



ACTIVIDAD ANTAGÓNICA *IN VITRO* DE *TRICHODERMA* SP. FRENTE A *FUSARIUM* SP. *IN VITRO* ANTAGONISTIC ACTIVITY OF *TRICHODERMA* AGAINST *FUSARIUM*.

MSC. IRLIADIS URGELLES CARDOZA, LIC. ARLEIS ABREU, LIC. NORAYSI ABREU ROMERO, MSC. AMAURI DÍAZ RODRÍGUEZ,
DRA. YURELKYS FERNÁNDEZ MAURA

Centro de Desarrollo de la Montaña, Guantánamo, Cuba. E-mail: irliadis@cdm.gtmo.inf.cu

Palabras clave: Resumen

Trichoderma sp Las especies de *Fusarium sp* causan enfermedades fúngicas que afectan raíz, tallo y hoja en diferentes cultivos. Por otra
Fusarium sp parte, los hongos antagonistas como *Trichoderma sp*. constituyen una alternativa para el control de hongos fitopatógenos,
antagonista por lo cual, se evaluó la actividad antagonística *in vitro* de *Trichoderma sp* sobre el crecimiento de *Fusarium sp.*, mediante un
ensayo de confrontación dual cada 24 horas en medio Agar Malta. Para los ensayos, se utilizó una cepa de *Trichoderma sp*
aislada de hojas de cacao, determinándose el efecto inhibitorio de la misma sobre el crecimiento de *Fusarium sp*. Como
resultado se obtuvo que la cepa de *Trichoderma sp* inhibió significativamente el crecimiento del hongo fitopatógeno
Fusarium sp.

Key words: Abstract

Trichoderma sp *Fusarium sp* species cause fungal diseases that affect root, stem and leaf in different crops. On the other hand, antagonistic
Fusarium sp fungi such as *Trichoderma sp*. constitute an alternative for the control of phytopathogenic fungi, therefore, the *in vitro*
antagonist antagonistic activity of *Trichoderma sp* on the growth of *Fusarium sp.*, was evaluated by means of a dual confrontation test
every 24 hours in Agar Malta medium. For the tests, a strain of *Trichoderma sp* isolated from cocoa leaves was used,
determining its inhibitory effect on the growth of *Fusarium sp*. As a result, it was obtained that the *Trichoderma sp* strain
significantly inhibited the growth of the phytopathogenic fungus *Fusarium sp*.

Introducción

Los fitopatógenos provocan pérdidas económicas y materiales cuantiosas cuando se presentan condiciones ambientales y de cultivo apropiadas (Agris, 2010). Enfermedades producidas por hongos fitopatógenos como *Phytophthora sp*, *Fusarium sp*, y *Alternaria* entre otros, causan pérdidas severas en la agricultura (Hernández *et al* 2014). Tradicionalmente, para el control de las enfermedades en los cultivos, se aplican productos químicos, pero debido a su composición resultan tóxicos e inespecíficos, ya que además de eliminar los organismos fitopatógenos, dañan la flora del suelo. (De la Cruz *et al* 2015). Por ello es necesaria la búsqueda de alternativas orientadas al manejo de agentes antagonistas que sean eficientes y compatibles con el ambiente (Bailey *et al.*, 2008).

Los hongos del género *Trichoderma* se emplean como bioplaguicida, por su capacidad para inhibir hongos fitopatógenos (Martínez *et al.*, 2013). Su principal actividad antifúngica es el resultado de la competencia antagonística, mecanismo de vital importancia y definido como el comportamiento diferenciado de dos o más organismos frente a un mismo requerimiento, de manera que uno de los organismos reduce el espacio o los nutrientes disponibles del otro (Rios, 2014 y Pérez *et al.*, 2018).

En este sentido, las especies de *Trichoderma sp.*, son considerados por su potencial para el control de enfermedades de las plantas, lo cual está cercanamente asociado con muchos aspectos típicamente endofíticos. No obstante, un número muy pequeño de aislados del género *Trichoderma sp* han sido estudiados en algunos detalles relacionados con su capacidad de biocontrol en las plantas de cacao (Samuels *et al.* 2006, De la Cruz *et al.* 2015).

Recibido: 20 de julio de 2020

Aceptado: 16 de noviembre de 2020

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution License CCBY-NC (4.0) internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Los métodos de control biológico pueden ser empleados en una estrategia de manejo integrado de plagas y están siendo implementados en varias regiones de Latinoamérica. Diferentes hongos epífitos y endófitos han sido evaluados por su eficacia como agentes de control de diferentes enfermedades (Verma *et al.* 2007).

Por todo lo antes expuesto el objetivo del trabajo fue evaluar la capacidad antagonista de una cepa *Trichoderma sp* sobre el crecimiento de *Fusarium sp*.

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en el laboratorio de microbiología del Centro de Desarrollo de la Montaña perteneciente al municipio el Salvador provincia Guantánamo en Marzo de 2019. Se realizó un ensayo preliminar de confrontación dual con una cepa de *Trichoderma sp* frente al patógeno *Fusarium sp*,

Prueba de antagonismo o cultivo dual

Se realizó por el método de bioensayo dual en medio Agar- Malta, según la metodología de Howell (2003) modificada por Polanco (2016).

El *fusarium* se aisló de frutos enfermos de cacao y el *Trichoderma sp* se obtuvo de hojas de cacao sanas, el cual se cataloga como hongo endófito.

Se realizaron cultivos duales de los aislados de *Trichoderma sp* frente a *Fusarium sp* en placas de Petri de 90 mm x 15mm, con medio Agar -Malta, y se inoculó un disco de micelio de 5 mm de diámetro de cada uno de los hongos situándolos en lados opuestos de las cajas Petri a 2cm del borde (Evans *et al.* 2003). La placa se inoculó por picadura para evitar que las esporas se dispersaran sobre el medio. Como testigos, se sembraron las cepas del antagonista *Trichoderma sp* y del patógeno *Fusarium sp* de forma individual y los cultivos duales se incubaron a 30 °C durante siete días.

Para evaluar el efecto antagonista se midió el crecimiento de cada uno de los hongos cada 24 horas, desde el punto de siembra hasta el borde de la colonia, y con los datos obtenidos se calculó el promedio de crecimiento del antagonista *Trichoderma sp*, el *Fusarium sp* y el porcentaje

Tabla 2. Promedio del crecimiento (diámetro) de *Trichoderma sp* y *Fusarium sp* en prueba de antagonismo y su respectivo control, tomado cada 24 horas.

Horas	Control		Antagonismos	
	<i>Trichoderma</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Fusarium</i>
24	1.4c	0.3d	0.4d	0.3d
48	1.6b	0.9c	1.7c	0.7c
72	1.7a	1.5b	2.8b	1.0b
96	2.0a	1.9a	3.2a	1.3a

de inhibición para el hongo fitopatógeno. Para el cálculo se utilizó la fórmula de Ezziyani. *et al.*, (2004) obteniéndose el porcentaje de Inhibición (PI). Para ello, se midió el diámetro de la colonia control (D.C.C) y el diámetro de la colonia del hongo en interacción con su antagonista (D.C.P): $PI = ((D.C.C - D.C.P) / D.C.C) * 100$

Tabla 1. Diseño experimental para demostrar antagonismos del *Trichoderma sp* frente al hongo *Fusarium sp*.

Tipo de cultivo	Tratamientos
Monocultivos	T1 <i>Trichoderma</i> (Testigo)
	T2 <i>Fusarium</i> (Testigo)
Cultivos Duales	T3 <i>Trichoderma</i> X <i>Fusarium</i>

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente aleatorio con tres repeticiones, cada unidad experimental estuvo representada por una caja Petri. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($p < 0.05$)

Resultado y Discusión

El enfrentamiento de *Trichoderma sp* frente a *Fusarium sp* en la prueba dual, mostró que la velocidad de crecimiento del *Trichoderma sp* con respecto al *Fusarium sp* fue superior, marcándose la diferencia a las 96 h (tabla 2).

Los resultados revelan la capacidad del antagonista de invadir previamente el espacio antes que el patógeno, siendo estas diferencias significativas. Estos resultados concuerdan con los de Vargas (2014) y Polanco (2016).

En la tabla 3 se muestra el porcentaje de inhibición del crecimiento de *Fusarium* por *Trichoderma* cada 24 horas, los muestran valores del 18 al 33%. Un crecimiento menor o igual a 25% corresponde a una inhibición positiva (Brancato&Golding, 1970).

La cepa de *Trichoderma* mostró mayor antagonismo frente a *fusarium* a las 96 horas. De ahí que, los valores más

Tabla 3. Porcentaje de Inhibición del crecimiento de *Fusarium Sp.*

Horas	Porcentaje de inhibición (%)	Antagonismos (Escala 1-5)
24	0	-
48	22	2
72	33	2
96	40	3

bajos de crecimiento significan mayor capacidad antagonica de *Trichoderma sp.*

Los hongos antagonistas del género *Trichoderma* tienen la capacidad de actuar contra una amplia variedad de fitopatógenos. Estos emplean diferentes mecanismos para manejar las plagas, destacándose entre ellos la competencia por el espacio y los nutrientes, el micoparasitismo, la producción de compuestos inhibidores, la inactivación de enzimas del agente patógeno y la inducción de resistencia (Hernández *et al* 2007).

Estos resultados son corroborados por los trabajos realizados por Rivas y Pavone (2010), quienes manifestaron el poder biocontrolador de *Trichoderma sp.*, al colonizar una superficie rápidamente y limitar el desarrollo del fitopatógeno.

Según los trabajos publicados por Martínez- Álvarez *et al.* (2012, 2016) las especies de *Trichoderma sp.*, demostraron un elevado efecto inhibitorio frente a *F. circinatum* por producción de micotoxinas antifúngicas, combinadas con su capacidad de micoparasitar al huésped (Rolando *et al.*, 2013). Estas micotoxinas inhibitorias actuaron sobre *F. circinatum* evitando el crecimiento de la colonia (Sánchez-Fernández *et al.*, 2013),

Además, el empleo de este tipo de control, contribuye a la disminución del uso de productos químicos, lo que adicionalmente implica la obtención de alimentos más seguros y libres de residuos (John *et al.*, 2012).

Conclusión

El hongo *Trichoderma sp* mostró un alto rango de crecimiento inicial, en la inhibición del crecimiento de *Fusarium sp* a las 96 horas.

La cepa de *Trichoderma sp* presentó un alto potencial de antagonismo *in vitro* frente al patógeno *Fusarium sp.*

Bibliografía

Bailey B, Bae H, Stem M, Crozier J, Thomas S, Samuels G, et al, 2008 Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control* 46:24-35.

- Verma M, Brar S, Tyagi RD, Surampalli R, Valéro R. 2007. Antagonist fungi, *Trichoderma* spp: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal* 37:1-20.
- Hernández A, Ruíz Y, Acebo Y, Miguélez Y, Heydrich M. 2014. Antagonistas microbianos para el manejo de la pudrición negra del fruto en *Theobroma cacao L.* Estado actual y perspectivas de uso en Cuba. *Revista de Protección Vegetal* 29(1):11-19.
- De la Cruz M, Ortíz C, Bautista C, Ramírez J, Ávalos N, Cappello S, et al. 2015. Diversidad de *Trichoderma* spp., en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 86:947-61.
- Samuels GJ. 2006. *Trichoderma*: systematics, thesexual state, and ecology. *Phytopathology* 96:196-206.
- Rolando, Á., R. Carrión¹, R. Nina, H. Smeltekop, J. Almanza, M. Lozamurguía, A.C. Michel-Aceves, et al. 2013. Eficiencia biológica de cepas nativas de *Trichoderma* spp., en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc., en cacahuete. *Avances de Investigación Agropecuaria* 28: 89-107.
- Sánchez-Fernández, R., B. Sánchez Ortiz, Y. Sandoval-Espinosa, A. Ulloa Benítez., B. Armendáriz-Guillén, M. García-Méndez., and M. Macías Rubalcava. 2013. Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *Tip* 16:132-146.
- Martínez Álvarez, P., F.M. Alves Santos, and J.J. Diez. 2012. *In vitro* and *in vivo* interactions between *Trichoderma viride* and *Fusarium necrinatum*. *Silva Fennica* 46: 303-316.
- Martínez Álvarez, P., R.A. Fernández González, A.V. Sanz Ros, V. Pando, and J.J. Diez. 2016. Two fungal endophytes reduce the severity of pitch canker disease in *Pinus radiata* seedlings. *Biological Control* 94: 1-10.
- Agrios, N. G. 2010. *Fitopatología*. 2ª ed. Limusa. México, D. F. 838 p.
- Ríos ELV, 2014. Caracteres principales, ventajas y beneficios agrícolas que aporta el uso de *Trichoderma* como control biológico. *Revista Científica Agroecosistemas.*; 2(1).
- Pérez-Torres E, Bernal-Cabrera A, Milanés-Virelles P, Sierra-Reyes Y, Leiva-Mora M, Marín-Guerra S, et al, 2018. Eficiencia de *Trichoderma harzianum* (cepa a-34) y sus filtrados en el control de tres enfermedades fúngicas foliares en arroz. *Bioagro.*; 30(1):17-26.
- Martínez B, Infante D, Reyes Y. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*. 2013; 28(1):1-11
- Polanco, Y. (2016). Biocontrol de *Fusarium sp.* por *Trichoderma* spp. En *Theobroma cacao L* en condiciones *in vitro* y vivero. (Tesis de pregrado). Universidad de Carabobo. Venezuela

- Vargas, R. (2014). Antagonismo de *Trichoderma koningiopsis* y *Trichoderma harzianum* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* y *Phomaterrestris* in vitro. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de San Agustín. Arequipa, Perú.
- Ezziyyani M. Biocontrol mediante una combinación de microorganismos antagonistas. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia-España. 2004.
- Evans, H., K. Holmes and A. Reid. 2003. Phylogeny of the frosty pod rots pathogen of cocoa. *Plant Pathology* 52(4): 476-485.
- Ezziyyani, M. 2004. Biocontrol de *Phytophthora capsici* en pimiento, con combinación de bioantagonistas. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia. Facultad de Biología, Murcia, España. 107 p.
- Hernández-Martínez, R. y Valenzuela-Solano, C. 2011. Enfermedades de la madera en la costa de Ensenada, Baja California. CICESE-INIFAP. Folleto técnico No. 1. 22 p.
- John, P. R., Tyagi, D. R., Prévost, D., Brar, K. S., Pouleur, S., and Surampalli, Y. R. 2010. Mycoparasitic *Trichoderma viride* as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzuki* and *Pythium arrhenomanes* and as a growth promoter of soybean. *Crop Protection*. 29: 1452-1459. Doi:10.1016/j.cropro.2010.08.004
- Howell, C. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87, pp.4-10.
- Rivas M, Pavone D. 2010. Diversidad de *Trichoderma* spp., en plantas de *Theobroma cacao* L. del Estado Carabobo, Venezuela, y su capacidad de biocontroladora sobre *Crinipellis perniciosus* (STAHEL) SINGER. *Interciencia* 35(10): 777-783.
- Hernández, A., Bautista, S., Velázquez, M. & Hernández, A. (2007). Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades pos cosecha en frutos. *Rev Mex Fitopatología* 25: 66-74.