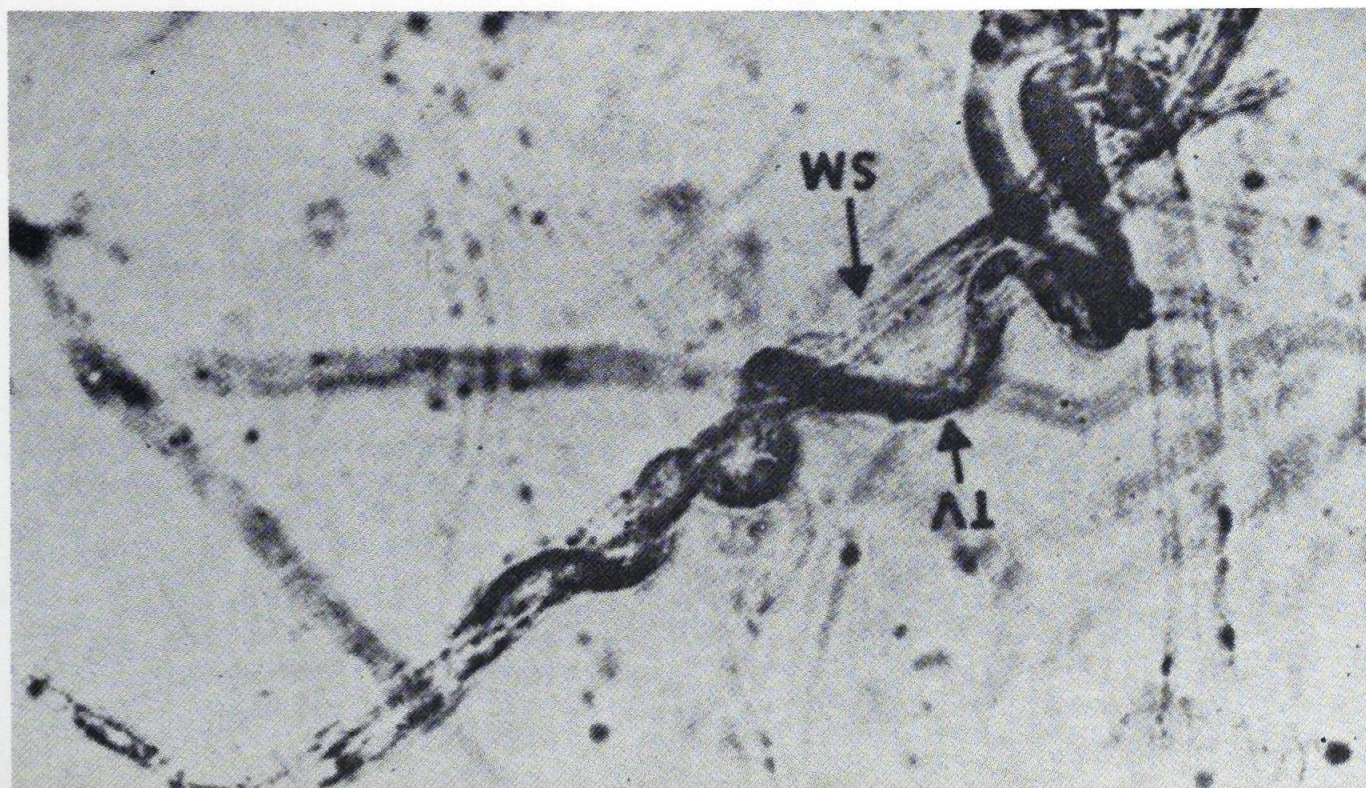
Si se quiere actuar sobre el equilibrio microbiológico de los suelos, el método de lucha mejor y más económico que puede aplicarse a medio plazo en grandes superficies, es la incorporación al suelo de los sustratos apropiados.

SUELOS «RESISTENTES» POR SU PROPIA NATURALEZA

Existen suelos en los que, a pesar de contener una gran cantidad de inóculo de hongos infecciosos, las plantas no manifiestan los síntomas de la enfermedad correspondiente. Recientemente, algunos investigadores han puesto de manifiesto la existencia de suelos que «resisten» a la fusariosis del melón y a la del clavel.

J. Louvet y sus colaboradores han observado una gran resistencia natural a la fusariosis del melón en una parte de los suelos de aluvión de la región de Chateaurenard. Esta resistencia al *Fusarium oxysporum* f. *sp. melonis* es de naturaleza microbiológica, pues eliminando la microflora terrestre mediante distintos procedimientos de desinfección desaparece esta resistencia. Además también se ha observado que es transmisible; la transmisión de la resistencia se obtiene mezclando tierra «resistente» con tierra «sensible».

La existencia de suelos «resistentes» a algu-



Enrollamiento del micelio de *Trichoderma viride* alrededor de una hifa del micelio de *Sphaeropsis malorum*.

nas enfermedades y la posibilidad de transmitir dicha resistencia a otros suelos que no la poseen ofrece un gran interés para la lucha biológica.

Cuadro 1.—TANTO POR CIENTO DE PLANTAS DE MELON SANAS, DESPUES DE DOS MESES DE CULTIVO EN SUELOS SENSIBLES Y RESISTENTES INFESTADOS ARTIFICIALMENTE.

Número de gérmenes de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i> aportados por gramos de tierra	Tanto por ciento de plantas sanas	
	Suelo resistente	Suelo sensible
0	100	100
100	100	15
300	95	0
800	90	0

Los investigadores de Dijon y Antibes están colaborando para comprender mejor el fenómeno de resistencia de los suelos a la fusariosis estudiando los mecanismos a los que se debe esta «resistencia» con el fin de utilizarla en cultivos hortícolas y florales. Estos cultivos, con frecuencia, utilizan técnicas culturales especiales como el cultivo de plantas jóvenes en cepellones y en sustratos fuera del terreno. Por lo tanto, transmitiendo la resistencia a los cepellones y sustratos se pueden conseguir buenos resultados.

Acaban de iniciarse las investigaciones con este campo y, por lo tanto, todas las cuestiones que se presentan para su aplicación práctica todavía no se ha obtenido respuesta. Sin embargo, se prevé que puede llegarse a ello y además con rapidez. Las probabilidades de éxitos descansan en el hecho de que la resistencia de un suelo, cuando existe, es un fenómeno natural debido esencialmente a la actividad de su microflora, bien adaptada ya a las condiciones del suelo.

ANTAGONISMO AEREO

La microflora de los órganos aéreos de las plantas está condicionada, como la microflora terrestre, por la interacción entre el medio ambiente y la planta. Pero en el medio aéreo, los factores abióticos del medio ambiente son más numerosos que en el suelo y, sobre todo, sus variaciones pueden ser bruscas y de gran

amplitud. El efecto amortiguador del medio aéreo es muy pequeño.

Por otra parte, la noción de nicho ecológico es vaga y las poblaciones microbianas conviven o se enfrentan en pequeños espacios, ya que se reducen a la superficie de los órganos vegetales.

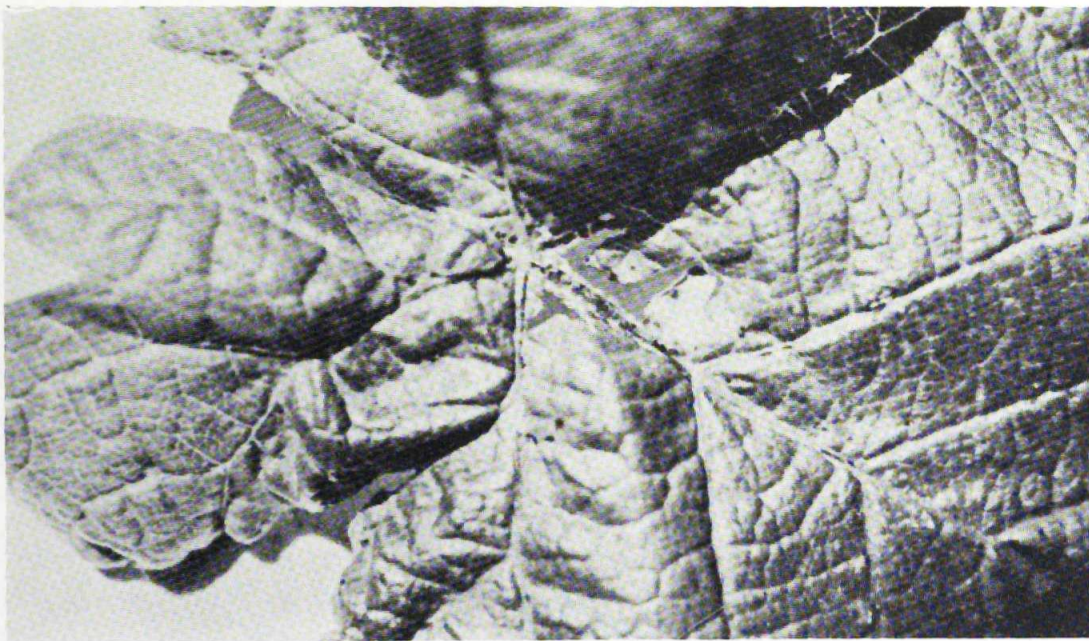
La microflora aérea, por lo tanto, está expuesta a riesgos y su estado de equilibrio es fácil de alterarse; también se ha comprobado que es menos rica y variada que la del suelo. Por todo ello, se puede pensar que es relativamente fácil introducir en ella nuevos elementos antagonistas de algunos patógenos, o de dirigirla en un sentido desfavorable para el desarrollo de los microorganismos patógenos. Sin embargo, la bibliografía de los trabajos relativos al control biológico de los patógenos aéreos es escasa si se compara con la dedicada a los parásitos del suelo, que es muy numerosa. Esta escasez es debida a la espectacular eficacia y facilidad de empleo de los fungicidas, principalmente los fungicidas orgánicos de síntesis.

En la actualidad, los fitopatólogos del INRA están trabajando en investigaciones sobre la protección de las plantas perennes en lo que respecta a la protección de las heridas causadas por la poda y limpieza de la copa y, por otra, en lo que respecta a la lucha contra los patógenos aéreos de la viña.

En los frutales, las heridas de poda y limpieza de los árboles son las puertas por las que entran y se instalan los hongos parásitos. Este es el caso de *Stereum purpureum*, que desencadena la «enfermedad del plomo», muy grave en los árboles frutales de hueso.

C. Crosclaude ha obtenido muy buenos resultados contra la enfermedad del plomo en ciruelos de vivero mediante la aportación sobre las heridas frescas de la poda de una suspensión de 10^6 esporas/ml. de *T. viride*. Esta suspensión entra en los vasos de la madera por aspiración. El desarrollo del microorganismo antagonista en el xilema tiene como secuela la producción de antibióticos, a la vez que el árbol reacciona a la presencia del hongo antagonista con la formación de goma. La doble barrera, química (antibióticos) y física (goma), se oponen a la penetración de *S. purpureum*. El mismo investigador ha ideado un mecanismo de aplicación automática de *T. viride* con la ayuda de unas tijeras de poda.

Después de los aclareos que se efectúan en las repoblaciones de plantas resinosas, los toco-



Hoja y frutos de vid afectados de excoriosis.

nes que quedan pueden contaminarse por *Fomes annosus*, que producen la podredumbre de la madera. Los troncos infestados transmiten la enfermedad de los árboles vecinos a través de las raíces. C. Delatour y sus colaboradores han demostrado el interés que tiene hacer un tratamiento de los tocones en el momento del corte con *Peniophora gigantea*, antagonista del *F. annosus*. Este procedimiento se aplica ahora en Francia como una práctica forestal corriente y también se utiliza en Gran Bretaña.

B. Dubos, prosiguiendo los trabajos de C. Grosclaude ha investigado el posible empleo de *T. viride* en la protección de la vid contra la excoriosis y la podredumbre gris (*Botrytis*).

La excoriosis se manifiesta en los brotes muy jóvenes de la vid al principio de la vegetación. El método clásico de lucha contra esta enfermedad consiste en tratar las cepas atacadas con arsénito sódico, dos o tres semanas antes del desborre. Aplicando un cultivo de *T. viride*, en las mismas condiciones que el fungicida, se obtiene igual resultado.

De la misma manera, contra la podredumbre gris de las uvas, el *T. viride* se comporta igual que la diclofluanida; retrasa la aparición de los primeros focos de podredumbre en el viñedo y puede limitar la extensión de las manchas de *Botrytis*.

Después de cuatro años de colaboración con una sociedad que ha comenzado a formular un fungicida biológico a base de *Trichoderma*, los resultados obtenidos en el viñedo han animado a otro grupo industrial a proseguir e interesarse para producir *T. viride* en cantidad.

CONCLUSION

Las investigaciones que se han efectuado sobre el antagonismo han demostrado que de su utilización se pueden esperar los mismos efectos que con los tratamientos químicos. Estos efectos son: reducción del inóculo del patógeno; desencadenamiento de un mecanismo de resistencia en las plantas; acción preventiva; a veces, acción curativa, etc. Pero los microorganismos antagonistas no pueden tener la misma generalidad de empleo que los fungicidas. Con frecuencia no podrán sustituir a estos más que en los casos concretos que los fitopatólogos tratan de descubrir y determinar. Además, no tienen una eficacia tan intensa.

El aporte directo de microorganismos antagonistas puede tener ya aplicaciones prácticas limitadas (protección de las heridas de poda y de limpieza de los árboles, control de las enfermedades de los champiñones) pero, a corto plazo, pueden ampliarse su campo de acción (protección del viñedo). Pero son, sin duda, la regulación de la microflora de los suelos y la explotación de los factores de la «resistencia» natural los métodos que ofrecen las mayores posibilidades y durante el próximo decenio se debería ver el resultado de las investigaciones emprendidas en este sentido.

Se utilizará cada vez más la lucha integrada, y en ésta se usarán, incluso a veces mucho, los microorganismos antagonistas. Por lo tanto, es preciso proseguir los estudios en este sentido, aún sabiendo que no podrán reemplazar totalmente a la utilización de los fungicidas.

J. BULIT

B. T. I., sept.-oct., 1978