

Aislamiento, identificación y evaluación de cepas autóctonas de *Trichoderma* spp. antagonistas de patógenos del suelo



“Isolation, identification, and evaluation of indigenous strains of *Trichoderma* spp. as antagonistic fungi of soil pathogens”

<http://opn.to/a/4herH>

Luz María Samaniego-Fernández^{1*}, Maimouna Harouna¹, Odalys Corbea², Ana Julia Rondón-Castillo¹, Iraní Placeres-Espinosa¹

¹Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Matanzas, Cuba. Autopista a Varadero Km 31/2 CP: 44740

²Aeropuerto Internacional “Juan Gualberto Gómez”, Matanzas, Cuba. Autopista a Varadero Km 31/2 CP: 44740

RESUMEN: Con el fin de aislar, identificar y evaluar cepas autóctonas de *Trichoderma* spp. de la provincia Matanzas, Cuba, se realizó una prospección en dos agroecosistemas con suelo ferralítico rojo; a partir de uno de ellos, se aislaron e identificaron tres cepas autóctonas de este hongo. Mediante la técnica de cultivo dual se evaluó el antagonismo *in vitro* de las especies autóctonas obtenidas y de las especies de referencia *Trichoderma harzianum* Rifai 3(A-34)2 y *Trichoderma viride* Persoon 5(TS-3)1 contra los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia solani* Kühn, *Fusarium* spp. y *Sclerotium rolfsii* Sacc., causantes de enfermedades en cultivos agrícolas de la provincia. Se determinaron el crecimiento lineal diario (radios de las colonias), la velocidad de crecimiento y el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de los antagonistas. Sus valores se procesaron mediante Análisis de Varianza Simple. Las cepas autóctonas de *Trichoderma* aisladas e identificadas fueron *Trichoderma* 2T-aislado, *T. harzianum* 6(A-53)2 y *T. viride* 4(TS-3)1, de las cuales, *Trichoderma* 2T-aislado resultó el antagonista *in vitro* más eficiente contra los tres hongos fitopatógenos, seguida de *T. viride* 4(TS-3)1 (biocontrolador de *R. solani* y *S. rolfsii* y con menor capacidad antagónica contra *Fusarium* spp.) y *T. harzianum* 6(A-53)2. Entre las cepas de referencia, *T. harzianum* 3(A-34)2 presentó el mayor antagonismo contra estos hongos. Tanto las cepas autóctonas como las de referencia, presentaron diferentes niveles de actividad antagónica *in vitro* contra los fitopatógenos.

Palabras clave: antagonismo, competencia, control biológico, micoparasitismo, *Trichoderma*.

ABSTRACT: A survey was carried out in two agroecosystems with a red ferralitic soil in the province of Matanzas, Cuba, to isolate, identify and evaluate autochthonous strains of *Trichoderma* spp. From only one of the ecosystems, three autochthonous strains of this fungal species were isolated and identified. The *in vitro* antagonism of the autochthonous species obtained and of the reference species *Trichoderma harzianum* Rifai 3 (A-34) 2 and *Trichoderma viride* Persoon 5 (TS-3) 1 against the phytopathogenic fungi *Rhizoctonia solani* Kühn, *Fusarium* spp., and *Sclerotium rolfsii* Sacc., causal agents of crop diseases in the province, was evaluated using the dual culture technique. The daily linear growth (colony radii), growth rate and percentage of radial growth inhibition (PICR) of the antagonists were determined. Their values were processed by Simple Variance Analysis. *Trichoderma* autochthonous strains isolated and identified were *Trichoderma* 2T-isolate, *T. harzianum* 6 (A-53) 2 and *T. viride* 4 (TS-3) 1, of which, *Trichoderma* 2T-isolate was the most efficient *in vitro* antagonist against the three phytopathogenic fungi, followed by *T. viride* 4 (TS-3) 1 (biocontroller of *R. solani* and *S. rolfsii* and with less antagonistic capacity against *Fusarium* spp.) and *T. harzianum* 6 (A-53) 2. Among the reference strains, *T. harzianum* 3 (A-34) 2 presented the greatest antagonism against these fungi. Both autochthonous and reference strains showed different levels of *in vitro* antagonistic activity against the phytopathogens.

Key words: antagonism, competition, biological control, micoparasitism, *Trichoderma*.

*Autor para correspondencia: Luz María Samaniego-Fernández. E-mail: luz.samaniego@umcc.cu

Recibido: 03/10/2017

Aceptado: 26/03/2018

INTRODUCCIÓN

Entre los microorganismos antagonistas del suelo, empleados en la agricultura como biocontroladores eficientes de diferentes patógenos, se destacan diversas especies del género *Trichoderma*, como *Trichoderma harzianum* Rifai y *Trichoderma viride* Persoon, capaces de colonizar sustratos rápidamente, desarrollar actividad antagónica contra un amplio rango de agentes fitopatógenos, activar resistencia sistémica inducida en plantas y promover el crecimiento vegetal (1).

Las especies de *Trichoderma* son versátiles, adaptables y de fácil manipulación, lo que permite utilizarlas en el manejo de enfermedades causadas por patógenos fúngicos del suelo en varios cultivos (2). Su presencia en suelos agrícolas y naturales las reafirma como competidores por espacio y nutrientes, capaces de colonizar los sustratos disponibles o sobrevivir, en forma de clamidosporas o conidios, cuando estos son escasos (1).

El empleo de fórmulas comerciales de *Trichoderma* contra hongos fitopatógenos en determinadas regiones agrícolas, sin tener en cuenta las condiciones edafoclimáticas específicas, condujo a un efecto biorregulador no uniforme, inadaptabilidad y baja eficacia de las cepas en las aplicaciones, por lo que es recomendable la búsqueda de aislamientos autóctonos de este hongo, con el fin de encontrar cepas mejor adaptadas a las condiciones donde serán utilizadas para el biocontrol (3).

Rhizoctonia solani Kühn. provoca pudrición de la raíz y el cuello de las plantas de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) y ocasiona pérdidas severas que afectan la calidad y la cantidad de la producción en este cultivo (4). En el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.), la enfermedad causada por este hongo constituye uno de los problemas fitosanitarios más importantes (5). Por otra parte, *Sclerotium rolfsii* Sacc. es un hongo patógeno del suelo, de amplia distribución y capaz de ocasionar pérdidas considerables en diversos cultivos, entre los que se destacan la soya (*Glycine max* L.) y el garbanzo (*Cicer arietinum* L.) y su supervivencia en suelos se relaciona con la formación de esclerocios que permanecen viables por varios años en

condiciones de baja humedad, con amplio rango de pH y temperatura (6).

Las especies de *Fusarium* son agentes causales de enfermedades fúngicas que ocasionan en diferentes cultivos síntomas en raíces, tallos y hojas, tales como pudriciones radicales, pudriciones secas, necrosis del tallo y de las hojas, marchiteces y defoliaciones (7,8). Diversas cepas de *Trichoderma* evidenciaron tener efecto sobre estos tres hongos fitopatógenos (9).

Al evaluar la actividad micoparasítica *in vitro* de 73 aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre dos aislamientos de *Rhizoctonia* provenientes de arroz y de frijol, se encontró que los aislamientos de *T. harzianum* T53 (que constituían el 31,5 % de todos los aislamientos probados de esta especie) resultaron tener antagonismo *in vitro* sobre cinco de los seis aislamientos de fitopatógenos evaluados (10).

Los aislamientos nativos de *Trichoderma* spp. presentaron efecto antagónico sobre *S. rolfsii* aislado de cacahuate, en experimentos de laboratorio, donde el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) varió entre 10 y 94,40 %, en dependencia de la cepa de *Trichoderma* empleada; el aislado Tcn-11 (*T. harzianum*) inhibió el crecimiento del fitopatógeno y evitó su desarrollo en el 80,0 % de la superficie del medio en la placa Petri (11).

La evaluación del efecto antagonista *in vitro* de varios aislados de *Trichoderma* spp. contra *F. oxysporum* (Schlechtend. Fr) f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hans procedente de tomate, mostró mayores valores de PICR (56,92 %) y de porcentaje de inhibición de la esporulación (PIE) (92,11 %) de este fitopatógeno, en comparación con otros aislados biocontroladores en este cultivo, como *Bacillus* sp., por lo que se informa un antagonismo destacado de *Trichoderma* sobre *F. oxysporum*, no solo por la inhibición sino también por la invasión de su crecimiento (12,13).

No existen indicios de que *Trichoderma* sea patógeno sobre alguna planta, lo que lo convierte en un microorganismo de incalculable valor agrícola (14). Un incremento en la disponibilidad de cepas autóctonas de *Trichoderma* spp. permitiría emprender más eficientemente las estrategias de lucha integrada contra diferentes patógenos del suelo en varios cultivos en la

provincia Matanzas. La presente investigación tuvo como objetivo ampliar la disponibilidad y la diversidad de cepas autóctonas de *Trichoderma* spp. mediante su aislamiento, identificación y evaluación *in vitro* a partir de dos agroecosistemas de la provincia.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en dos etapas: I) toma de muestras del suelo, aislamiento e identificación de los aislados; II) evaluación del efecto *in vitro* de los aislados de *Trichoderma* autóctonos de la zona muestreada sobre aislamientos de hongos fitopatógenos *R. solani*, *S. rolfsii* y *Fusarium* spp.

Las muestras de suelo se extrajeron de dos agroecosistemas de los municipios Matanzas y San Miguel de los Baños, de la provincia Matanzas; ambos con suelo ferralítico rojo (15) que no recibieron, históricamente, aplicaciones de medios químicos ni biológicos. Estos fueron:

Agroecosistema Matanzas, consistente en un área boscosa de vegetación muy variada ubicado al norte de la provincia, a 1 km de distancia del río Buey Vaca, 400 m del Ferrocarril Central y 300 m de la Carretera Central (Figura 1) (16). La zona presenta un promedio anual de precipitaciones de 1181 mm. La dirección del viento es de Norte a Oeste.

Agroecosistema San Miguel de los Baños, con dos áreas, una sembrada de pinos (*Pinus cubensis* Griseb) y otra cubierta de marabú (*Dichrostachis cinerea* L.). Esta zona se caracteriza por presentar precipitaciones variables, con incrementos desde

marzo hasta junio. Para la prospección de nuevos aislamientos de *Trichoderma* spp., a partir de muestras de suelo, se utilizó la metodología de Bateman (17).

Del bosque del agroecosistema Matanzas, se tomaron tres muestras de suelo. Del agroecosistema San Miguel de los Baños se tomaron dos muestras de pino (*P. cubensis*) y una de marabú (*D. cinerea*).

Todas las muestras se tomaron a tres profundidades: (a) en la superficie, (b) entre 0 y 10 cm y (c) entre 10 y 15 cm; sumaron en total 18.

En el momento del muestreo, las áreas del agroecosistema Matanzas presentaban 37 % de la capacidad de campo; 4,5 % de materia orgánica y suficiente iluminación; mientras que, en el agroecosistema San Miguel de los Baños, la capacidad de campo fue de 40 %, el por ciento de materia orgánica de 4,2 y la iluminación fue suficiente; todos estos valores fueron cercanos a los informados por otros investigadores (18,19). Los muestreos se realizaron mediante el método de “Bandera Inglesa”. Las muestras tomadas se vertieron, individualmente, en bolsas de nylon, se sellaron y se llevaron al Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal y al Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Matanzas para su conservación en frío, a una temperatura aproximada de 18°C, hasta el momento de su procesamiento, después de registrar todos los datos pertinentes.



FIGURA 1. Mapa satelital de la localidad de Guanábana, municipio de Matanzas. La imagen muestra el área boscosa donde se realizó la colecta de las muestras y sus coordenadas geográficas. / *Satellite map of the locality of Guanábana, Matanzas municipality. The image shows the forest area where the samples were collected and its geographic coordinates.* Fuente: <http://mapasamerica.dices.net/cuba/mapa.php?nombre=Guanabana&id=23634>.

Las muestras de suelo se procesaron mediante la metodología de Sandoval y Stefanova (20), con el empleo de las diluciones decimales seriadas. Se pesó 1 g de suelo y se diluyó en 9 ml de agua destilada estéril para preparar una solución madre, agitando durante varios minutos. A partir de esta se realizaron cuatro diluciones decimales seriadas sucesivas hasta el valor 10^{-4} . De cada dilución (entre 10^{-1} y 10^{-4}) se tomó 0,1 ml para realizar la siembra en placas Petri de 10 cm de diámetro con medio Papa Dextrosa Agar (PDA) ($\text{pH} = 5,6 \pm 0,2$) y se sembraron tres réplicas por dilución por muestra de suelo.

Las placas se incubaron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por siete días para realizar observaciones diarias. De las placas que mostraron mayor crecimiento, al séptimo día se tomó una porción superficial de esporas de las colonias con características similares a *Trichoderma* spp.; se preparó una suspensión de estas y se realizó la siembra en placas con medio Agar Agua. A partir del crecimiento en este medio se tomó, de cada placa, una espora germinada bajo el Microscopio Estereoscópico para lograr los aislados monospóricos que garantizaron la pureza de las cepas. Las colonias puras se pasaron a tubos de ensayos que contenían PDA para su conservación. La identificación de las especies de *Trichoderma* aisladas se realizó según los criterios de Rifai (21), Samuels (22) y Barnett y Hunter (23). Para ello, se prepararon microcultivos de cada muestra y se realizaron observaciones microscópicas con lente objetivo 100X, para un aumento total de 1000 y así apreciar con calidad las características morfológicas de micelio, fíalides, conidióforos, conidios y clamidosporas. Para todos los aislamientos, las cepas obtenidas se separaron en los Grupos 1, 2 y 3, sobre la base de las características morfológicas de las estructuras observadas, la coloración de las colonias, su textura y el mayor o menor diámetro de crecimiento lineal alcanzado en igual tiempo.

Crecimiento lineal micelial de las cepas potencialmente antagonistas de *Trichoderma* spp.

Para determinar el crecimiento lineal micelial de las cepas antagonistas se realizaron siembras por punción de las colonias puras obtenidas de

todos los aislamientos realizados y de las cepas de referencia en el centro de placas Petri con PDA (24). Posteriormente, las placas se incubaron a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ bajo un régimen de luz/oscuridad y se midió diariamente (en cm) el radio de crecimiento de cada colonia durante siete días.

Evaluación del antagonismo *in vitro* mediante la técnica de cultivo dual. Competencia por espacio y nutrientes

Se utilizaron cepas de los hongos fitopatógenos *R. solani*, *S. rolfsii* y *Fusarium* spp. provenientes de papa, soya y tomate, respectivamente, identificadas morfológicamente en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal y depositadas en el cepario de esta institución. De igual modo, se usaron las cepas de referencia de *Trichoderma* 1 [*T. harzianum* 3(A-34)2] y 2 [*T. viride* 5(TS-3)1], del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Matanzas, empleadas en Cuba para el control de *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium* y *Rhizoctonia* (25). La capacidad antagonica de los aislamientos seleccionados e identificados de *Trichoderma*, procedentes del agroecosistema Matanzas y ubicados en los Grupos 1 (*T. harzianum* 6(A-53)2), 2 (*T. viride* 4(TS-3)1) y 3 (*Trichoderma* 2T-aislado), se verificó mediante enfrentamientos duales entre estos y los hongos fitopatógenos antes mencionados, según procedimiento de Morton y Stroube (26). También se enfrentaron contra estos fitopatógenos las cepas de referencia 1 [*T. harzianum* 3(A-34)2] y 2 [*T. viride* 5(TS-3)1].

Para ello, se realizaron con antelación siembras por dispersión sobre PDA de todos los aislamientos de los potenciales antagonistas, de las cepas de referencia y de los fitopatógenos, los que se incubaron a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ bajo un régimen de luz/oscuridad durante 8-16 horas, con el fin de obtener discos de crecimiento de todas las colonias de las diferentes cepas. Posteriormente, se sembró un disco de crecimiento de cada antagonista potencial y de cada cepa de referencia en un lado de las placas, mientras que el lado opuesto se colocaba cada uno de los hongos fitopatógenos, de modo que estos quedaran próximos a los bordes de las placas y equidistantes de antagonistas y cepas de referencia. El esquema general de los enfrentamientos duales se presenta en la [Figura 2](#).

En cada enfrentamiento se utilizaron cinco placas Petri: cuatro con el antagonista y una placa control sin el antagonista. Para analizar el antagonismo de las cepas se tuvieron en cuenta las variables radio de crecimiento del antagonista y radio de crecimiento del patógeno. El índice de antagonismo considerado fue la proporción de invasión del antagonista sobre la superficie del micelio patógeno, según la Escala de Elías *et al.* (27). (Tabla 1)

Determinación del PICR. El PICR de los tres hongos fitopatógenos por las cepas aisladas y de referencia se utilizó para evaluar el antagonismo mediante competencia por nutrientes y espacio entre las cepas de *Trichoderma* y los tres hongos fitopatógenos; se calculó mediante la fórmula de Worasatit *et al.* (28), que a continuación se muestra:

$$PICR = [(D1 - D2) / D1] \times 100$$

donde:

D1 - diámetro de las colonias de los hongos fitopatógenos creciendo en placas Petri con PDA libre de antagonistas.

D2 - diámetro de las colonias de los hongos fitopatógenos creciendo en placas Petri con PDA enfrentadas con las cepas antagonistas.

El experimento se desarrolló bajo un diseño completamente aleatorizado, con 15 tratamientos y tres réplicas por tratamiento, con sus

correspondientes testigos, en los que solamente se sembraron los patógenos. La unidad experimental estuvo representada por una placa Petri con medio PDA, para medir el crecimiento de cada uno de los antagonistas potenciales por placa y de las dos cepas de referencia por placa. Todas las placas con los enfrentamientos y los testigos se incubaron a temperatura de 27°C durante siete días. Las evaluaciones se realizaron diariamente mediante mediciones del radio de las colonias, con el empleo de una regla graduada, hasta que el antagonista y la cepa de referencia llegaron a cubrir el total de la superficie del medio.

Los resultados alcanzados se procesaron mediante un Análisis de Varianza Simple. Las medias del crecimiento lineal se docimaron mediante el Test de Rangos Múltiples de Duncan ($p \leq 0,01$), disponible en el paquete estadístico Statgraphic Plus, Versión 5.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación. A partir de los aislamientos realizados se seleccionaron las colonias que, por sus características morfológicas y culturales, se ajustaron a las descritas para el género *Trichoderma* (21,22,23). Estos aislamientos solo se obtuvieron del agroecosistema Matanzas. En el agroecosistema

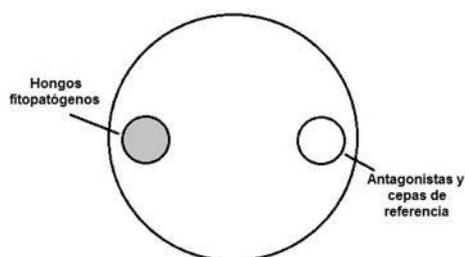


FIGURA 2. Esquema general de los enfrentamientos duales entre las cepas antagonistas del Agroecosistema Matanzas, las cepas de referencia y los hongos fitopatógenos. / *General scheme of the dual clashes between the antagonistic strains from Matanzas Agroecosystem, the reference strains and the phytopatogenic fungi.*

TABLA 1. Escala de Elías *et al.* (27) para la evaluación del antagonismo *in vitro*. / *Elías et al.* (27) scale for the evaluation of *in vitro* antagonism.

GRADO	CAPACIDAD ANTAGÓNICA
0	Ninguna invasión de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno
1	Invasión de ¼ de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno
2	Invasión de ½ de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno
3	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno
4	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo fitopatógeno; esporulación sobre esta

San Miguel de los Baños no se presentaron colonias con dichas características. Según sus caracteres morfológicos y culturales, todos los aislamientos de *Trichoderma* se identificaron en tres grupos, que se describen a continuación y se ilustran en las Figuras 3, 4 y 5.

Grupo 1. Identificado como *T. harzianum*, según criterios de varios autores (21,22,23) y con las siguientes características morfológicas: Hifas septadas, de 7-10 µm de ancho; conidios ovalados, unicelulares, de color verde, de 4-5 µm de diámetro, en conidióforos hialinos ramificados; fiálides sencillas o en grupos; clamidosporas unicelulares. Las características culturales de sus colonias se observan en las Figuras 3 y 4.

Grupo 2. Identificado como *T. viride*, según criterios de varios autores (21,22,23) y con las siguientes características morfológicas: Hifas septadas, de 6-9 µm de ancho; conidios unicelulares ovalados, de color verde, de 3-5 µm de diámetro, en conidióforos hialinos ramificados; fiálides en grupos; clamidosporas

unicelulares. Las características culturales de sus colonias se observan en la Figura 5.

Grupo 3. Identificado como *Trichoderma* 2T-aislado, según criterios de Rifai (21), de características morfológicas diversas y con tendencia a la incertidumbre, por lo que sus integrantes solo pudieron identificarse en la categoría de género.

Las cepas con caracteres morfológicos bien definidos y mayor crecimiento radial en medio de cultivo PDA fueron: *T. harzianum* 6(A-53)2 en el Grupo 1; *T. viride* 4(TS-3)1 en el Grupo 2 y *Trichoderma* 2T-aislado en el Grupo 3.

Crecimiento lineal micelial de las cepas potencialmente antagonistas de *Trichoderma* spp.

T. harzianum 3(A-34)2 y *Trichoderma* 2T-aislado presentaron las mejores respuestas, con los mayores crecimientos lineales miceliales promedio (Fig. 6) y un comportamiento similar en cuanto a su crecimiento y desarrollo en medio de cultivo PDA. Las diferencias altamente significativas ($p \leq 0,01$) de ambas cepas con las restantes y sus mayores valores de crecimiento



FIGURA 3. Colonias aisladas de *Trichoderma harzianum* obtenidas a partir del análisis microbiológico de muestras de suelo. / *Trichoderma harzianum* colonies isolated from the microbiological analysis of soil samples.

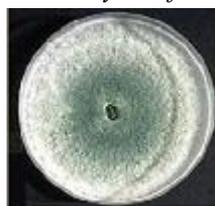


FIGURA 4. Características culturales de un cultivo puro de *T. harzianum* en medio PDA a las 96 horas de incubación / *Cultural characteristics of T. harzianum* pure culture on PDA medium after 96 hours of incubation



FIGURA 5. Características culturales de los aislamientos de *T. viride*. / *Cultural characteristics of T. viride* isolates.

lineal micelial en PDA (Fig. 6), reafirman la facilidad de crecimiento y desarrollo de *Trichoderma* en medios de cultivo apropiados (24). Estos valores también se aproximan a los obtenidos para *T. harzianum* (cepa A-34), del cepario de mantenimiento del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Las Tunas (LPSVLT) (29) e indican sus ventajas en la competencia por espacio y nutrientes y para ejercer biocontrol por reducción o completa detención del desarrollo micelial de los patógenos estudiados (29).

T. viride 4(TS-3)1 ocupó un segundo lugar en el crecimiento lineal micelial promedio (Fig. 6) y presentó diferencias altamente significativas ($p \leq 0,01$) con el resto de las cepas. *T. viride* 5(TS-3)1 y *T. harzianum* 6(A-53)2 mostraron los menores valores de crecimiento lineal micelial promedio (Fig. 6), sin diferenciarse significativamente entre ambas, pero sí ($p \leq 0,01$) con el resto de las cepas. *T. harzianum* 6(A-53)2 muestra aquí un comportamiento que difiere de la cepa *T. harzianum* A-53 del cepario del LPSVLT (Fig. 6) (29), lo que puede atribuirse a las características propias de los suelos de diferentes procedencias.

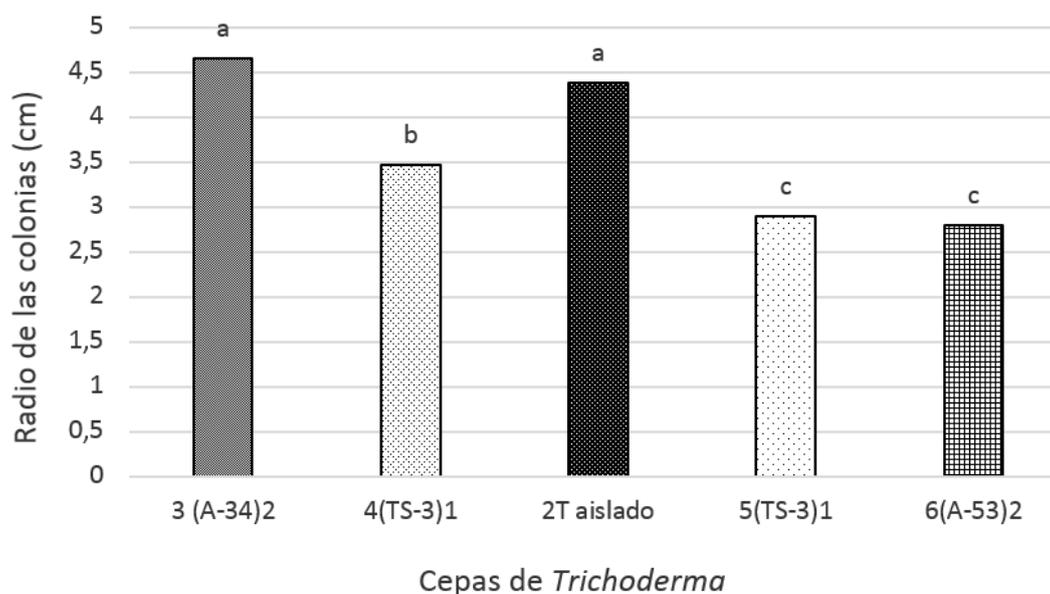
Evaluación del antagonismo *in vitro* mediante la técnica de cultivo dual. Competencia por espacio y nutrientes. Determinación del PICR

A las 96 horas, *Trichoderma* 2T-aislado, *T. harzianum* 6(A-53)2, *T. harzianum* 3(A-34)2 y *T. viride* 5(TS-3)1 mostraron porcentajes de inhibición que no diferían significativamente para *S. rolfsii* y *Fusarium* spp., pero sí con respecto a *R. solani*. Sin embargo, para *T. viride* 4(TS-3)1 los PCIR provocados no presentan diferencias significativas entre los tres patógenos (Fig. 7). En general, los mayores PCIR contra los tres patógenos los mostraron *Trichoderma* 2T-aislado y *T. harzianum* 3(A-34)2.

Resultados similares se observaron al evaluar *in vitro* diferentes aislados de *Trichoderma* contra *R. solani* aislada de piña, los que inhibieron el crecimiento radial de este patógeno en 40-50 % (30) y en el antagonismo de *T. harzianum* contra *S. rolfsii* (26).

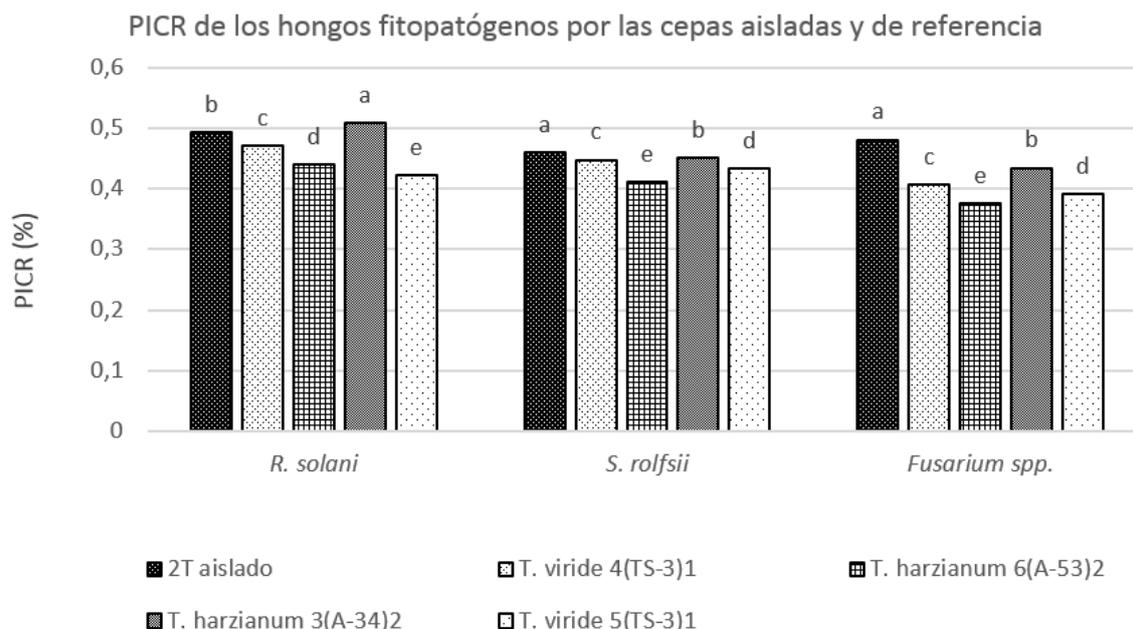
Los enfrentamientos de aislamientos nativos de *T. harzianum* contra *Fusarium oxysporum*, en condiciones *in vitro*, demostraron la represión del crecimiento del patógeno por parte del antagonista (31). Al crecer, el micelio de *Trichoderma* spp. compitió por espacio y nutrientes del medio de cultivo y generó un

Crecimiento lineal micelial promedio de las cepas de *Trichoderma*



Letras desiguales difieren significativamente. Duncan para $p \leq 0,01$. N = 25.

FIGURA 6. Crecimiento lineal micelial promedio (medido en cm) de las cepas de *Trichoderma* spp. a los siete días./ Average linear mycelial growth (measured in cm) of the strains of *Trichoderma* spp. at seven days.



Letras desiguales difieren significativamente. Duncan para $p \leq 0,01$. N= 25.

FIGURA 7. PICR de las cepas de *Trichoderma* aisladas y de referencia contra los tres patógenos / PICR of isolated and reference strains against the three pathogens.

efecto indirecto de reducción del crecimiento radial del patógeno, al ocupar su espacio y extraer los suministros de nutrientes (32). Investigaciones sobre el antagonismo de *T. harzianum* A-34 y *T. harzianum* A-53 frente a *R. solani* aislado de tallo, hojas y raíces afectadas de arroz (*Oryza sativa* L.) permitieron observar que ambos aislados del antagonista mostraron una actividad antagónica elevada y buenas potencialidades de biocontrol contra este patógeno (29). Al tratar *in vitro* con *T. viride* (cepas PDBCTV 23 y 32) semillas de garbanzo afectadas por *R. solani* se observó la más baja incidencia de la enfermedad en las semillas germinadas; resultado que permite corroborar las posibilidades de antagonismo de la cepa *T. viride* 4(TS-3)1 contra el patógeno en cuestión (33). Al enfrentar *in vitro* los aislamientos TWN1, TGN1, TJP1, TWC2 (*T. harzianum*) contra *S. rolfsii*, todos inhibieron el crecimiento micelial de este patógeno en más de 50 % y el aislamiento TWN1 (*T. harzianum*) lo hizo con un por ciento de inhibición altamente significativo (76,3 %) de este patógeno (34).

Finalmente, se aprecia que *T. harzianum* 3(A-34)2 y *Trichoderma* 2T-aislado presentaron las mejores potencialidades para ejercer un buen control *in vitro* sobre los tres patógenos. (Fig. 7)

CONCLUSIONES

- Se aíslan e identifican las cepas autóctonas *Trichoderma* 2T-aislado, *Trichoderma harzianum* 6(A-53)2 y *Trichoderma viride* 4(TS-3)1 a partir de un suelo ferralítico rojo, procedente de un agroecosistema de la provincia Matanzas; *Trichoderma* 2T-aislado resultó el antagonista *in vitro* más eficiente contra los hongos fitopatógenos *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. y *Sclerotium rolfsii*.
- Entre las cepas de referencia, *Trichoderma harzianum* 3(A-34)2 presentó el mayor antagonismo contra los tres hongos fitopatógenos.
- Se demuestra que, tanto las cepas autóctonas como las de referencia, presentaron diferentes niveles de actividad antagónica *in vitro* contra los tres hongos fitopatógenos.

REFERENCIAS

1. Hoyos 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. Agron. Col. 2008; 26: 451-458.

2. Guédez C, Cañizalez LM, 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. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 2012; 32 (1):12.
3. Bale J, Van Lenteren JC, Bigler F. Biological control and sustainable food production. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2008; 363: 761-776.
4. Mendoza C. Enfermedades fungosas de hortalizas. Universidad Autónoma de Chapingo. 1996; Chapingo, Edo. de México, México, 85 pp.
5. Guchi E. Disease management practice on potato (*Solanum tuberosum* L.) in Ethiopia. *World Journal of Agricultural Research.* 2015; 3(1): 34-42.
6. Polanco CD, Castro JL. Estudios sobre el control biológico de *Sclerotium rolfsii*. *Agronomía Tropical.* 2005; 27: 539-547.
7. Espinoza LL, Mendoza C. Etiología de la pudrición de raíz y cuello del chile (*Capsicum annum* L.) ocasionado por el hongo *Phytophthora capsici* en la región de Valseguillo, Puebla, México. *Fitopatología.* 2001; 30: 47-55.
8. Reyes A, Cristóbal J, Ruiz E, Tun JM. Inhibición del crecimiento in vitro de *Fusarium* sp. aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*) con hongos antagonistas. *Fitosanidad.* 2012; 16(3): 161-165.
9. Küçük C, Kivanc M. Isolation of *Trichoderma* spp. and determination of their antifungal, biochemical and physiological features. *Turkish Journal of Biology.* 2003; 27: 247-253.
10. Hoyos L, Duque G, Orduz S. Antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp. sobre aislamientos de *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas.* 2008; 2(1): 76-86.
11. Michel AC, Otero MA, Ariza R, Barríos A, Alarcón N. Eficiencia biológica de cepas nativas de *Trichoderma* spp., en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc., en cacahuate. *Avances en Investigación Agropecuaria.* 2013; 17(3): 89-107.
12. Pérez H, Sanabria N. Control in vitro e in vivo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* con *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. Cursos-foros del XXIII Congreso Venezolano de Fitopatología. Caracas, Venezuela. 2013; [<https://sites.google.com/site/cursosforosdelxxiiicongvenfito/congreso/resumenes-socializados/trabajos-por-instituciones/universidad-central-de-venezuela-ucv>] [Consulta: 15 de abril de 2018].
13. Infante A, Pineda M, Portillo G. *Trichoderma harzianum* Rifai como agente biocontrolador in vitro de enfermedades fungosas asociadas a *Solanum lycopersicum* L. Cursos-foros del XXIII Congreso Venezolano de Fitopatología. Caracas, Venezuela. 2013; [<https://sites.google.com/site/ideafitopatologia2013/home/resumenes-socializados/indice-general-de-resumenes/trichoderma-harzianum-rifai-como-agente-de-biocontrolador-in-vitro-de-enfermedades-fungosas-asociadas-a-solanum-lycopersicum-l>] [Consulta: 15 de abril de 2018].
14. Páez O. Uso Agrícola de *Trichoderma*. 2006; [Disponible en: <http://www.soilfertility.com/trichoderma/espagnol/index.shtml>] [Consulta: 22/5/2016]
15. Hernández A, Pérez JM, Bosch D, Castro N. Clasificación de los Suelos de Cuba 2015. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Instituto de Suelos. Ediciones INCA, Cuba, 2015; 91p.
16. Google Map. Directorio Cartográfico (DICES). 2018; [Disponible en: <http://mapasamerica.dices.net/cuba/mapa.php?nombre=Guanabana&id=23634>] [Consulta: mayo, 2018].
17. Bateman R, Carey M. Metodología para la toma de muestras. *Boletín Técnico* No. 2. Ediciones CABI, Reino Unido, 1995; 21p.
18. Villegas MA. *Trichoderma viride* Pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. *Orius Biotecnología.* Colombia. 2005; [Disponible en: <http://www.oriusbiotecnologia.com/site/16.index.php?id=20,66,0,0,1,0>]. [Consulta: 25/4/2016].

19. Arias M. Hongos antagonistas o micopatógenos. En: Guía de insumos biológicos para el Manejo Integrado de Plagas. Corporación para Desarrollo de Insumos y Servicios Agroecológicos Harmonia (Ed.). 2004; 59-62. ISBN: 958-33-5875-4.
20. Sandoval I, Stefanova M. Efectividad de biopreparados de *Trichoderma* spp. en el control de los hongos fitopatógenos del suelo. Boletín Técnico No. 2. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). La Habana, Cuba. 2000; 22 p.
21. Rifai MA. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological Papers. 1969; 116:1-56.
22. Samuels GJ. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. Phytopathology. 2006; 96(2): 195-206.
23. Barnett HL, Hunter BB. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. (4th Ed). The American Phytopathological Society. 1998; St. Paul, Minnesota, USA. pp. 218.
24. Vero S, Mondino P. Curso de Control Biológico de Enfermedades de Plantas (PEDECIBA Química); Unidad de Fitopatología. Anexo prácticos. 2003. [Disponible en: http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/Curso_CB/Anexo_practicos.html (pp. 3)] [Consulta: 16/02/2017].
25. Stefanova M, Vázquez L. Características y uso de bioplaguicidas contra plagas del suelo. Manual para la Adopción del Manejo Agroecológico de Plagas en Fincas de la Agricultura Suburbana. Ed. Asociación Cubana de Técnicos Azucareros y Forestales (ACTAF). La Habana. 2011; pp. 245-265.
26. Morton DJ, Stroube WH. Antagonistic and stimulatory effects of soil microorganisms upon *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology. 1955; 45: 417-420.
27. Elías RO, Arcos O, Arbeláez G. Estudio del antagonismo de algunas especies de *Trichoderma* aisladas de suelos colombianos en el control de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. Agron. Colomb. 1993; 10:52-61.
28. Worasatit N, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Rowland C. Variation in pyrone production, lytic enzymes and control of *Rhizoctonia* root rot of wheat among single-spore isolates of *Trichoderma koningii*. Mycological Research. 1994; 98:1357-1363.
29. Reyes T, Rodríguez G, Pupo A, Alarcón L, Limonta Y. Efectividad in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai para el biocontrol de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Pyricularia grisea* Sacc. aislados en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). Fitosanidad. 2007; 11 (1): 29-33.
30. Hernández A, Sierra A, Carr A. Evaluación in vitro del antagonismo de especies de *Trichoderma* sobre hongos fitopatógenos que afectan las vitroplantas de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr). Fitosanidad. 2006; 10 (2): 105- 108.
31. Fernández RJ, Suárez CL. Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *passiflorae* en maracuyá (*Passiflora edulis* Sims var. *flavicarpa*) del municipio zona bananera colombiana. Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín. 2009; 62(1): 4743-4748.
32. Caballero AJ, Pocasangre LE, Casanoves F, Avelino J, Tapia AC, Ortiz JL. Uso de aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp. para el biocontrol del *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Mal de Panamá) raza 1 en vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) en condiciones de invernadero. Universitas, 2013; 4 (1): 71-82.
33. Srivastava RK, Prasad RD, Rangeswaran R, Kannan P. Detection and Quantification of Proteins Induced by *Trichoderma* in Chickpea-*Rhizoctonia* System. Plant Disease Research, 2002; 17(2): 252-255.
34. Kumar K, Amaresan N, Bhagat S, Madhuri K, Srivastava RC. Isolation and Characterization of *Trichoderma* spp. for Antagonistic Activity Against Root Rot and Foliar Pathogens. Indian J Microbiol. 2012; 52(2): 137-144.

Los autores de este trabajo declaran no presentar conflicto de intereses.

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/)

La mención de marcas comerciales de equipos, instrumentos o materiales específicos obedece a propósitos de identificación, no existiendo ningún compromiso promocional con relación a los mismos, ni por los autores ni por el editor.