

Capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* Rifai frente al fitopatógeno fúngico *Sclerotium oryzae* (Catt.)

Leyanis de la Caridad Padilla Navarro¹, Keyla de la Caridad Buil Martin², Manuel Rodríguez Saldaña³ & Daineris Hernández Torres⁴

¹ORCID <https://orcid.org/0000-0002-8421-2347>, Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte Loynaz”, Departamento de Agronomía, Adiestrada, Camagüey, Cuba, ²ORCID <https://orcid.org/0000-0002-2492-1280>, Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte Loynaz”, Departamento de Agronomía, Adiestrada, Camagüey, Cuba, ³ORCID <https://orcid.org/0000-0002-8087-6971>, Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte Loynaz”, Departamento de Agronomía, Profesor Auxiliar, Camagüey, Cuba, ⁴ORCID <https://orcid.org/0000-0002-6446-3421>, Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte Loynaz”, Departamento de Agronomía, Profesora, Camagüey, Cuba.

Citación: Padilla Navarro, L., Buil Martin, K., Rodríguez Saldaña, M., & Hernández Torres, D. (2022). Capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* Rifai frente al fitopatógeno fúngico *Sclerotium oryzae* (Catt.). *Agrisost*, 28, 1-8. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6833233>

Recibido: 23 diciembre 2021

Aceptado: 11 marzo 2022

Publicado: 28 abril 2022

Financiamiento: No se declara.

Conflictos de interés: No se expresan conflictos de interés.

Correo electrónico: leyanis.padilla@reduc.edu.cu

Resumen

Contexto: En el país se desconoce la capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* Rifai cepa A-34 y la acción de los mecanismos frente al fitopatógeno fúngico del arroz *Sclerotium oryzae* (Catt.) donde ocasionó pérdidas en el cultivo.

Objetivo: Evaluar la capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* Rifai cepa A-34 frente al fitopatógeno fúngico del arroz *Sclerotium oryzae* (Catt.).

Métodos: Se midió concentración de esporas/ ml⁻¹, viabilidad e inhibición del crecimiento micelial del patógeno y la capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* mediante los mecanismos de acción. Los resultados se procesaron en el paquete estadístico SPSS versión 22,0 para Windows, realizando el Test de Tukey con el 0,05% de probabilidad. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado para cada hongo fitopatógeno.

Resultados: Se evidencia que no hubo antibiosis a las 24 horas debido a que el antagonista no inhibió el crecimiento del patógeno; a las 72 horas se observó interacción hifal entre *S. oryzae* y *T. harzianum* donde no existió micoparasitismo por el antagonista ya que *S. oryzae* creció más que este a las 96 horas y no fue hasta las 120 horas que el antagonista creció sobre *S. oryzae*, por tanto, no hubo actividad antagónica ni hiperparasítica sobre el patógeno.

Conclusiones: El antagonista no afectó el crecimiento micelial del agente fitopatógeno *S. oryzae* en el enfrentamiento dual; así mismo *T. harzianum* (cepa A-34) no manifestó capacidad antagónica, frente a *Sclerotium oryzae* donde se obtuvo un Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) negativo, evidenciado a través de la antibiosis y los mecanismos de acción.

Palabras clave: concentración, inhibición, mecanismos de acción, *Sclerotium*.

Antagonistic capacity of *Trichoderma harzianum* Rifai against the fungal phytopathogen *Sclerotium oryzae* (Catt)

Abstract

Context: In the country, the antagonistic capacity of *Trichoderma harzianum* Rifai strain A-34 and the action of the mechanisms against the fungal phytopathogen of rice *Sclerotium oryzae* (Catt.), Where it caused losses in the crop, are unknown.

Objective: To evaluate the antagonistic capacity of *Trichoderma harzianum* Rifai strain A-34 against the fungal phytopathogen of rice *Sclerotium oryzae* (Catt.).

Methods: The concentration of spores / ml-1, viability and inhibition of the mycelial growth of the pathogen and the antagonistic capacity of *Trichoderma harzianum* were measured by the mechanisms of action. The results were processed in the statistical package SPSS version 22.0 for Windows, performing the Tukey Test with a 0.05% probability. A completely randomized design was used for each phytopathogenic fungus.

Results: It is evident that there was no antibiosis at 24 hours because the antagonist did not inhibit the growth of the pathogen; hyphal interaction between *S. oryzae* and *T. harzianum* was observed at 72 hours where there was no mycoparasitism by the antagonist since *S. oryzae* grew more than this at 96 hours and it was not until 120 hours that the antagonist grew on *S. oryzae*, therefore, there was no antagonistic or hyperparasitic activity on the pathogen.

Conclusions: The antagonist did not affect the mycelial growth of the phytopathogenic agent *S. oryzae* in the dual confrontation; Likewise, *T. harzianum* (strain A-34) did not show antagonistic capacity, against *Sclerotium oryzae*, where a negative Percent of Radial Growth Inhibition (PICR) was obtained, evidenced through antibiosis and the mechanisms of action.

Key words: concentration, inhibition, mechanisms of action, *Sclerotium*.

Introducción

El cultivo del arroz (*Oryza sativa* L), comenzó hace casi 10 000 años, en muchas regiones húmedas de Asia tropical y subtropical. Este cultivo es el alimento básico para más de la mitad de la población mundial. A nivel mundial, ocupa el segundo lugar después del trigo si se tiene en cuenta la superficie cosechada, pero si se valora su importancia como cultivo alimenticio, el arroz proporciona más calorías por hectárea que cualquier otro cultivo de cereales. Según la FAO la producción mundial de arroz en 2019 se incrementó en 1,6 millones de toneladas desde noviembre, ubicándose en 515 millones de toneladas, lo que supuso una disminución del 0,5 % tan solo respecto del récord absoluto de producción de 2018. (LaagriculturaDigital.com, 2019).

Se estimó en el 2019 en Cuba una producción de arroz de 200 000 toneladas de “arroz consumo”, lo que equivale a 430 000 toneladas de “arroz cáscara húmedo”. (Camellón, 2019, citado en Monreal, 2019).

Según el Anuario Estadístico de la provincia de Camagüey en Cuba, la ONEI (2018) expresa que se sembraron 7903,1 ha del cereal, donde se alcanzó una producción total de 3 1952,4 toneladas para un rendimiento de 4,04 t ha⁻¹, para la campaña de primavera.

En Camagüey luego de haber alcanzado récord histórico de producción en el 2018 con 100 mil toneladas de arroz cáscara húmedo, el Complejo Agroindustrial de Granos Ruta Invasora (CAGRI) de Camagüey vive una caída abrupta de sus volúmenes de producción en el año 2019 lo que provocó que de las 90 407,3 t planificadas inicialmente se tuviera que reajustar el compromiso a apoco más de 52 mil toneladas (ONEI, 2019).

Las enfermedades ocasionadas por hongos en campos arroceros son numerosas. La severidad e incidencia de las más dañinas causan pérdidas en los rendimientos que pueden llegar hasta el 70%. La

putridión del tallo es causada por el hongo patógeno del suelo *Sclerotium oryzae* (Catt.) Krause & Webster (1972) que afecta al cultivo durante toda su etapa de desarrollo generando daños en el tallo y afectando la producción. El uso de fungicidas foliares para reducir la severidad de esta enfermedad es una práctica común en el cultivo de arroz con aplicaciones tempranas desde el embuchado hasta la floración (Castañeda et al., 2017).

Las aplicaciones de *Trichoderma* después del fangueo para controlar este hongo, por su alto potencial de control biológico, tiene diversas ventajas, pues crece y desarrolla muy rápido, pero además produce una gran cantidad de enzimas, metabolitos secundarios como compuestos orgánicos volátiles y mecanismos de acción como: una competencia por el espacio y los nutrientes del medio; la producción de metabolitos secundarios con actividad antibiótica o anti-fúngica; parasitismo directo o inducción de resistencia, de este género existen más de 100 especies, todas con efectos benéficos para la agricultura y otras ramas (Castañeda et al., 2017) por lo que el objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* Rifai cepa A-34 frente al fitopatógeno fúngico del arroz *Sclerotium oryzae* (Catt.).

Materiales y Métodos

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Bioprocesos de la Facultad de Ciencias Aplicadas centro perteneciente a la Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz, ubicado en las coordenadas; 21°23'19" de Latitud Norte y 77°52'59" de Longitud Oeste y en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal (LPSV) con Latitud Norte: 21° 24' 00" y Longitud Oeste: 77° 53' 55" a una altura de 95 msnm, en el período comprendido de septiembre 2019 a mayo del 2020.

El aislado monospórico de *S. oryzae* altamente patogénico, procedió del cepario del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Camagüey e identificado de acuerdo con las claves micológicas

correspondientes (Tarr, 1964). Como antagonista se utilizó la cepa A - 34 de *T. harzianum* perteneciente al Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV).

Se realizaron pases en placas y se tomó muestras en discos de 5,0 mm de diámetro con peso de 1,0 g de biomasa por cada tratamiento, de estos se preparó solución madre en tubos de ensayo agregando 1,0 mL de agua destilada estéril, luego de esta dilución madre se tomó 0,1 mL diluido en 0,9 mL de agua destilada estéril preparándose las diluciones seriadas según permitiera la concentración para el conteo en cámara de Neubauer, el cual se realizó tomando una gota de la última dilución.

En una gota de medio PDA vertida en porta objeto cóncavo se inocularon 0,1 µL de la dilución preparada para la titulación en cada tiempo (24 y 48 horas) puesto en incubación por 12 horas a una temperatura de 28±1°C, lo cual se observó al microscopio óptico con aumento de 40x, contando esporas germinadas, no germinadas y deformadas en 10 campos de visualización.

El inóculo de *S. oryzae* se preparó con siete días de antelación en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA)-Biocen a un pH 5,5 e incubado a 28±1 °C en oscuridad. El antagonista *T. harzianum* empleado en el enfrentamiento dual se obtuvo del tiempo y la concentración óptima.

Para evaluar el efecto antagónico se tomaron discos de 5,0 mm del aislamiento del hongo fitopatógeno y del antagonista y se depositaron en placas Petri de 90,0 mm de diámetro, con medio de cultivo (PDA)-Biocen a pH 5,5 e incubados a una temperatura de 28±1 °C en oscuridad. Las siembras se realizaron por el método de cultivo dual (Bell et al., 1982) y se siguieron las indicaciones de Rincón et al. (1992).

Se evaluaron los mecanismos de acción de competencia por espacio, micoparasitismo y antibiosis ejercidas por *T. harzianum* (cepa A-34) sobre el agente fitopatógeno *S. oryzae*. Además, se evaluó el efecto antibiótico de *T. harzianum* sobre el agente fitopatógeno a través del Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR) en cultivo dual a las 24 h, momento donde no existía contacto físico entre las hifas del antagonista y de los agentes patógenos.

Para el mecanismo de acción por competencia se utilizó un diseño completamente aleatorizado para cada hongo fitopatógeno, en el que se ensayaron los tratamientos.

1. Interacción *T. harzianum* – *S. oryzae* 2. Control (hongos patógenos y antagonista), replicados tres veces cada uno. Se midió con una regla graduada el crecimiento radial de las colonias del hongo

fitopatógeno en interacción con el antagonista y de los controles a partir de las 24 h, hasta que uno de los microorganismos en enfrentamiento cubriera toda la placa.

La capacidad antagónica se determinó a través de la escala de cinco grados de Bell et al. (1982) (Tabla 1) y el efecto del agente de biocontrol sobre el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno se comprobó a través del PICR mediante la fórmula de Samaniego et al. (1989), $PICR = [(R1-R2)/R1] \times 100$. Donde R1 es el crecimiento radial del control y R2 es el crecimiento radial del hongo patógeno en interacción con el antagonista.

Grado	Capacidad antagónica
1	El antagonista crece completamente sobre el patógeno y cubre totalmente la superficie del medio de cultivo.
2	El antagonista crece las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo.
3	El antagonista y patógeno colonizan la mitad de la superficie del medio de cultivo y ninguno de los dos domina sobre otro.
4	El patógeno coloniza al menos las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo.
5	El patógeno crece por encima del antagonista y ocupa casi toda la superficie del medio de cultivo.

En la investigación se evaluaron los mecanismos de acción por micoparasitismo y se tomaron fragmentos de micelio de la zona de interacción hifal a partir de que existiera contacto entre las hifas de *T. harzianum* y las de cada agente fitopatógeno. Se observó en el microscopio óptico marca Novel con aumento de 400x, los mecanismos (enrollamiento, penetración, vacuolización y lisis) que se fueron documentando gráficamente por medio de una cámara digital móvil.

Los resultados obtenidos se procesaron en el paquete estadístico SPSS versión 22,0 para Windows, realizando el Test de Tukey con el 0,05% de probabilidad para la comparación de medias con un 95,0 % de confiabilidad aplicando un análisis de varianza simple (ANOVA simple). Los datos obtenidos en la titulación se transformaron a través de la expresión $\text{Log}_{10}(x+10)$ (Lerch, 1977).

Resultados y discusión

Concentración de esporas mL⁻¹ de *T. harzianum*

La concentración de esporas/mL⁻¹ de *T. harzianum* en los tres muestreos escogidos aleatoriamente a la cepa antes de hacer el ensayo (Figura.1) evidencia mediante el análisis de varianza aplicado a las variables muestreo y concentración, la influencia significativa entre ambos. La concentración de esporas es el indicador necesario que permite el criterio de uso del producto a partir del cual se evalúa la viabilidad y micoparasitismo.

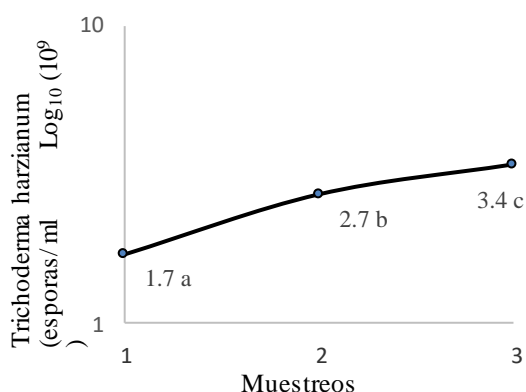


Fig. 1. Concentración de esporas/mL⁻¹ de *T. harzianum* (cepa A-34)

Letras distintas difieren significativamente para $p \leq 0,05$ $ES\bar{x} = 1.6$

La concentración alcanza su mayor expresión exponencial en el tercer muestreo se demostró que el óptimo de concentración para llevar a placa y realizar el enfrentamiento es con $3,4 \times 10^9$ esporas/mL⁻¹, se mostró diferencia significativa con las dos muestras restantes y estas a su vez difieren entre sí.

En la investigación realizada con *T. harzianum* frente a varios fitopatógenos fúngicos del arroz, Muñoz (2019) utilizó esta antagonista con cepa A-34 procedente de cultivo en tubo de ensayo en cuñas con medio de cultivo Papa, Dextrosa, Agar (PDA) con un pH de 5.5 conservado a una temperatura de 4 ± 1 °C, se obtuvo una concentración exponencial de 10^9 .

Otro autor con el que coinciden los resultados alcanzados en la investigación, es la concentración pero en un medio de cultivo diferente obtenido por Pérez Torres (2016), que señala que *T. harzianum* Rifai cepa A-34, sobre un medio de cultivo líquido compuesto por Caldo de Papa Glucosado, Czapek, Richard y Fries a un pH de 5,5 con la utilización de NaOH(ac) y HCl(ac), y que coinciden con los parámetros obtenidos en esta investigación en cuanto a concentración pero el medio de cultivo utilizado fue distinto.

La concentración es un elemento clave para el futuro uso y resultado final que pueda alcanzarse con el microorganismo, en ello coinciden con esta investigación Quesada-Mola et al. (2019) donde describen que *T. harzianum* y la actividad biológica de nuevas cepas cubanas de *Trichoderma spp* son efectivas en el control de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood, resalto la cepa A-34 que se sembró en tubos de cultivo con medio PDA y se incubaron a 30°C hasta su esporulación, con una concentración de 10^9 y mostro que el mayor tuvo un efecto que alcanzó valores superiores a 80%.

El medio papa dextrosa se utiliza ampliamente en los procedimientos normativos para la producción de varios hongos entre ellos *T. harzianum*. La combinación de papa con glucosa proporciona la

fuerza de energía perfecta para que exista un crecimiento satisfactorio de los hongos, mientras que el agar es quien brinda la consistencia al medio. En todos los casos el medio fue usado con un pH 5,5 el cual es el óptimo para el crecimiento de varios organismos fúngicos como es el caso del antagonista ensayado.

La viabilidad se efectuó 24 horas antes del ensayo, evaluándose a las 12 horas de montada, se contó las esporas germinadas, no germinadas y deformadas a una temperatura regulada de 28 ± 1 °C, donde se obtuvo como resultado un 97,0 % de germinación del total de esporas contadas.

Actividad antagonica de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium oryzae* en cultivo dual

La actividad antagonica de la cepa A-34 de *T. harzianum* sobre el micelio del hongo fitopatógeno *S. oryzae* en cultivo dual, se hace evidente a partir de las 72 h de enfrentamiento; lo que demuestra el efecto hiperparásito del patógeno por el sobrecrecimiento de sus hifas sobre las del antagonista y a su vez la capacidad de colonización del antagonista que logró sobrecrecer al fitopatógeno (Figura.2)

El gradiente de crecimiento por horas en el enfrentamiento para el antagonista es de 0,056 cm/h y en el caso del fitopatógeno alcanzó 0,062 cm/h; aspecto que evidencia que *T. harzianum* crece en menor proporción respecto a *S. oryzae*; además el patógeno cubrió por completo las placas a las 72 h.

Estos resultados no coinciden con los alcanzados por Pérez Torres et al. (2017), Donde estudiaron la actividad antagonica de *T. harzianum* Rifai sobre el agente causal del tizón del arroz (*Pyricularia grisea* Sacc.) se demostró que el mecanismo de acción de competencia a las 48 h muestra al antagonista y se cubrió las tres cuartas partes de la placa, lo que evidenció el rápido crecimiento de la cepa A-34 de *T. harzianum* y la reducción del crecimiento hifal de *P. grisea*.

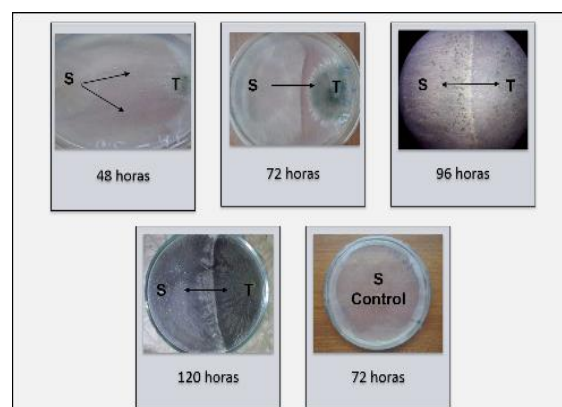


Fig. 2. Competencia en cultivo dual entre *T. harzianum* (cepa A-34) (T) y *S. oryzae* (S)

El crecimiento micelial del agente fitopatógeno no fue afectado por el antagonista, por lo que no hubo inhibición del crecimiento radial en el enfrentamiento dual, elemento que coincide con la capacidad de crecimiento superior sobre el medio expresado por el patógeno respecto al antagonista; este resultado coincide con una investigación realizada en Brasilia por Correa (2007), que identificó 20 cepas nativas, de las cuales 15 pertenecen a la especie *T. harzianum*, las otras fueron *T. aureoviride* (dos), *T. crassum* (dos) y *T. viride* (una), que al enfrentarlas en cultivo dual al hongo *Sclerotium rolfsii* o sea patógeno de igual género pero especie distinta, donde las cepas CEN224, CEN250, CEN251, CEN263 y CEN265 pertenecientes a *T. harzianum* no ejercieron acción antagonista sobre el hongo patógeno, pues este avanzó sobre ellas al colonizar toda la superficie del medio. Es válido acotar que en los aislados de *Trichoderma* no estaba presente la cepa A-34.

Precisamente la explicación al resultado alcanzado en esta investigación publicada por Correa (2007) cita varios autores que demuestran ciertas características de este antagonista donde plantea que, aunque la mayoría de los agentes empleados en control biológico de hongos patógenos presentan cierto grado de especialización, se han referido especies de *Trichoderma* como parásitas de una amplia gama de patógenos.

Un detalle significativo a tener en cuenta en estos ensayos los muestra Correa (2007) quien plantea que al cambiar el sustrato o medio de cultivo para el enfrentamiento dual se necesita la hora de valorar la respuesta de ambos microorganismos implicados, precisamente este es el caso de las cepas CEN219, CEN220 y CEN249, que estuvieron entre las de buenas potencialidades contra el hongo patógeno en prueba anterior y no presentaron el mismo efecto en este ensayo. Por lo tanto, se puede inferir probablemente que no hay acción por metabolitos tóxicos biológicamente difusibles en el medio de cultivo que recibió el filtrado de colonias de cualquiera de estas tres cepas.

Un resultado similar se evidencia en la investigación de Michel-Aceves et al., 2013, quienes señalaron que se escogieron 12 cepas diferentes de *Trichoderma spp* basándose en la clasificación de antagonismo de Bell et al. (1982), donde los aislados se ubicaron entre los grados dos y cinco. El aislado Tcn-11 fue el único agresivo, que clasificó en grado dos que logró detener el crecimiento del fitopatógeno e inhibir la formación de esclerocios mientras que en el aislado Tcn-7 se mantuvo en grado cinco, resultando que el *S. rolfsii* creció sobre *Trichoderma*, señalado que de los seis aislados que lograron inhibir un buen porcentaje del crecimiento micelial de *S. rolfsii* por metabolitos secundarios en la prueba del celofán, sólo tres fueron capaces de atacarlo en la competencia

directa de cultivos apareados. En cambio, el fitopatógeno fue más agresivo en los demás aislados.

En este mismo sentido Garrido & Vilela (2019) obtuvieron resultados similares a los de esta investigación cuando evaluaron la capacidad antagónica de una cepa de *T. harzianum* no declarada por el autor, en su investigación identificada como cepa comercial, frente a *Rhizoctonia spp.*, *Nakatea sigmoide* y *Sclerotium rolfsii*, causantes de la Pudrición de tallos y vainas del arroz, resultado que *T. harzianum* frente a *S. rolfsii*, coloniza una tercera parte del medio, al ser afectado su desarrollo por este fitopatógeno.

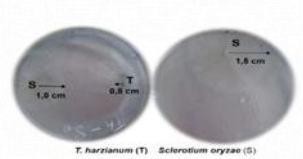
En otra investigación Pérez-Torres et al., 2018 al comparar en cultivo dual el control de *S. rolfsii* y *R. solani* se encontró que una misma especie de *Trichoderma* no actúa de la misma manera e intensidad contra ambos patógenos.

Antagonismo de *T. harzianum* a las 72 horas

El antagonista *T. harzianum* a las 72 horas alcanza un PICR negativo clasificado según la escala de Bell et al. (1982) en grado 5, o sea es cuando el patógeno crece por encima del antagonista y ocupa casi toda la superficie del medio de cultivo; estos resultados demuestran que el microorganismo *T. harzianum* sobrecrece la colonia del patógeno a las 120 horas después que *S. oryzae* ya lo había colonizado (Tabla. 2)

Martínez et al. (2013) describen en un artículo relacionado con diferentes especies de *Trichoderma* y su control frente a *S. rolfsii* donde enuncia que el crecimiento del antagonista sobre el patógeno en cultivo dual no es garantía de alta capacidad parasítica, ya que las hifas de ambos pueden compartir espacios y competir sin necesidad de parasitarlo.

Tabla 2. Enfrentamiento de *Trichoderma harzianum* y *Sclerotium oryzae*

Indicadores	Tiempo (h)				
	24	48	72	96	120
Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (%)	2,6	-2,8	-7,3	0	0
Grado. Escala Bell	4	4	5	5	5
Micoparasitismo	Enrollamiento -	Penetración -	Lisis no observado	Vacuolización no observado	
Antibiosis					

(-): Presencia del mecanismo de acción
 Letras distintas difieren significativamente para $p \leq 0,05$ $ESx = 1.6$

El antagonista *T. harzianum* Rifai frente al patógeno *Sclerotium oryzae* no manifestó antagonismo por antibiosis a las 24 horas después de la siembra, por lo tanto, no existió acción de metabolitos secundarios volátiles y no volátiles de *T. harzianum* por tanto no hubo inhibición del crecimiento radial del patógeno. Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Duarte et al. (2017), se describen que las cepas de *T. asperellum* evaluadas desde las 24 h inhibieron significativamente el crecimiento del agente fitopatógeno *S. rolfii* enfatizándose a partir desde las 48 h, en comparación con el testigo, aunque este efecto se observó más marcado a las 72 h; la acción fungistática que se originó antes del contacto hifal infiere la secreción de metabolitos difusibles al medio por parte de las cepas de *Trichoderma*, que en este caso es una especie diferente usada en la investigación.

Pérez et al. (2017) refieren en un ensayo realizado con seis cepas de *Trichoderma spp* frente a *Fusarium oxysporum* y *Botrytis cinerea* que en diferentes medios de cultivos obtuvieron resultados diferentes tanto del antagonista como de los patógenos, estos ponen de manifiesto que los compuestos volátiles producidos por un microorganismo dependen en gran medida del medio de cultivo en el que crezca.

Pérez Torres et al. (2017) describen el efecto antibiótico que se manifestó a las 24 h del enfrentamiento con un porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de 14,3 %, cuando no existió interacción entre las hifas del agente de biocontrol y *Pyricularia grisea*. Esta respuesta puede estar dada por la presencia de sustancias bioactivas de naturaleza volátil (no difusibles) y no volátil (difusibles) producidas por cepas de *Trichoderma*. Estos resultados no coinciden con los alcanzados en esta investigación teniendo en cuenta que la respuesta del antagonista y el patógeno fue inversa o sea el patógeno fue capaz de crecer y por tanto ocupar más espacio que el antagonista, además sobrecrece a este, y a partir de las 120 horas es que *T. harzianum* logra sobrecrecer al patógeno pero a penas manifiesta mecanismos de acción sobre este por lo que queda demostrado en este ensayo que *T. harzianum* no mostró capacidad antagonica sobre *S. oryzae*.

Interacción hifal entre el patógeno y el antagonista

La interacción hifal entre el patógeno y el antagonista ocurrió a las 72 horas manifestándose micoparasitismo a través de enrollamiento y penetración, los cuales no se expresaron en la cantidad o magnitud expresada por el antagonista.

El enrollamiento o estrangulamiento del contenido citoplasmático de las hifas del antagonista sobre las del patógeno es uno de los mecanismos de control de *T. harzianum* que manifiesta a partir del enfrentamiento con el hongo patógeno que puede asociarse a la penetración, aunque no sean directamente proporcionales es decir que pueden ocurrir por separados y no de la misma forma, este elemento se puede observar al microscopio al unísono (Figura 3).

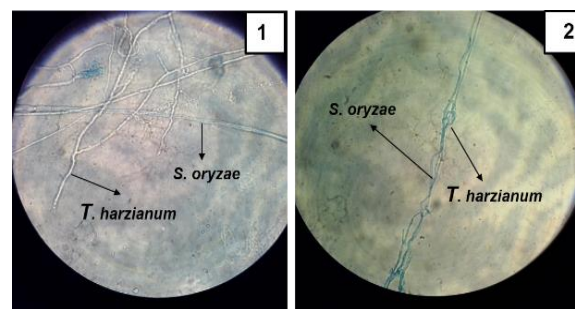


Fig. 3. Mecanismos de acción de penetración (1) y enrollamiento (2) de *T. harzianum* sobre *S. oryzae*

En el caso de los mecanismos vacuolización y lisis celular durante la investigación desde las 72 horas que se enfrentaron hasta las 120 no se observaron estos mecanismos, este es un elemento directamente relacionado a los mecanismos antes descritos ya que si no hay enrollamiento y penetración por el antagonista no es posible que ocurra la degradación y ruptura de la pared celular del micelio del hongo patógeno.

En el trabajo realizado por Garrido & Vilela (2019) sobre la capacidad antagonica de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia*, *Nakataea sigmoidea* y *Sclerotium rolfii* y la evaluación del efecto causado sobre estos de 14 cepas nativas de *Trichoderma* aisladas en cultivos de arroz, se arribó que la mayor acción de micoparasitismo se presentó con *Rhizoctonia* siendo muy frecuente el enrollamiento de hifas y la penetración; en *Nakataea* se observó sólo enrollamiento mientras que en *Sclerotium* no se observaron mecanismos de acción, evidenciado a través de la competencia por espacio y nutrición en la cual *Sclerotium* fue capaz de crecer más sobre el medio de cultivo, resultados que coinciden con los alcanzados en esta investigación.

En la investigación realizada por Pérez Torres et al. (2017), el antagonista *T. harzianum* cepa A – 34 frente a tres fitopatógenos del arroz mostró lo evento de micoparasitismo por enrollamiento, penetración, vacuolización y lisis elementos que difieren con los alcanzados frente a *S. oryzae*.

De igual forma no hay correspondencia con los obtenidos por Reyes et al. (2008) y Osorio et al. (2016) que al observar micoparasitismo por

enrollamiento, penetración y vacuolización de aislamientos de *Trichoderma* sobre el agente causal del tizón de la vaina del arroz (*Rhizoctonia solani* Kühn).

Estos elementos permiten determinar que el antagonista *T. harzianum* no expresó los mecanismos de acción frente al patógeno *S. oryzae*.

Conclusiones

El antagonista no afectó el crecimiento micelial del agente fitopatógeno *S. oryzae* en el enfrentamiento dual.

T. harzianum (cepa A-34) no manifestó capacidad antagónica, frente al hongo fitopatógeno del arroz *Sclerotium oryzae* y se obtuvo un PICR negativo donde se evidencio a través de la antibiosis y los mecanismos de acción.

Contribución de los autores

Leyanis de la Caridad Padilla Navarro: aportes significativos en la concepción; diseño; toma de datos o su análisis; interpretación y redacción del artículo.

Keyla de la Caridad Buil Martin: análisis de resultados, diseño y revisión final.

Manuel Rodríguez Saldaña: planeación de la investigación, análisis de resultados, redacción del artículo y revisión final.

Daineris Hernández Torres: análisis de los resultados.

Conflictos de interés

Los autores declararan que no existe conflicto de interés.

Agradecimientos

Un agradecimiento especial a cada uno de los que me brindaron el apoyo para la ejecución del proyecto de investigación.

Referencias

Bell, D.K., Well, H.D., & Markham, C.R. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72, 379-382. https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1982Articles/Phyto72n04_379.PDF

Castañeda, C., Mercad, Y., Téllez, A., Mendoza, A., & Anducho, M. (2017). Efectos benéficos de *Trichoderma* y su regulación de la expresión génica de celulasas y

hemicelulasas. En F. Trejo, (eds.), *Ciencias Biológicas y de la Salud*. (pp. 36-55). Proceedings - ©ECORFAN. https://www.ecorfan.org/proceedings/PCBS_TI/PCBS_4.pdf

Correa-Victoria, F. (2007). *Complejo Ácaro – Hongo - Bacteria del arroz*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). <https://docplayer.es/19588383-Complejo-acaro-hongo-bacteria-del-arroz-fernando-correa-victoria-centro-internacional-de-agricultura-tropical-ciat.html>

Duarte-Leal, Y., Lamz-Piedra, A., & Martínez-Coca, B. (2017). Antagonismo in vitro de aislamientos de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Revista de Protección Vegetal*, 32(3), 00-00. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v32n3/rpv03317.pdf>

Garrido Rondoy, M., & Vilela Severino, N. (2019). Capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia*, *Nakatea sigmoidea* y *Sclerotium rolfsii* y su efecto en cepas nativas de *Trichoderma* aisladas de cultivos de arroz. *Scientia Agropecuaria*, 10(2), 199-206. <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v10n2/a06v10n2.pdf>

Krause, R. A., & Webster, R. K. (1972). Sclerotial Production, Viability Determination and Quantitative Recovery of *Sclerotium Oryzae* From Soil. *Mycologia*, 64(6), 1333-1337. <https://doi.org/10.1080/00275514.1972.12019385>

LaagriculturaDigital.com (2019). En el año 2019 se alcanzará la cosecha de cereales más alta de la historia de la humanidad, según las previsiones de la FAO. En *Canales Sectoriales. Interempresas. Grandes Cultivos*. <https://www.interempresas.net/Grandes-cultivos/Articulos/264843-En-ano-2019-alcanzara-cosecha-cereales-mas-alta-historia-humanidad-segun-previsiones-FAO.html>

Lerch, G. (1977). *La experimentación en las ciencias biológicas y agrícolas*. Editorial Científico Técnica.

Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma spp.* y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1), 1-11. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>

Michel-Aceves, A. C., Otero-Sánchez M. A., Ariza-Flores, R., Barrios-Ayala, A., & Alarcón-Cruz, N. (2013). Eficiencia biológica de cepas nativas de *Trichoderma spp.*, en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc., en

- cacahuete. Avances en Investigación Agropecuaria, Universidad de Colima, México, 17 (3), 89-107. <http://ww.ucol.mx/revaia/portal/pdf/2013/sept/7.pdf>
- Monreal, P. (2019). Las estadísticas y la producción de alimentos en Cuba: ¿Un arroz “saltón”? En *Progreso Semanal*. <https://progresosemanal.us/20191205/las-estadisticas-y-la-produccion-de-alimentos-en-cuba-un-arroz-salton/>
- Oficina Nacional de Estadísticas e Información (ONEI). (2018). Agricultura Ganadería Silvicultura Pesca. En *Anuario Estadístico de Cuba 2017*. Autor. www.onei.gob.cu/sites/default/files/aec2017.zip
- Oficina Nacional de Estadísticas e Información (ONEI). (2019). Agricultura Ganadería Silvicultura Pesca. En *Anuario Estadístico de Cuba 2018*. Autor. http://www.onei.gob.cu/sites/default/files/aec2019_0.pdf
- Osorio, E., Hernández, F.D., Rodríguez, R., Varela, S.E., Estrada, B., & López, J.A. (2016). Actividad antagonista de *Trichoderma* spp. Sobre *Rhizoctonia solani* invitro. *Investigación y Ciencia*, 24(67), 5-11. <https://www.redalyc.org/pdf/674/67446178001.pdf>
- Pérez Torres, E. J., Bernal, A., Milanés, P., Leiva, M., Sierra, Y., & Cupull, R. (2017). Actividad antagonista de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre el agente causal del tizón del arroz (*Pyricularia grisea* Sacc.). *Centro Agrícola*, 44(3), 13-19. http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V44-Numero_3/cag02317.pdf
- Pérez Torres, E. J. (2016). Efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai (cepa a-34) y sus filtrados decultivo en el control de tres hongos fitopatógenos foliares en arroz. (Síntesis de Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas). *Revista de Protección Vegetal*, 31(2). <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v31n2/rpv14216.pdf>
- Pérez, A., Hermosa, R., & Monte, E. (2017). *Trichoderma* Biocontrol Activity Against Plant Pathogenic Ascomycetes. *FarmaJournal*, 2(1), 85-93. [https://gredos.usal.es/bitstream/handle/10366/133695/Actividades de biocontrol de Trichoderma.pdf;jsessionid=16EA3B025ADA2FC6443A8D96501E9EB2?sequence=1](https://gredos.usal.es/bitstream/handle/10366/133695/Actividades%20de%20biocontrol%20de%20Trichoderma.pdf;jsessionid=16EA3B025ADA2FC6443A8D96501E9EB2?sequence=1)
- Pérez-Torres, E., Bernal-Cabrera, A., Milanés-Virelles, P., Sierra-Reyes, Y., Leiva-Mora, M., Marín-Guerra, S., y Monteagudo-Hernández, O. (2018). Eficiencia de *Trichoderma harzianum* (cepa a-34) y sus filtrados en el control de tres enfermedades fúngicas foliares en arroz. *Bioagro*, 30(1). http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612018000100002
- Quesada-Mola, Y., Fernández - Gonzáles, E., Casanueva - Medina, K., Ponce - Grijuela, E., & Márquez - Gutiérrez, M. E. (2019). Actividad biológica de nuevas cepas cubanas de *Trichoderma* spp. efectivas en el control de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood. *Revista Cubana de Ciencias Biológicas*, 7(1), 1-9. <http://www.rccb.uh.cu/index.php/RCCB/articulo/download/214/323>
- Reyes, Y., Martínez, B., & Infante, D. (2008). Evaluación de la actividad antagonista de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* spp. *Revista de Protección Vegetal*, 23(2), 112-117. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v23n2/rpv08208.pdf>
- Rincón, A., Leguizamón, J., & Arbeláez, G. (1992). Control biológico de *Rhizoctonia solani* con *Trichoderma* spp. en semilleros de café. *Cenicafé*, 43(3), 73-83.
- Samaniego, J. A., Ulloa, M., & Herrera, T. (1989). Hongos del suelo antagonistas de *Phymatotrichum omnivorum*. *Rev. Mex. Fitopatología*, 7(1), 86-95.
- Tarr, S. (1964). CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, Commonwealth Mycological Institute, Kew (1964), Set I (sheets 1–10) and Set 2 (sheets 11–20). [formato electrónico] *Transactions of the British Mycological Society*, 47(3), 464-472. <https://www.cabi.org/ISC/abstract/19771330102>