

Biocontrol de cepas de *Trichoderma* spp. frente a aislados de *Fusarium* spp. procedentes de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)



Biocontrol of *Trichoderma* spp. strains against *Fusarium* spp. isolates from beans (*Phaseolus vulgaris* L.) <https://eqrcode.co/a/GjIXqm>

Yanisia Duarte Leal*, Danay Infante Martínez, Benedicto Martínez Coca

Laboratorio de Micología Vegetal. Grupo de Fitopatología, Dirección de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Carretera de Jamaica y Autopista Nacional, Aptado 10, CP. 32700, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: El objetivo del trabajo fue determinar los modos de acción de siete cepas de *Trichoderma asperellum* (Ta.) Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg y un aislado de *Trichoderma* sp. (T. 81), frente a dos aislados de *Fusarium* spp., procedentes de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) de un almacén del municipio Güines, provincia Mayabeque. Se evaluaron la antibiosis, competencia por espacio [porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR)] y el micoparasitismo de las cepas de *Trichoderma*, mediante la técnica de cultivo dual, frente a los aislados de *Fusarium*. Las cepas del antagonista inhibieron el desarrollo de los aislamientos de *Fusarium* (Fs. 1 y Fs. 2) a partir de las 48 h. Las cepas Ta. 13, Ta. 79 y Ta. 90 se destacaron por la inhibición del crecimiento del aislado Fs. 1 y Ta. 13 del aislado Fs. 2. Todas las cepas de *T. asperellum* y el aislado T. 81 se ubicaron en la clase 1 de la escala de Bell *et al.* Los mayores PICR se obtuvieron con las cepas Ta. 56, Ta. 79 y T. 81 con valores por encima del 60 %. Se seleccionaron como promisorias para el control de *Fusarium* spp. en campo a las cepas Ta.13, Ta. 79 y T. 81.

Palabras clave: antagonismo, control biológico, cultivo dual, hongos fitopatógenos.

ABSTRACT: The objective of this work was to determine the modes of action of seven strains of *Trichoderma asperellum* (Ta.) Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg and one isolate of *Trichoderma* sp. (T. 81) against two isolates of *Fusarium* spp. from bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds stored in a warehouse in Güines, Mayabeque province. Antibiosis, competition for space [percentage of radial growth inhibition (PICR)] and mycoparasitism of *Trichoderma* strains were evaluated in front of *Fusarium* isolates by using the dual culture technique. The antagonist strains inhibited the development of the *Fusarium* isolates (Fs. 1 and Fs. 2) after 48 h. The strains Ta. 13, Ta. 79, and Ta. 90 stood out in growth inhibition of Fs. 1 and the strain Ta. 13 in that of Fs. 2. All the strains of *T. asperellum* and the isolate T. 81 were classified in class 1 on the Bell *et al.* scale. The highest PICRs were obtained with the strains Ta 56, Ta. 79 and T. 81 with values over 60%. Ta.13, Ta. 79 and T. 81 were selected as promising strains for the control of this phytopathogen in the field.

Key words: antagonism, biological control, dual culture, phytopathogenic fungi.

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es una de las leguminosas comestibles de mayor consumo a nivel mundial, por ser una fuente significativa de proteínas, vitaminas y minerales en los hábitos alimentarios de poblaciones en América, sobre todo en los países en vías de desarrollo (1).

Este cultivo se afecta por hongos que generan micotoxinas, al contaminar granos y semillas. Según el momento de la contaminación, estos se dividen en dos grandes grupos: hongos de campo (*Fusarium*) y hongos de almacenamiento (*Aspergillus* y *Penicillium*) (2).

Fusarium es uno de los géneros de fitopatógenos más dispersos en Cuba y el mundo, causante de afectaciones en los rendimientos y de la calidad del frijol. Especies de este género producen tres tipos de toxinas: zearalenonas, tricotecenos y fumonisinas (3).

El manejo de este fitopatógeno en campo se realiza, mayoritariamente, con labores preventivas y/o con la aplicación de productos químicos. El control biológico es una alternativa con grandes perspectivas, a fin de disminuir el uso de fungicidas químicos. En la actualidad, las especies del género *Trichoderma* son las más utilizadas para el control de enfermedades en plantas, debido a sus mecanismos de acción eficientes, que limitan el desarrollo de los agentes fitopatógenos (4).

En el Laboratorio de Micología Vegetal, perteneciente al Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), existe un cepario de *Trichoderma* en el que se encuentran, entre otras, cepas de *T. asperellum* (Ta.) Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg, identificadas y caracterizadas. Estas cepas mostraron una elevada actividad metabólica frente a diferentes fitopatógenos (5, 6, 7).

*Correspondencia a: Yanisia Duarte Leal. E-mail: yanisia@censa.edu.cu

Recibido: 16/7/2021

Aceptado: 29/7/2021

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar los modos de acción de siete cepas de *Trichoderma asperellum* (Ta.) Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg y un aislado de *Trichoderma* sp. (T. 81), frente a dos aislados de *Fusarium* spp., procedentes de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) de un almacén del municipio Güines, provincia Mayabeque. El trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Micología Vegetal (LMV) del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), en el municipio San José de las Lajas, provincia Mayabeque, Cuba.

Para ello, se evaluaron siete cepas de *T. asperellum* (denominadas Ta. 13, Ta. 56, Ta. 75, Ta. 78, Ta. 79, Ta. 85 y Ta. 90) y un aislamiento de *Trichoderma* sp. (T. 81), seleccionado por su acción biocontroladora con otros fitopatógenos (8, 9). Los aislados de *Fusarium* spp. (Fs. 1 y Fs. 2) se obtuvieron a partir de muestras de semillas de frijol de un almacén mayorista del municipio Güines, provincia Mayabeque, Cuba. Todos los hongos utilizados en este estudio pertenecen al cepario del LMV. Las cepas de *Trichoderma* se mantuvieron en placas Petri (Ø=90 mm) con medio de cultivo Agar Malta (BioCen), incubadas a 28±2°C y oscuridad constante (incubadora Friocell), durante tres días. Por su parte, los aislados de *Fusarium* (Fs. 1 y Fs. 2) se mantuvieron en placas Petri (Ø=90 mm) con medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) (BioCen) a 25±2°C y oscuridad constante durante siete días.

Se evaluaron los modos de acción: antibiosis, competencia por espacio y micoparasitismo de las cepas del antagonista frente a los aislamientos de *Fusarium* spp., por el método de Cultivo Dual (10). El ensayo se llevó a cabo en placas Petri (Ø=90 mm) con medio de cultivo PDA, incubadas (25°C ±2°C) (incubadora Friocell), y oscuridad constante, favoreciendo el desarrollo de los aislamientos del fitopatógeno. Se utilizaron discos (Ø=6 mm) con tejido micelial obtenido de la periferia de las colonias del antagonista y los aislados de *Fusarium* (Fs. 1 y Fs. 2), sembrados diametralmente opuestos uno del otro, a una distancia

de 5 mm del borde de las placas Petri. Se realizaron tres réplicas por cada tratamiento y se incluyeron tratamientos controles de los aislamientos de *Fusarium* y el controlador biológico de forma independiente.

La antibiosis se determinó mediante la medición del crecimiento radial de la colonia (mm) con una regla graduada de los aislados de *Fusarium*, confrontando el crecimiento de estos en el CD con el de los respectivos controles, antes del contacto hifal entre *Fusarium* y el antagonista.

El efecto antagonístico de las cepas de *Trichoderma* se evaluó según la escala de clase referida por Bell *et al.* (11). Se determinó el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) mediante la fórmula de Samaniego *et al.* (12):

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

Donde:

R1 (crecimiento radial de la colonia del fitopatógeno en el tratamiento control) y

R2 (crecimiento radial del aislamiento fitopatógeno enfrentado al antagonista)

Los datos obtenidos se procesaron mediante un Análisis de Varianza Simple y las medias se compararon según la Dócima de Rangos Múltiples de Duncan ($p \leq 0,05$), utilizando el paquete Estadístico InfoStat Profesional (13).

A partir de las 48 h, antes del contacto físico entre ambos hongos, las siete cepas de *T. asperellum* y el aislado T.81 evaluados, inhibieron el crecimiento de los aislamientos de *Fusarium*, en comparación con los respectivos controles. Las cepas Ta.13, Ta.79 y Ta.90, presentaron la mayor actividad inhibitoria del crecimiento del aislado Fs.1, con diferencias significativas con las restantes. El efecto inhibitorio provocado por la cepa Ta.13 frente a Fs.2 resultó ser el mayor en comparación con las restantes (Tabla 1).

Lo anterior concuerda con lo notificado por Martínez *et al.* (14), quienes refirieron el antagonismo de la cepa Ta. 79 como uno de los más destacados para

Tabla 1. Crecimiento de los aislados de *Fusarium* spp. frente a las cepas de *T. asperellum* y un aislamiento de *Trichoderma* sp. en CD a las 48 h / *Growth of Fusarium isolates in front of strains of T. asperellum and a Trichoderma sp. isolate in DC at 48 h.*

Hongos	Crecimiento (mm)	
	Fs. 1	Fs. 2
Ta. 13	7 a	7 a
Ta. 56	8 b	9 c
Ta. 75	8 b	9 c
Ta. 78	8 b	10 d
Ta. 79	7 a	8 b
Ta. 85	8 b	9 c
Ta. 90	7 a	9 c
T. 81	8 b	10 d
Controles	11 c	10 d
ESx	0,23	0,18

Letras diferentes en las columnas difieren significativamente según Duncan ($p \leq 0,05$).

el control de *Fusarium nygamai* Burgess & Trimboli (F-11), y *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. f. sp. *ciceri* (Padwik) Matuo & K. Sato [(F-50) y (F-51)], patógenos de garbanzo (*Cicer arietinum* L.).

Durante el proceso de crecimiento y desarrollo las cepas de *Trichoderma* excretan numerosos metabolitos secundarios volátiles y no volátiles que participan activamente en la reducción e inhibición del crecimiento de los aislamientos de *Fusarium*, afectando sus estructuras vitales (15). Michel-Aceves *et al.* (16) comunicaron la inhibición de la esporulación en 95 % y de la elongación de las hifas de aislamientos de *F. oxysporum* y *Fusarium subglutinans* (Wollenw. & Reinking) P.E. Nelson, Toussoun & Marasas provocadas por la acción de enzimas producidas por cepas de *Trichoderma*.

En la competencia por espacio, se observó un crecimiento acelerado de las cepas de *T. asperellum*, en comparación con los aislamientos de *Fusarium*. Las hifas del antagonista proliferaron con mayor rapidez reduciendo el área del medio de cultivo para la obtención de nutrientes por los aislados de *Fusarium* para su crecimiento.

De igual forma, Andrade-Hoyos *et al.* (17) confirmaron la ocupación rápida de la mayor parte del área de la placa de tres aislamientos *Trichoderma viride* Persoon, *Trichoderma harzianum* Rifai y *T. asperellum* (C2) frente a *F. oxysporum*.

Las siete cepas de *T. asperellum* y el aislado T. 81 se ubicaron en la clase 1 de la escala de Bell *et al.* (11). Estos resultados son similares a los alcanzados por Duarte *et al.* (18), al ubicar en la clase 1 a 12 cepas de *T. asperellum* que presentaron un crecimiento más rápido que los aislamientos de *Fusarium dlaminii* Marasas, Nelson & Toussoun y *Fusarium solani* (Martius) Appel & Wollenweber emend. Snyder & Hansen, obtenidos de raíz de frijol.

También Sánchez-García *et al.* (19) ubicaron en el grado 1 a siete cepas de *Trichoderma* (Tri-1, Tri-2, Tri-3, Tri-4, Tri-5, Tri-6 y Tri-7), confrontadas con

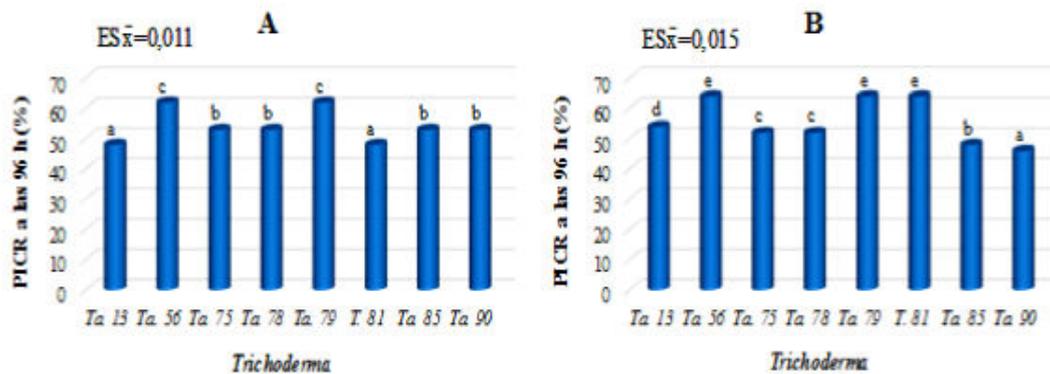
aislamientos de *F. solani* (Fsol-1, Fsol-9), *F. oxysporum* (Foxy-23, Foxy-43) y *Fusarium verticillioides* (Saccardo) Nirenberg (Fvert-4).

En la valoración del PICR se detectó que las cepas Ta.56 y Ta.79 presentaron los mayores porcentajes de inhibición con valores de 62 % para Fs. 1, con diferencias con el resto de las cepas (Fig. 1A). Frente a Fs. 2, se destacaron las cepas antes mencionadas junto a T. 81 con una inhibición de un 64 %, con diferencias significativas respecto a las demás (Fig. 1B).

Duarte *et al.* (20) indicaron el PICR obtenido al enfrentar la cepa de *Trichoderma* sp. (T. 81) con aislados de *Fusarium* spp. (Fmra. 2 y Fmga. 1) procedentes de *Morus alba* Linneo y *Moringa oleifera* Lamarck, con valores de 48-50 % de inhibición del crecimiento de los fitopatógenos. Por su parte, Mokhtari *et al.* (21) informaron el 67 % de PICR al enfrentar a *Trichoderma afroharzianum* Chaverri, Rocha, Degenkolb y Druzhinina con *F. oxysporum* en Rabat, Marruecos. Estudios realizados por Miguel-Ferrer *et al.* (22) notificaron un PICR de 53,3 %, obtenido en el enfrentamiento de la cepa *T. harzianum* Rifai (T-H4) con *F. solani*. Estos resultados indican que un PICR entre 45 y 70 % se considera como aceptable en la relación entre especies de *Fusarium* y de *Trichoderma*.

Al realizar las observaciones microscópicas de la zona de contacto entre ambos hongos en el CD se constató, al menos, un tipo de interacción hifal definida. Todas las cepas de *Trichoderma* ocasionaron granulación y vacuolización del contenido citoplasmático en el micelio de los aislamientos de *Fusarium*. Las mejores cepas con actividad parasítica (penetración) sobre los aislados de *Fusarium* fueron Ta.13, Ta.85 y el aislado T.81 frente a Fs.1, y frente a Fs.2 se destacó Ta.13.

Al integrar los resultados obtenidos de esta investigación, las cepas Ta.13, Ta.79 y T.81 destacan como promisorias para el control de los aislados de *Fusarium*, lo que debe ser comprobado en condiciones de campo.



Medias con letras diferentes difieren significativamente, según Duncan ($p \leq 0,05$).

Figura 1. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de las cepas de *Trichoderma* frente a los aislamientos de *Fusarium*. **A:** Fs. 1 y **B:** Fs. 2 a las 96 h. / Percentage of inhibition of radial growth (PICR) of strains of *Trichoderma* against isolates of *Fusarium*. **A:** Fs. 1 and **B:** Fs. 2 at 96 h.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a los integrantes del Proyecto VLIR-Bélgica "Characterization of fungi and mycotoxins in the bean chain in the province of Mayabeque, Cuba", ejecutado en conjunto con la Universidad de Ghent y financiado por el proyecto internacional VLIR/USO" No CU2018SIN214A103. En especial, al Dr. C. Arturo Escobar Medina y a la Dra. C. Dayana Sosa Pacheco, por su colaboración en la entrega de las muestras de frijol para la obtención de los aislamientos de *Fusarium* utilizados en este estudio.

REFERENCIAS

- De la Fé Montenegro CF, Lamz A, Cárdenas RM, Hernández J. Respuesta agronómica de cultivares de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) de reciente introducción en Cuba. Cultivos Tropicales. 2016; 37(2):102-107.
- Guerrero A, Parreño J. Determinación de micotoxinas por el método de Elisa en soya para aves en producción en la provincia de Chincha. Rev. Soc. Quím. Perú. 2018; 84(1): 27-40.
- Martínez M, Castañares E, Dinolfo MI, Pacheco WG, Moreno MV, Stenglein SA. Presencia de *Fusarium graminearum* en muestras de trigo destinado al consumo humano. Rev Argent Microbiol. 2014; 46(1)41-44.
- Martínez B, Infante D, Reyes Y. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Rev. Protección Veg. 2013; 28 (1): 1-11.
- 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; 30:87.
- Duarte Y, Lamz A, Martínez B. Antagonismo *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a *Sclerotium rolfsii* Sacc. Rev. Protección Veg. 2017; 32(3):1-11.
- Infante D, Martínez B. Antagonismo de seis cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre *Colletotrichum* spp. Rev. Protección Veg. 2020; 35(3):1-8.
- Martínez B, Pérez J, Infante D, Duarte Y, Moreno M. Antagonismo de aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm. Rev. Protección Veg. 2013; 28 (3): 192-198.
- Martínez B, Reyes Y, Infante D, González E, Baños H, Cruz A. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. Rev. Protección Veg. 2008; 23 (2):118-125.
- Martínez B, Solano T. Antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *Alternaria solani* (Ellis y Martin) Jones y Grout. Rev. Protección Veg. 1995; 10(3):221-225
- Bell K, Wells D, Markham R. *In vitro* antagonismo of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology. 1982; 72: 379-382.
- Samaniego G, Ulloa S, Herrera S. Hongos del suelo antagonistas de *Phymatotrichum omnivorum*. Rev. Mex. Fitopatología. 1989; 8:86-95.
- Di Rienzo J, Balzarini M, González L, Tablada M, Guzmán W, Robledo C, et al. InfoStat Profesional versión 2.1. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. 2016.
- Martínez-Coca B, Infante D, Caraballo W, Duarte-Leal, Echevarría-Hernández. Antagonismo de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a aislamientos de *Fusarium* spp. procedentes de garbanzo. 2018; Rev. Protección Veg. 33 (2):1-13.
- Martínez-Padrón HY, Osorio-Hernández EO, Estrada-Drouaillet B, López-Santillán JA, Varela-Fuentes SE, Torres-Castillo JA. Control biológico de fitopatógenos mediante aislados de *Trichoderma*. Agroproductividad. 2017; 10 (3): 9-14.
- Michel-Aceves AC, Otero-Sánchez MA, Rebolledo-Domínguez O, Lezama-Gutiérrez R, Ochoa-Moreno ME. Production and antagonistic effect of chitinases and glucanases from *Trichoderma* spp. in the inhibition of *Fusarium oxysporum* y *Fusarium subglutinans*. Revista Chapingo Serie Horticultura. 2005; 11:273-278.
- Andrade-Hoyos P, Luna-Cruz A, Osorio-Hernández E, Molina-Gayosso E, Landero-Valenzuela N, Barrales-Cureño HJ. Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs. hongos asociados a la marchitez de chile. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 2019;10 (6): 1259-1272.
- Duarte-Leal Y, Pozo-Martínez L, Martínez-Coca B. Antagonismo *in vitro* de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a aislados de *Fusarium* spp. Rev. Protección Veg. 2018; 33 (1):1-10.
- Sánchez-García BM, Espinosa-Huerta E, Villordo-Pineda E, Rodríguez-Guerra R, Mora-Avilés MA. Identificación molecular y evaluación antagónica *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre hongos fitopatógenos de raíz en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Montcalm. Agrociencia. 2017; 51: 63-79.
- Duarte Y, Martínez B. Nuevos aislados de *Fusarium* procedentes de *Morus alba* Linneo y *Moringa oleifera* Lamarck. *Trichoderma* como un posible control. Rev. Protección Veg. 2021; 36(1): 1-8.

21. Mokhtari W, Chtaina N, Halmschlager E, Volgmayr H, Stauffer C, Jaklitsch W. Potential antagonism of some *Trichoderma* strains isolated from Moroccan soil against three phytopathogenic fungi of great economic importance. Rev. Mar. Sci. Agron. Vét. 2017; 5 (3):248-254.
22. Miguel-Ferrer L, Romero-Arenas O, Andrade-Hoyos P, Sánchez-Morales P, Rivera-Tapia JA, Fernández-Pavía SP. Antifungal activity of *Trichoderma harzianum* and *T. koningiopsis* against *Fusarium solani* in seed germination and vigor of Miahuateco chili seedlings. Mexican Journal of Phytopathology. 2021; 39(2): 228-247.

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no poseen conflicto de intereses.

Contribucion de los autores: **Yanisia Duarte Leal:** realizó el aislamiento, purificación y conservación de los aislamientos de *Fusarium*. Refrescó las cepas de *Trichoderma*. Evaluó la actividad antagónica de las cepas de *Trichoderma* frente a los aislamientos de *Fusarium* por el método de cultivo dual. Realizó la búsqueda de bibliografía referente al tema, el análisis estadístico de los datos, redacción del artículo, y la discusión de los resultados. **Danay Infante Martínez:** participó en la evaluación de los resultados. **Benedicto Martínez Coca:** participó en el análisis estadístico de los resultados, búsqueda de bibliografía referente al tema, en la redacción y revisión crítica del artículo, así como en la aprobación final.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)