Comunicación Corta

Antagonismo de seis cepas de *Trichoderma* asperellum Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre *Colletotrichum* spp.

Antagonism of six strains of *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg against *Colletotrichum* spp.

https://eqrcode.co/a/fAcbTW

Danay Infante Martínez*, Denedicto Martínez Coca

Grupo de Fitopatología, Dirección de Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Carretera de Jamaica y Autopista Nacional, Apdo 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto antagónico de seis cepas de Trichoderma asperellum Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre dos aislamientos de Colletotrichum spp., obtenidos de plátano (Musa spp.) y guayaba (Psidium guajava L.). Para ello, se realizó el aislamiento del patógeno. La capacidad antagónica de seis cepas de T. asperellum se determinó evaluando la antibiosis a las 48 h antes del contacto entre ambos hongos y la competencia por espacio (diámetro de las colonias y el porcentaje de inhibición del crecimiento radial del patógeno, a las 96 h) a través de la técnica del Cultivo Dual. La actividad metabólica de Trichoderma fue variable sobre el crecimiento de los aislados del patógeno; no obstante, la cepa Ta.13 ejerció inhibición sobre el crecimiento de ambos patógenos. Las cepas Ta.75, Ta.78 y Ta.90 de T. asperellum se ubicaron en la clase 1 de la Escala de Bell et al., frente al aislado de Colletotrichum spp. de plátano, con excepción del resto. Mientras que, sobre el de guayaba, todas las cepas se ubicaron en la clase 2 de la escala. En general, todas las cepas evaluadas inhibieron en más de 70 % el crecimiento de los aislados del patógeno, con respecto al control; aunque se destacaron algunas con más de 80 % de inhibición del crecimiento de los patógenos. Estos resultados revisten gran importancia desde el punto de vista práctico, ya que Colletotrichum causa grandes pérdidas económicas en poscosecha, en regiones tropicales.

Palabras clave: antagonismo, mecanismos de acción, Trichoderma, Colletotrichum.

ABSTRACT: The present work was aimed at evaluating the antagonistic effect of six strains of *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg against two isolates of *Colletotrichum* spp., insolated from guava (*Psidium guajava* L.) and banana (*Musa* spp.). The antagonistic capacity of the six strains of *T. asperellum* was determined by evaluating the antibiosis at 48 h before the contact between both fungi and competition for space (diameter of the colonies and the percentage of inhibition of radial growth of the pathogen at 96 h) through the Dual Culture method. The metabolic activity of *Trichoderma* was variable on the growth of the isolates of the pathogen; however, the strain *Ta.*13 exerted inhibition on growth of both pathogens. The strains *Ta.*75, *Ta.*78, and *Ta.*90 of *T. asperellum* were located in class 1 of the Bell *et al.* scale, against the isolate of *Colletotrichum* spp. from banana, with the exception of the rest. Regarding the guava isolate, all strains were placed in class 2 of the scale. In general, all strains evaluated inhibited growth of pathogen isolates in more than 70 %, with respect to the control, although some strains stood out with more than 80 % inhibition of the pathogen growth. These results are of great importance from the practical point of view, since *Colletotrichum* causes great economic postharvest losses in tropical regions.

Key words: antagonism, action mechanisms, *Trichoderma*, *Colletotrichum*.

*Autor para correspondencia: Danay Infante Martínez, correo electrónico: danay@censa.edu.cu

Recibido: 17/07/2020 Aceptado: 05/10/2020

Colletotrichum es un hongo de distribución cosmopolita, con predominancia en regiones tropicales y subtropicales (1). El género incluye a más de 100 especies patógenas, responsables de causar la antracnosis, por ello, es esencial identificar las especies para diseñar un mejor manejo de la enfermedad (2). Su agente causal se identifica, en su estado asexual, Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Sacc. y, en su estado sexual, como Glomerella cingulata (Stonem.) Spauld. & Schrenk. A pesar de que ambas especies pueden ser encontradas afectando conjuntamente, *C*. gloeosporioides considerada la especie más desafiante, ya que afecta una amplia gama de hospedantes, en comparación con otras especies del género (3).

En Cuba, la enfermedad se encuentra ampliamente distribuida en todas las áreas donde se cultivan frutales, provoca afectaciones en el follaje, inflorescencias y, fundamentalmente, en frutos, debido a que el hongo encuentra las condiciones óptimas para su desarrollo.

El manejo de esta enfermedad es muy dificil, dado a que su fase inicial ocurre en frutos inmaduros, en los que permanece quiescente en la cutícula de la cáscara hasta que los niveles de dieno (compuesto antifúngico presente en la epidermis del fruto) disminuye con la maduración del fruto, la enfermedad se manifiesta de forma acelerada y trae consigo pérdidas hasta de 100 % (4). Por esta razón, el control de la enfermedad debe realizarse en todo el proceso productivo y de poscosecha.

Pese a que se usan diferentes tácticas para su manejo (5), el uso de agroquímicos en precosecha o poscosecha es común en el control de la enfermedad (6), a pesar de lo costoso y perjudicial que es para el medio ambiente y la salud humana, además de provocar resistencia en los microorganismos. Debido a esto, se ha hecho necesaria la búsqueda e introducción de nuevas alternativas de manejo amigables con el ambiente. En este sentido, en la actualidad se investigan cepas de Trichoderma spp. con mecanismos de acción (competencia por sustrato o espacio, antibiosis v el micoparasitismo), que pueden incorporarse al manejo de este fitopatógeno (7) y qué, además, podrían tener otros efectos de acción indirecta (<u>8</u>).

El Laboratorio de Micología Vegetal del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) dispone de un grupo de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg, identificadas y caracterizadas morfofisiológica, patogénica y molecularmente, que se destacan por su acción biorreguladora sobre diversos agentes fitopatógenos de diferentes cultivos de interés económico (9,10,11).

Por lo antes expuesto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la capacidad antagónica de seis cepas de *T. asperellum* sobre aislamientos de *Colletotrichum* spp. de diferentes cultivos.

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Micología Vegetal (LMV) del CENSA (Latitud 22,991867 y Longitud -82,153892), ubicado en el municipio San José de las Lajas, provincia Mayabeque, Cuba.

Se analizaron frutos afectados (con manchas onduladas oscuras). Se lavaron con abundante agua corriente durante 20 min, se desinfectaron con alcohol al 70 % por 5 segundos e hipoclorito de sodio (1 %) durante 1 min. Entre cada desinfección se realizaron tres lavados con agua destilada estéril y seguidamente, para eliminar el exceso de agua, se secaron en papel absorbente estéril (12). Posteriormente, se realizaron cortes de tejido enfermo y sano, se colocaron en cámara húmeda (en placas Petri de 150 mm de diámetro (Ø) con papel de filtro humedecido, esterilizado con anterioridad) y se observaron diariamente hasta la aparición de las estructuras fúngicas (acérvulos). Se realizaron preparaciones fijas y se observaron al microscopio óptico Zeiss (aumento corroborar la 400x) para presencia Colletotrichum.

Seguidamente, se procedió a realizar la siembra de los acérvulos en placas Petri (90 mm = Ø) contentivas de medio Papa Dextrosa Agar (PDA) (Biocen) y cloranfenicol (0,01 g.L-1) y se incubaron a 28°C±2°C en oscuridad. Las colonias crecidas se purificaron mediante pases sucesivos en el mismo medio, hasta obtener colonias puras. Posteriormente, se sembraron fragmentos de las colonias en frascos de 10 ml contentivos de medio PDA (Biocen) en forma de cuña, y se incubaron por 10 días, en igual condiciones a las descritas anteriormente. Todos los aislados se conservaron a 4°C en el cepario del LMV del CENSA.

Bajo condiciones asépticas, se vertieron 15 ml de medio de cultivo Agar agua (AA) al 2 %, en placas Petri (90 mm = Ø). A tubos sembrados con el patógeno crecido durante siete días en cuñas de PDA (Biocen), se le añadieron 10 ml de agua destilada estéril y se homogeneizaron en un agitador Vortex. A cada suspensión, se le determinó la concentración de conidios y se ajustó aproximadamente a 10^s conidios.ml⁻¹. A continuación, se tomó una asada de cada suspensión y se depositó en el centro de las placas contentivas con AA, la cual se dispersó con una espátula de Drigalsky. Las placas se incubaron a 28°C±2°C y oscuridad durante 24-72 h.

Después de este periodo, los conidios solitarios germinados fueron marcados bajo el microscopio óptico Zeiss (aumento 400x), por el reverso de la placa, usando un marcador de punta fina. Con el uso de una aguja de siembra flameada, se transfirió el fragmento de agar, correspondiente al área marcada en el reverso de la placa, a una nueva placa Petri (90 mm = Ø) contentiva con medio de cultivo PDA (Biocen). Finalmente, se incubaron las placas a 28°C±2°C durante siete días en oscuridad, hasta que la colonia creció en toda el área de la placa.

Para la evaluación de la antibiosis y la competencia por el espacio, se desarrolló el método del Cultivo Dual (CD) descrito por Martínez y Solano (13). Se probaron seis cepas de *T. asperellum* (tratamientos) frente a dos aislados de *Colletotrichum* spp. Las condiciones de conservación de los hongos pertenecientes a la colección del LMV del CENSA, antes del CD, fueron las siguientes:

Las cepas de *Trichoderma* en placas Petri (90 mm = Ø) contentivas de Agar Malta (AM) (Biocen), e incubadas a una temperatura de 28°C ±2°C y oscuridad por cuatro días y los aislamientos de *Colletotrichum* spp. (provenientes de tejidos con síntomas en plátano (*Musa* spp.) y guayaba (*Psidium guajava* L.) en placas Petri (90 mm = Ø) contentivas de PDA (Biocen), e incubados en igual temperatura durante siete días.

Para el desarrollo del experimento, se tomaron discos de cinco mm de \emptyset de la periferia de las colonias de ambos microorganismos.

El montaje del CD se realizó en placas Petri $(90 \text{ mm} = \emptyset)$ contentivas en medio PDA (Biocen). Para ello, los discos (cinco mm de Ø) de las cepas de T. asperellum y de los aislados del patógeno se sembraron diametralmente opuestos a cinco mm del borde de la periferia de la placa Petri (90 mm = \emptyset), contentivas de medio PDA (Biocen). Las placas se incubaron a $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y oscuridad, condiciones requeridas para el crecimiento de los aislados del patógeno. Se realizaron tres réplicas por cepa de T. asperellum y se incluyó un control de cada aislamiento de Colletotrichum, los cuales se sembraron en la misma posición que en el CD (sin el antagonista). El crecimiento de ambos hongos se midió con una regla graduada, hasta que uno de los dos (el antagonista o el patógeno) completara el área de la placa. Las evaluaciones se hicieron a partir de las 24 h, dos veces al día (8:00 am y 4:00 pm).

La antibiosis se evaluó por el crecimiento de los aislados del patógeno en el CD antes del momento de contacto entre ambos hongos a las 48 h, respecto al de los testigos (13).

Sobre las mismas placas donde se evaluó la antibiosis, se realizaron las evaluaciones a partir de las 24 h, dos veces al día (8:00 am y 4:00 pm). Se midió el crecimiento micelial lineal de ambos hongos con una regla graduada, hasta que uno de los dos completara el área de la placa.

Las cepas de *T. asperellum* se clasificaron sobre la base de su antagonismo, según la escala de clase referida por Bell *et al.* (14). A las 96 horas, se determinó el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial del patógeno (PICR) según la fórmula de Samaniego *et al.* (15):

$$PICR = (R1 - R2) \div R1 \times 100$$

Donde, R1 es el crecimiento radial del patógeno en el control y R2 es el crecimiento radial del patógeno en enfrentamiento.

Los datos obtenidos en ambos ensayos se analizaron a través de un Análisis de Varianza simple ANOVA y las medias se compararon por, LSD Fisher con un nivel de significación ($p \le 0.05$), mediante el paquete informático estadístico InfoStat Profesional versión 2017 (16).

De manera general, a las 48 horas, cuando aún no hay contacto físico entre ambos hongos, los aislamientos del patógeno mostraron efecto inhibitorio del crecimiento en CD, comparados con el de los controles, basado en la liberación de metabolitos por Trichoderma antes del contacto entre los dos hongos (antagonistapatógeno). La cepa Ta.75 mostró el mayor efecto inhibitorio frente al aislado de Colletotrichum procedentes de guayaba, aunque no mostró diferencias significativas con Ta.1 y Ta.75; mientras que, sobre el aislado de plátano, resultaron efectivas las cepas Ta.17 y Ta.75 en la inhibición de su crecimiento, sin mostrar diferencias estadísticas entre ellas, pero sí con las restantes (Fig. 1 A y B). Estos resultados coinciden con el criterio de que una misma especie de Trichoderma no actúa de la misma manera e intensidad contra distintos patógenos (<u>17</u>).

Trichoderma excreta al medio compuestos (volátiles o no), con efecto fungistático (18,19), que inhiben el crecimiento de hongos patógenos (20), en algunos casos antes del contacto físico (21), y son considerados como antibióticos. En este sentido, Martínez (22) informó que los antibióticos volátiles con efecto fungistático, excretados al medio por el antagonista, debilitan al patógeno y lo hacen más sensible a los metabolitos solubles en el medio.

Este modo de acción de antagonismo, reconocido como antibiosis, pudiera estar asociado a una exoquitinasa extracelular, que provoca la liberación de algunos oligómeros de la pared del hongo diana e induce la expresión de endoquitinasas del micoparásito (23). Al ser estas liberadas, se difunden y hacen que *Trichoderma* comience el ataque al hongo diana, antes del contacto físico entre ellos (24).

Recientemente, Gómez (25) reafirmó que la antibiosis es el mecanismo de control principal de *Trichoderma*, pues sin estar en contacto con el agente fitopatógeno, su efecto biocontrolador es evidente y que, además, las enzimas hidrolíticas que se excretan por este mecanismo favorecen la penetración y el saprofitismo, lo que conlleva a la muerte del hospedante.

Este modo de acción aumenta su relevancia práctica, ya que se plantea que cuando *Trichoderma* coloniza las raíces de las plantas,

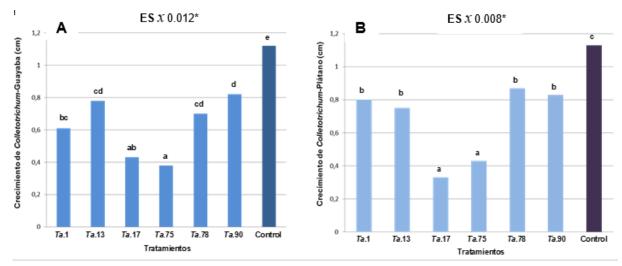
mediante la liberación de compuestos tóxicos a la plaga, puede hacer que la planta escape a la penetración y colonización de la misma o que su daño sea menor. En el follaje, dicho efecto pudiera observarse con la liberación de metabolitos durante el proceso de germinación de las esporas del antagonista, que limitan la germinación o el crecimiento del fitopatógeno (26).

A las 72 horas, las cepas *Ta.*75, *Ta.*78 y *Ta.*90 de *T. asperellum* se ubicaron en la clase 1 de la Escala de Bell *et al.* (14), frente al aislado de *Colletotrichum* spp. de plátano, con excepción del resto. Sin embargo, frente al aislado de *Colletotrichum* spp. de guayaba, todas las cepas de *Trichoderma* se ubicaron en la clase 2 de la escala.

Este aspecto demuestra que el patógeno también ejerce un efecto sobre el antagonista, que retarda su crecimiento. Esta pudiera ser una de las causas por lo que existan algunos aislamientos de Trichoderma que necesiten mayor tiempo para mostrar sus potencialidades en la competencia por el sustrato, como refirieron Sanmartín-Negredo et al. (27), quienes lograron que las cepas de T. asperellum alcanzaran el grado 1 de la escala de Bell et al. frente a aislados del género Colletotrichum, a los 10 días en CD. Los presentes resultados coinciden, además, con los informados por Flores-Bazauri (28), ya que declararon grado 2 para Trichoderma harzianum Rifai sobre C. gloeosporioides, a los tres días en CD.

Este elemento debe tenerse en cuenta para la selección de un antagonista con mayor capacidad biocontroladora sobre patógenos específicos.

En todos los casos evaluados, se evidenció un incremento del área colonizada por *T. asperellum* en el tiempo, frente a los aislados del patógeno. La esporulación de las cepas del antagonista fue abundante sobre las colonias de los patógenos y en la zona periférica del contacto de los dos hongos formaron una "barrera" que limitó el crecimiento de los aislados de *Colletotrichum*; lo anterior se observó macroscópicamente al compararse con los controles, que crecieron en toda el área de la placa. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Siameto *et al.* (29) y Ahmad *et al.* (30), quienes informaron que cepas de *T. harzianum*, en condiciones de CD,



Medias con diferentes letras difieren significativamente, según LSD Fisher (p≤0,05) **Figura 1.** Inhibición del crecimiento radial de *Colletotrichum* spp., en CD a las 48 horas [A_aislado de *Colletotrichum*-plátano] / *Linear growth inhibition of Colletotrichum* spp. in dual culture at 48 hours [A_Colletotrichum guava isolate, B_Colletotrichum banana isolate].

crecieron considerablemente más rápido que los patógenos en estudio.

La elevada competencia por espacio de las cepas de *Trichoderma* se debió, en gran medida, a que tienen mayor velocidad de crecimiento que los aislados de los patógenos. Estos resultados concuerdan con lo planteado por Aceves (31) y Pino (32), quienes afirman que la velocidad de crecimiento de *Trichoderma* es un atributo vital para su acción como antagonista en el control de agentes causales de enfermedades en diversos cultivos, ya que al colonizar con mayor rapidez la zona de la rizosfera y los espacios del suelo, en general, limita o detiene completamente la proliferación del hongo patógeno (33).

El PICR (<u>Tabla 1</u>) ratificó los resultados obtenidos con la escala de Bell *et al.*, porque las cepas de *Trichoderma* inhibieron el crecimiento de los aislamientos de *Colletotrichum* spp. en más de 70 %, respecto a sus controles. Sobresalen cepas con valores de más de 80 % de inhibición del crecimiento de los aislados de *Colletotrichum*, de guayaba (*Ta.*13, *Ta.*17, *Ta.*75, *Ta.*78) y de plátano (*Ta.*1, *Ta.*13, *Ta.*78 y *Ta.*90); mientras que, *Ta.*1 y *Ta.*13 inhibieron el crecimiento de este último en más de 90 %. Estos resultados superan a algunos de los obtenidos por otros autores. Landero-Valenzuela *et al.* (<u>3</u>) obtuvieron una inhibición de 50-60 % y 87,45 %

del crecimiento de Colletotrichum de papaya (Carica papaya L.) con T. harzianum y Trichoderma longibrachiatum Rifai, respectivamente. Sanmartín-Negredo et al. (27), observaron 60 % de inhibición del crecimiento de Colletotrichum con cuatro cepas asperellum. García (34) notificó 60 % inhibición del crecimiento de Colletotrichum spp. frente a Trichoderma spp.; mientras que, Peláez-Álvarez et al. (35), señalaron una inhibición de 91 % del crecimiento de C. gloeosporioides en enfrentamiento con una cepa de T. asperellum, con el uso de una suspensión de esporas de ambos hongos en el ensayo. Por otra parte, De los Santos-Villalobos et al. (36) informaron una inhibición del 80 % del crecimiento de C. frente a una gloeosporioides, cepa de asperellum. Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente ensayo no coinciden con los de De la Cruz-Quiroz et al. (37), quienes informaron una inhibición de 22,5 y 21,9 % del crecimiento de C. gloeosporioides en con T. asperellum enfrentamiento longibranchiatum, respectivamente. Tampoco, con los informados por Ramírez-Olier et al. (38) observar una inhibición total de gloeosporioides con dos cepas nativas de T. asperellum, aunque esta la obtuvieron a los cinco días de cultivo.

Tabla 1. Inhibición del crecimiento radial de *Colletotrichum* spp. frente a las cepas de *T. asperellum*, a las 96 horas / *Linear growth inhibition of Colletotrichum* spp. *against T. asperellum strains at 96 hours*.

Cepas de T. asperellum	PICR de los aislados de Colletotrichum spp.	
	Colletotrichum spp. (guayaba)	Colletotrichum spp. (plátano)
<i>Ta</i> .1	78,59 b	93,23 a
<i>Ta</i> .13	81,79 b	92,05 a
<i>Ta</i> .17	89,46 a	77,94 bc
<i>Ta</i> .75	83,39 ab	76,47 c
<i>Ta</i> .78	81,79 b	82,94 bc
Ta.90	79,87 b	85,29 ab
$ES\overline{x}$	0,01*	0,02*

Medias de tratamientos con diferentes letras en una misma columna difieren significativamente según la Prueba de LSD Fisher ($p \le 0.05$).

Al integrar los resultados de los modos de acción de las cepas de *T. asperellum* frente a los aislados de *Colletotrichum* spp., patógenos de plátano y guayaba, se destacan las cepas *Ta*.17 y *Ta*.75, y la *Ta*.13 como promisorias por su antibiosis y por su elevada capacidad competitiva por espacio, respectivamente. Por ello, las mismas deben ser probadas en experimentos en condiciones semicontroladas y en campo, como posibles agentes para el manejo de estos patógenos, en ambos cultivos.

Estos resultados revisten gran importancia, debido a que las especies del género *Colletotrichum* están entre las principales causantes de pérdidas económicas en poscosecha, pero su origen parte del campo (35).

En este sentido, los resultados con cepas de *T. asperellum* con alto potencial antagónico sobre *Colletotrichum* spp., aislados de ambos cultivos, constituyen los primeros informados para el país.

REFERENCIAS

- 1. Xiao C, Mac S, Legard D. Genetic and pathogenic analysis of Colletotrichum gloeosporioides isolates from strawberry and noncultivated hosts. Phytopathology. 2004; 94: 446-453.
- 2. Crouch J, O'Connell R, Gan P, Buiate E, Torres M, Beirn L, et al. The genomics of Colletotrichum. En: Dean, R. A.; Lichens-Park, A. and Kole, C. (Eds.). Genomics of plant-associated fungi and oomycetes: Monocot pathogens. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. 2014; 69-102.

- 3. Landero-Valenzuela N, Lara-Viveros FM, Andrade-Hoyos P, Aguilar-Pérez LA, Aguado Rodríguez GJ. Alternativas para el control de Colletotrichum spp. Rev. Mex. Cienc. Agríc. 2016; 7 (5): 1189-1198
- Martínez E, Barrio G, Rovesti L, Santos R. Manejo Integrado de Plagas. Manual Práctico. (CNSV), (SSV) del Dpto. de Agricultura, Ganadería y Pesca de Cataluña, España y (GVC) de Italia. 2007. 482 pp.
- Agrios G. Plant Pathology. 5 th edition. Academic Press. New York, U.S.A. 2005. 922
 p.
- Pegg K, Coates L, Korsten L, Harding R. Enfermedades foliares del fruto y el suelo. En Whiley, A.; Schaffer, B.; and Wolstenholme, B. El palto. Botánica, Producción y usos. Ediciones Universitarias de Valparaíso. 2007; 25-45.
- 7. Osorio HE, Hernández CFD, Rodríguez HR, Varela FSE, Estrada DB, López SJA. Actividad antagónica de Trichoderma spp. sobre Rhizoctonia solani in vitro. Investigación y Ciencia. 2019; 24 (67): 5-11.
- 8. Hoyos-Carvajal L, Cardona A, Osorio W, Orduz S. Efecto de diversos aislamientos de Trichoderma spp. en la absorción de nutrientes en frijol (Phaseolus vulgaris L.) en dos tipos de suelo. Rev. Colombiana de Ciencias Hortícolas. 2015; 9 (2): 268-278.
- Infante D, González N, Reyes Y, Martínez B. Evaluación de la efectividad de doce cepas de Trichoderma asperellum Samuels sobre tres fitopatógenos en condiciones de campo. Rev. Protección Veg. 2011; 26 (3): 194-197.

- 10. Infante D, Reyes Y, Peteira B, Martínez B. Variabilidad fisiológica y patogénica de cepas de Trichoderma asperellum Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg. Métodos en Ecología y Sistemática. 2015; 10 (3): 41-52.
- Cruz A, Rivero D, Echevarría A, Infante D, Martínez B. Trichoderma asperellum en el manejo de hongos fitopatógenos en los cultivos de arroz (Oryza sativa L.), frijol (Phaseolus vulgaris L.) y soya (Glycine max L.). Rev. Protección Veg. 2015; 30 (suppl.1): 87.
- 12. Martínez B, Fornet E, Bravo N. Técnicas Generales de Micología Vegetal. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), 1992: 15 p.
- Martínez B, Solano T. Antagonismo de Trichoderma spp. frente a Alternaria solani (Ellis & Martin) Jones y Grout. Rev. Protección Veg. 1995; 10 (3): 221-225.
- 14. Bell K, Wells D, Markham R. In vitro antagonismo of Trichoderma species against six fungal plant pathogers. Phytopathology. 1982; 72: 379-382.
- 15. Samaniego G, Ulloa S, Herrera S. Hongos del suelo antagonistas de Phymatotrichum omnivorum. Rev. Mex. Fitopatología.1989; 8: 86-95.
- 16. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat [programa de cómputo]. Córdoba, Argentina: Universidad Nacional de Córdoba; 2017. Disponible en: http://www.infostat.com.ar/.
- 17. Hoyos-Carvajal L, Chaparro P, Abramsky M, Chet I, Orduz S. Evaluación de aislamientos de Trichoderma spp. contra Rhizoctonia solani y Sclerotium rolfsii bajo condiciones in vitro y de invernadero. Agronomía Colombiana. 2008; 26 (3): 451-458.
- 18. Romero T, López-Pérez A, Ramírez-Lepe M, Cuervo-Parra A. Modelado cinético del micoparasitismo por Trichoderma harzianum contra Cladosporium cladosporioides aislado de frutos de cacao (Theobroma cacao). Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia. 2015; 31 (3): 32-45.
- Hernández O, Castillo D, Herrera R, Fuentes E, Drouaillet E, Santillán A. Actividad antagónica de Trichoderma spp. sobre

- Rhizoctonia solani in vitro. Investigación y Ciencia. 2016; 24 (67): 5-11.
- 20. Martínez B, Fernández L, Solano T. Antagonismo de cepas de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos de la caña de azúcar, tomate y tabaco. Cultivos Tropicales. 1994; 15 (3): 54.
- 21. Hjeljord L, Troonsmo A. Trichoderma and Gliocladium in biological control: an overview. In: Harman GE, Kubice KCP. Edicion. Trichoderma & Gliocladium. Volumen 2. Enzymes, biological control and commercial applications. Taylor & Francis Ltd., London, UK; 1998; 131-151.
- 22. Martínez JT. Uso de Trichoderma para el control biológico de organismos patógenos de plantas. En Memorias del Simposio sobre Agricultura Orgánica y de baja residualidad. Cuauhtémoc, Chih. México; 2 Julio 1998.
- 23. Martínez B, Obret Y, Pérez S, Reyes Y. Antagonismo in vitro de cepas de Trichoderma spp. frente a Sarocladium oryzae (Sawada) W. Gams & D. Hawksworth. Rev. Protección Veg. 2014; 29 (2): 106-111.
- 24. Petri?or C, Paica A, Constantinescu F. Temperature and pH influence on antagonistic potential of Trichoderma sp. strains against Rhizoctonia solani Kühn. Series B, Horticulture 2016; Vol. LX: 275-278. ISSN 2286-1580.
- 25. Gómez M. Biosíntesis del harzianum A y su papel en la fisiología y en la actividad de biocontrol ejercida por Trichoderma arundinaceum. Universidad de León, Dpto. Biología Molecular. Área Microbiología. 2013; 1-307.
- 26. Pérez N. Control biológico de Alternaria porri (Ellis) Cif. en cebolla con Trichoderma spp. p. 89-107. En: L Gomero y Milagros Tazza (eds.), Innovación de Tecnologías Ecológicas para el Agro en América Latina. 2001; Resultados del Primer Congreso Latinoamericano. RAP-AL, Lima, Perú.
- 27. Sanmartín-Negredo P, López X, Pemberthy MP, Granada-Sinar D, Rueda-Lorza EA. Análisis del modo de acción y de la capacidad antagónica de Trichoderma asperellum sobre Colletotrichum gloeosporioides y Fusarium sp. Revista Tumbaga. 2012; 2 (7): 29-49.

- 28. Flores Bazauri WD. Control biológico in vitro de Colletotrichum gloesporioides causante de la antracnosis frente a Clonostachys rosea, Fusarium oxysporum y Trichoderma harzianum. 2016. Disponible en: http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10786.
- 29. Siameto EN, Okoth S, Amugune NO, Chege NC. Molecular Characterization and Identification of Biocontrol isolates of Trichoderma harzianum from Embu district, Kenya. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 2011; 13 (1): 81-90.
- 30. Ahmad I, Bhagat S, Kumar K, Birah A, Tripathi AK, Madhuri K, et al. PCR-RFLP marker based DNA amplified fragments and diversity assessment of Trichoderma spp. from Andaman and Nicobar Islands. J. Mycopathological Research. 2012; 50 (1): 55-59.
- 31. Aceves ACM. Cepas nativas de Trichoderma spp. Euascomycetes: Hypocreales, su antibiosis y micoparasitismo sobre Fusarium subglutinans y Fusarium oxysporum (Hyphomycetes: Hyphales). [Tesis para optar por el grado de Doctor en Ciencias: Área de biotecnología]. Tecoman, Colima, México. 2001
- 32. Pino S. Aislamiento y selección de cepas de Trichoderma provenientes de Colón Provincia Matanzas, para su reproducción en diferentes sustratos. [Tesis presentada en opción al título Académico de Máster en Sanidad Vegetal con Mención en Fitopatología]. La Habana. Cuba. 2008
- 33. Guédez C, Cañizalez L, Castillo C, Olivar R. Evaluación in vitro de aislamientos de Trichoderma harzianum para el control de Rhizoctonia solani, Sclerotium rolfsii y

- Fusarium oxysporum en plantas de tomate. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 2012; 32: 44-49.
- 34. García LA. Evaluación del antagonismo de cepas de Trichoderma spp. frente a cepas de Fusarium spp. y Colletotrichum spp. aisladas de cultivos orgánicos de sábila (Aloe vera) y arándano (Vaccinium corymbosum). Revista TECKNE. 2015; 13 (1): 56-66.
- 35. Peláez-Álvarez A, De los Santos-Villalobos S, Yépez EA, Parra-Cota FI, Reyes-Rodríguez RT. Efecto sinérgico de Trichoderma asperellum T8A y captan 50(r) contra Colletotrichum gloeosporioides (Penz.). Rev. Mexicana de Ciencias Agrícolas. 2016; 7 (6): 1401-1412.
- 36. De los Santos-Villalobos S, Guzmán-Ortiz DA, Gómez-Lim MA, Délano-Frier JP, de-Folter S. Peña-Cabriales JJ. Potential use of Trichoderma asperellum (Samuels, Liechfeldt & Nirenberg) T8a as a biological control agent against anthracnose in mango (Mangifera indica L.). Biological Control. 2013; 64 (1): 37-44.
- 37. De la Cruz-Quiroz R, Roussos S, Rodríguez-Herrera R, Hernández-Castillo D, Aguilar CN. Growth inhibition of Colletotrichum gloesporioides and Phytophthora capsici by native Mexican Trichoderma strains. Karbala International Journal of Modern Science. 2018; 4: 237-243.
- 38. Ramírez-Olier J, Trujillo-Salazar J, Osorio-Echeverri V, Jaramillo-Ciro M, Botero-Botero L. In vitro antagonism of Trichoderma asperellum against Colletotrichum gloeosporioides, Curvularia lunata, and Fusarium oxysporum. Revista UIS Ingenierías. 2019; 18 (2): 159-166.

Declaración de conflicto de intereses: Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses

Contribución de autores: Danay Infante Martínez: Refrescó las cepas de *Trichoderma asperellum*. Efectuó la colecta de muestras de plátano y guayabo con síntomas de antracnosis y realizó el aislamiento del agente causal (*Colletotrichum*) que purificó y preservó. Evaluó el efecto antagónico de las cepas de *Trichoderma asperellum* frente a los aislados de *Colletotrichum* por el método de cultivo dual. Realizo la evaluación, y el análisis estadístico de los resultados. Realizó búsqueda para la redacción del documento y discusión de los resultados. Benedicto Martínez Coca: Participó en el diseño de ambos ensayos. Asesoró en el diseño y montaje de los experimentos para la evaluación del efecto antagónico de las cepas de T. *asperellum*. Participó en el análisis de los resultados. Contribución en la revisión del documento.

Este artículo se encuentra bajo licencia <u>Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC 4.0)</u>