RESUMEN

En la actualidad, el uso de plaguicidas químicos aún resulta necesario para controlar e incrementar los rendimientos agrícolas, pero en los últimos años el uso abusivo de estos productos ha desencadenado una serie de alteraciones medioambientales, que han influido en el deterioro del suelo, la pérdida de biodiversidad, y el aumento de las enfermedades que atacan a los cultivos debido al desarrollo de especies resistentes a los plaguicidas.

Además, los consumidores están preocupándose cada vez más por los efectos directos, indirectos y acumulativos que los plaguicidas tienen sobre la calidad de los alimentos, la salud y el medio natural. Por ello, existe un consenso cada vez mayor, por parte de la comunidad científica, de que los métodos de cultivo basados en el uso de productos químicos de síntesis son insostenibles, y como resultado de ello se están investigando nuevos sistemas más ecológicos para la protección de los cultivos. La concepción actual del control de las enfermedades se basa en la integración compatible, racional y sostenible de todos los sistemas de control disponibles (control cultural, control químico y control biológico). Estos sistemas de control persiguen reducir de modo importante la dependencia de los plaguicidas químicos, y para ello se apoya en la utilización de los métodos de control biológico y en los mecanismos de defensa de las plantas. El esfuerzo que la investigación les dedica se ha incrementado de manera espectacular, y eso se ha empezado a reflejar en el número de agentes de biocontrol disponibles en el mercado o en fase de estudio.

Ante la necesidad de encontrar nuevos métodos que sustituyan a los productos químicos para el control de plagas y enfermedades de los cultivos, una alternativa sería aprovechar las ventajas que ofrecen los hongos como agentes de biocontrol frente a otros sistemas de lucha, bien por ellos mismos o a través de sus metabólicos fúngicos. Por otra parte, está reconocido que el control biológico se produce de forma natural sin intervención del hombre, puesto que las plagas tienen sus antagonistas naturales. Por ello, si se conocen los mecanismos de interacción entre un patógeno y los organismos antagónicos, el control biológico puede mantener el equilibrio entre las poblaciones. Los organismos dificultan la actividad patogénica de otros utilizando una gran variedad de mecanismos de acción como, la antibiosis, la competencia por los nutrientes y el

espacio, y el parasitismo. En ocasiones, no es fácil determinar con precisión los mecanismos que intervienen en las interacciones entre antagonistas y patógenos, pero en general, no tienen un único tipo de acción, y sí el antagonista posee varios de ellos reduce el riesgo de que el patógeno desarrolle sistemas de resistencia; por ello poseer distintos mecanismos les convierte en posibles agentes de biocontrol.

Entre las especies fúngicas con mayor potencial para el control de las enfermedades de las plantas, cabe destacar a los géneros *Penicillium* y *Trichoderma*. La especie *P. oxalicum* ha demostrado ser activa frente a *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, que causa la fusariosis del tomate, y en cuanto a *Trichoderma*, diversos autores han referenciado el comportamiento antagonista de *T. harzianum* frente a otros hongos patógenos de plantas, a través del micoparasitismo como principal mecanismo de acción.

Este trabajo tiene como objetivo la obtención de un organismo de interés para el desarrollo de una agricultura más respetuosa con el medio ambiente, capaz de controlar a los agentes patógenos que causan enfermedades en los cultivos. Y para conseguirlo nos propusimos estudiar "*in vitro*" el comportamiento de las cepas *Penicillium oxalicum* LBVB 1001 y *Trichoderma harzianum* LBVB 1010, con el fin de evaluar su capacidad para competir y dominar bajo determinadas condiciones ambientales de actividad de agua (a_w) y temperatura (T), cuando se enfrentan a distintas cepas fitopatógenas: *Rhizoctonia solani* CECT 2819, *Verticillium dahliae* CECT 2694, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* CECT 2715 y CECT 2866, *Fusarium oxysporum* f.sp. *gladioli* CECT 2867 y CECT 2868.

En primer lugar se estudió la respuesta de las cepas fúngicas a los factores ecofisiológicos en cultivo individual. Posteriormente, en ensayos de crecimiento dual, se evaluó la influencia de dichos factores enfrentando *P. oxalicum* con las cuatro cepas de *F. oxysporum*, así como *T. harzianum* frente a *R. solani*, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* CECT 2715 y *V. dahliae*. Además, basándonos en el Tipo de Interacción que establecen las especies enfrentadas en las interacciones interespecíficas, se calculó el Índice de Dominancia (I_D) para cada una de ellas. Finalmente, los resultados obtenidos nos permitieron determinar la capacidad antagonista de las cepas *P. oxalicum* y *T. harzianum* frente a los agentes fitopatógenos estudiados.

Los resultados del estudio individual de las cepas objeto de este trabajo, a las a_w (0.85, 0.90, 0.95, 0.98 y 0.995) y T (15 y 25ºC) ensayadas, ponen de manifiesto que se produce un incremento en las ratios de crecimiento a medida que la disponibilidad de agua del medio aumenta, situándose el valor máximo de crecimiento cuando la a_w también es máxima (0.995). Sin embargo, en la cepa *P. oxalicum*, las ratios se incrementan al aumentar la a_w hasta 0.98, donde obtiene el óptimo de crecimiento, pero posteriormente éste experimenta un descenso cuando la a_w asciende a 0.995. En todas las cepas ensayadas, se observa una variación de las tasas de crecimiento con la temperatura, siendo la disminución de la temperatura, de 25 a 15ºC, la que ocasiona el descenso del crecimiento fúngico. Destacar que la cepa *V. dahliae* se ha caracterizado por presentar los valores de crecimiento más bajos de todas las cepas analizadas, por el contrario *T. harzianum* ha sido la que mayores ratios ha alcanzado.

La cepa *P. oxalicum*, en las interacciones con las cepas de *F. oxysporum*, obtiene tasas de crecimiento más altas cuando a 25ºC la a_w es igual o menor que 0.98. A la temperatura de 15ºC, *P. oxalicum* es capaz de superar el crecimiento de la cepa 2715 y 2867 de *F. oxysporum* si la a_w es igual o menor que 0.95 y que 0.90, respectivamente. Sin embargo, a 15ºC y a la a_w de 0.95, no se aprecian prácticamente diferencias en las ratios de crecimiento entre *P. oxalicum* y las cepas 2866 y 2868 de *F. oxysporum*.

La cepa *T. harzianum* presenta en los ensayos de crecimiento dual frente a *R. solani* y *V. dahliae*, tanto a 15 como a 25ºC, mayores valores de crecimiento para aquellas a_w en las que las cepas de la interacción crecen en común (0.98 y 0.995), quedando de manifiesto el total predominio de *T. harzianum* sobre las cepas enfrentadas. En la interacción entre *T. harzianum* y la cepa 2715 de *F. oxysporum*, también es *T. harzianum* la que obtiene ratios de crecimiento mayores en casi todas las condiciones ensayadas en las que muestran crecimiento, excepto a la a_w de 0.95 y 15ºC, donde no se observan diferencias entre los valores de crecimiento de las cepas.

El Tipo de Interacción que se origina entre *P. oxalicum* y las cepas de *F. oxysporum*, así como el Índice de Dominancia obtenido para cada una de ellas, ponen de manifiesto que, cuando las condiciones de a_w no superen el valor de 0.95 a 25ºC, la cepa *P. oxalicum* es capaz de inhibir, a distancia o por contacto el crecimiento de las mismas, correspondiéndole valores máximos de de I_D (5 y 4, respectivamente) y con posterior crecimiento a través de sus colonias. Además, ambos parámetros nos demuestran

también el total predominio de *T. harzianum* sobre *R. solani*, *V. dahliae* y *F. oxysporum* cepa 2715, inhibiendo por contacto (I_D de 4) sus crecimientos, cuando en ambas temperaturas la a_w está comprendida entre 0.95 y 0.995, excepto frente a la cepa de *Fusarium*, que a 15ºC y para una a_w de 0.95, ambas especies establecen antagonismo mutuo por contacto, sin predominio de una sobre la otra, y siendo el I_D (valor 2) el mismo para las dos.

Los resultados obtenidos nos permiten concluir que la cepa *T. harzianum* presenta una extraordinaria capacidad antagónica frente a *R. solani*, *V. dahliae* y *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* cepa 2715, por lo que puede ser considerado como un buen agente de biocontrol.

La cepa *P. oxalicum* no presenta unos resultados tan espectaculares como *T. harzianum*, pero no por ello, menos interesantes. Esta cepa nos aporta datos muy útiles al mostrar mayor poder de competencia cuando las condiciones de a_w no son las óptimas para su crecimiento, demostrando que la competitividad entre las especies no está relacionada con el crecimiento. Esta circunstancia es la que le permitirá controlar a las cepas de *F. oxysporum* estudiadas, quedando demostrada también su capacidad antagónica frente a las mismas y su papel como agente de biocontrol.