

## Antibiosis y efecto de pH-temperatura sobre el antagonismo de cepas de *Trichoderma asperellum* frente a *Alternaria solani*



## Antibiosis and effect of pH-temperature on the antagonism of *Trichoderma asperellum* strains against *Alternaria solani* <http://opn.to/a/0XV5m>

Edwin Ronnie-Gakegne<sup>1\*</sup>, Benedicto Martínez-Coca<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, CP 32700, Cuba.

**RESUMEN:** El trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de la actividad metabólica de cuatro cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg, así como el efecto de estas en la interacción pH-temperatura sobre el crecimiento de *Alternaria solani* Sorauer, procedente de papa. Los resultados de los tratamientos se compararon mediante análisis de varianza factorial y prueba de Tukey. Las cepas de *T. asperellum* presentaron un alto efecto inhibitorio del crecimiento del patógeno *A. solani*, mediante la emisión de metabolitos volátiles y no volátiles; la cepa de *Ta. 85* se destacó por presentar los mejores resultados en todos los ensayos realizados. Hubo diferencias significativas entre los tres factores estudiados, lo que indica que hay interacción entre la temperatura, pH y cepa. Al pH 5,2 y temperatura de 35°C se observó el mayor efecto inhibitorio del crecimiento de *A. solani*. En las interacciones hifales predominaron la granulación, la lisis y la vacuolización del contenido citoplasmático celular en el micelio de los patógenos. Los resultados sugieren que esta cepa pudiera ser promisoría para el control biológico del patógeno en el cultivo de la papa.

**Palabras clave:** antibiosis, control biológico, metabolitos.

**ABSTRACT:** The objective of the work was to determine the effect of the metabolic activity of four strains of *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg as well as their effect on the pH-temperature interaction on the growth of *Alternaria solani* Sorauer from potato. The results of the treatments were compared by a factorial analysis of variance and the Tukey test. The strains of *T. asperellum* showed a high inhibitory effect on the growth of the pathogen *A. solani* through the emission of volatile and non-volatile metabolites, standing out the strain *Ta. 85* for presenting the best results in all the tests performed. There were significant differences among the three factors in study, indicating an interaction between temperature, pH and the strain. The highest growth inhibitory effect of *A. solani* was observed at pH 5.2 and 35°C. In the hyphal interactions, the granulation, lysis and vacuolization of the cellular cytoplasmic content in the mycelium of the pathogens predominated. These results suggest that this strain could be promising for the biological control of this pathogen in potato.

**Key Words:** Antibiosis, Metabolites, *A. solani*, *T. asperellum*.

\*Autor para correspondencia: Edwin Ronnie-Gakegne. E-mail: [gakegne@yahoo.fr](mailto:gakegne@yahoo.fr), [ronnie@censa.edu.cu](mailto:ronnie@censa.edu.cu); [bmcoca@censa.edu.cu](mailto:bmcoca@censa.edu.cu)

Recibido: 17/01/2018

Aceptado: 05/04/2018

## INTRODUCCIÓN

El Tizón temprano, causado por el hongo *A. solani* Sor., es una de las enfermedades foliares más importantes a nivel mundial y en Cuba, tanto en el cultivo de la papa como en el tomate (1). En el cultivo de la papa ataca tallos y tubérculos, además del follaje, y afecta el rendimiento, ya que puede ocasionar hasta 30 % de pérdidas en áreas con condiciones climáticas favorables para su desarrollo (2,3). En Cuba, se estimaron pérdidas entre 17 y 37 % en investigaciones con seis cultivares comerciales durante tres campañas (4).

El Tizón temprano es la enfermedad foliar más importante del cultivo de papa, después del Tizón tardío, y se presenta con mayor incidencia en las zonas ubicadas en regiones húmedas y cálidas (5).

Actualmente, el control biológico ocupa un lugar importante entre las prácticas de manejo de enfermedades de las plantas causadas por patógenos fúngicos (6), cuyo uso logra disminuir considerablemente la incidencia del fitopatógeno con el mínimo impacto para el ambiente y la salud humana (7).

Las especies del género *Trichoderma* son los antagonistas más utilizados para el manejo de enfermedades de plantas producidas por hongos, debido a su ubicuidad, su facilidad para ser aisladas y cultivadas, su crecimiento rápido en un gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores (7,8).

Los mecanismos por los que las cepas del género *Trichoderma* enfrentan al fitopatógeno son, fundamentalmente, de tres tipos: competencia por espacio o nutrientes (7,9,10,11,12), producción de metabolitos antibióticos, ya sean volátiles o no (7,12), y parasitismo sobre estructuras de los hongos fitopatógenos (9).

El Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) cuenta con cepas promisorias de *T. asperellum* identificadas y caracterizadas morfo, fisiológica y molecularmente, las cuales tienen efecto frente a una gama de hongos causantes de

enfermedades en cultivos de importancia económica como: tomate (*Solanum lycopersicum* L.), pimiento (*Capsicum annuum* L.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y arroz (*Oryza sativa* L.) (13).

Teniendo en cuenta estos antecedentes, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto de metabolitos de cepas de *T. asperellum* sobre *A. solani*, así como el efecto de la interacción pH-temperatura en el antagonismo sobre la base del crecimiento del patógeno.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Origen de los cultivos microbianos y producción de inóculos

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Micología Vegetal del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) (Latitud 22,991867; Longitud -82,153892), provincia Mayabeque, Cuba.

Como agente de control biológico, se utilizaron las cepas de *T. asperellum* Ta.1, Ta.12, Ta.25y Ta.85 procedentes de la Colección del Laboratorio de Micología Vegetal del CENSA, seleccionadas integralmente por su acción parasítica frente a *A. solani* en estudios previos (14). Para la obtención del micelio del hongo, se tomaron discos de 5 mm de diámetro de las cuatro cepas y se sembraron en placas Petri (90 mm de Ø) con medio Agar Malta (AM) (BIOCEN) durante 72 horas a 30±1°C y oscuridad.

Como agente patógeno, se usó el aislamiento de *A. solani* No. 160, previamente aislado de hojas de papa con síntomas típicos de Tizón temprano, procedentes de la provincia Las Tunas, perteneciente a la colección del Laboratorio de Micología Vegetal del CENSA. Para la obtención del micelio del hongo, se tomaron discos de 5 mm de diámetro y se sembraron en placas Petri con medio Papa Dextrosa Agar (PDA) (BIOCEN) durante siete días a 30±1°C y oscuridad.

Los inóculos de los hongos, para todos los experimentos, consistieron en discos de 5 mm de diámetro, que se tomaron a partir de la periferia de las colonias.

### **Efecto de metabolitos volátiles de *T. asperellum* sobre *A. solani***

El efecto de metabolitos volátiles se evaluó según la metodología descrita por Mokhtar y Dehimat (15), con algunas modificaciones. Se vertió medio de cultivo PDA en placas Petri (70 mm de Ø), tanto en la base como en la tapa de las mismas, y se sembró, centralmente en la base, un disco de *T. asperellum*. Cuidadosamente se colocaron las tapas de las placas sin disco sobre las bases de cada placa inoculada con el antagonista. Las placas se incubaron a 30±1°C a oscuridad por 48 horas. Posteriormente, se sembró, centralmente, un disco de micelio de *A. solani* de 5 mm en las tapas. Como testigo se sembró un disco del patógeno en la tapa de igual manera, pero sin el antagonista en la base. Las placas Petri se sellaron con doble parafilm. Se hicieron tres réplicas (placa) por tratamiento – cepas *T. asperellum* (Ta.1, Ta.12, Ta.25, Ta.85) y *A. solani* (A. 160). Las placas se incubaron a 30 ±1°C.

El crecimiento micelial de *A. solani* se midió con una regla graduada cada 24 horas, hasta las 96 h. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) según la fórmula de Samaniego *et al.* (16).

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

R1 - es el radio del patógeno testigo

R2 - es el radio del patógeno en enfrentamiento.

### **Efecto de metabolitos no volátiles de *T. asperellum* sobre *A. solani***

Para la obtención de las suspensiones miceliales a utilizar, se sembraron las cuatro cepas de *T. asperellum* en placas Petri (90 mm de Ø) contentivas de medio PDA y se incubaron durante siete días a 30±1°C. Posteriormente, se vertió agua destilada estéril en cada placa Petri y se raspó con una espátula, cuidadosamente, el contenido de la placa. Se maceraron por 30 segundos los fragmentos miceliales hasta romper los fragmentos grandes. Las suspensiones se filtraron a través de filtros miliporos de 0,45 µm (Sartorius) en vasos precipitados estériles. Se embebieron discos de 5 mm de micelio del patógeno por cinco minutos en el filtrado de cada

una de las cepas, separadamente. Por último, se sembraron centralmente en placas Petri (90 mm de Ø) con medio de cultivo PDA. Como controles se usaron placas sembradas con discos del patógeno embebidos, por cinco minutos, en agua destilada estéril. Las placas se incubaron a 30±1°C y oscuridad. Por variante se hicieron cinco réplicas. Se midió el crecimiento radial del patógeno con una regla graduada cada 24 horas, hasta las 192 h. Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) según la fórmula de Samaniego *et al.* (16).

### **Efecto del pH sobre la interacción *T. asperellum* - *A. solani* a diferentes temperaturas**

Para este experimento se usó el medio de cultivo PDA a los siguientes pH: 5,2; 6 y 7, comprobados después de la esterilización del medio. Se realizó el cultivo dual (CD) en las placas Petri (90 mm de Ø) con los medios ajustados a los diferentes pH, según Bell *et al.* (17). En una misma placa se sembró un disco de micelio de la colonia de *Trichoderma* y otro del patógeno, a una distancia aproximada de 70 mm. Seguidamente, las placas se sellaron e incubaron a las temperaturas: 20, 25, 30 y 35°C, a oscuridad. Se realizaron tres réplicas por tratamientos y, como controles, se dejaron placas sembradas de igual manera que las anteriores, pero sin el antagonista. Las evaluaciones del crecimiento de ambos hongos se realizaron con una regla graduada a las 18, 42, 66, 90 y 162 h.

El tipo de interacción hifal (lisis, vacuolización, granulación, enrollamiento y penetración) entre el antagonista y el patógeno se observó al microscopio óptico Zeiss (400/630x), a partir de fragmentos de micelio (tres réplicas por tratamiento), tomados de la zona de contacto entre ambos hongos.

Los datos de los experimentos se tabularon en Microsoft Excel y se procesaron mediante análisis de varianza factorial. Las medias se compararon según prueba de comparación de rangos múltiples de Tukey para un nivel de confianza de 95 %. Se empleó el paquete estadístico InfoStat/Profesional versión 1.1 (18).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto de metabolitos volátiles de *T. asperellum* en el crecimiento de *A. solani*

La inhibición del crecimiento micelial de *A. solani*, inducida por los metabolitos volátiles producidos por las cuatro cepas de *Trichoderma*, osciló de 16,22 a 73,08 %; a las 48 h se observaron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) con el control (Tabla 1), con excepción de los metabolitos de la cepa *Ta. 25*. Los metabolitos volátiles de la cepa *Ta. 85* mostraron diferencias estadísticas desde las primeras 24 h respecto al control, y a las 72 h, además, con los metabolitos de la cepa *Ta. 25*. No obstante, a las 96 h no se detectaron diferencias significativas en la inhibición del crecimiento del patógeno entre los metabolitos de las cepas, pero sí con el del control.

En esta investigación se observó que no todas las cepas de *Trichoderma*, aún pertenecientes a la misma especie, tienen la misma efectividad inhibitoria sobre *A. solani*. La variabilidad de la capacidad antagónica de las cepas de *Trichoderma* utilizadas en este trabajo puede deberse a que cada cepa tiene diferente(s) mecanismo(s) de acción, velocidad de crecimiento, entre otras causas. Esto tiene relación con lo descrito por Hernández *et al.* (19), quienes notificaron que 20 de las 31 cepas de *Trichoderma* spp. produjeron metabolitos volátiles que inhibieron el crecimiento de *Rhizoctonia solani* Kühn entre 7,81 a 51,56 %. Esto confirma lo planteado por Martínez *et al.*

**TABLA 1.** Porcentaje de inhibición del crecimiento de *A. solani* por los metabolitos volátiles de las diferentes cepas de *T. asperellum*. / Percentage of mycelia growth inhibition of *A. solani* by the volatile metabolites of different strains of *T. asperellum*

Cepas de <i>Trichoderma</i>	Crecimiento y porcentaje de inhibición de <i>A. solani</i>							
	24 h		48 h		72 h		96 h	
	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%
<i>Ta.1</i>	1,60 ab	38,46	5,60 a	24,32	7,80 ab	33,90	10,80 a	26,03
<i>Ta.12</i>	1,80 ab	30,77	6,00 a	18,92	9,00 ab	23,73	10,80 a	26,03
<i>Ta.25</i>	1,40 ab	46,15	6,20 ab	16,22	9,40 b	20,34	11,00 a	24,66
<i>Ta.85</i>	0,70 a	73,08	5,20 a	29,73	6,40 a	45,76	9,00 a	38,36
Control	2,60 b	-	7,40 b	-	11,80 c	-	14,60 b	-
ESx		0,17		0,20		0,40		0,49
CV		0,54		0,16		0,23		0,22

(13), que los mecanismos de acción con fines de control biológico están más estrechamente relacionados con la cepa que con la especie de *Trichoderma*.

Los resultados están en correspondencia con los de Sanmartín *et al.* (7), quienes informaron que los metabolitos volátiles de cuatro cepas de *T. asperellum* inhibieron el crecimiento de *Fusarium* sp. y de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. entre 42,4 % y 66,8 %, aunque no hubo diferencias significativas entre los metabolitos volátiles de las cepas frente al último patógeno. Mientras que Yao *et al.* (12) observaron inhibición significativa del crecimiento de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary por los metabolitos producidos por el aislamiento HNA14 de *Trichoderma*. Resultados semejantes se notificaron por Stazonelli *et al.* (11), pues observaron inhibición del crecimiento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, entre 93, 33 y 89, 31 % por la emisión de metabolitos volátiles de 16 aislamientos de *Trichoderma*.

Los resultados de la presente investigación son similares a los Mokhtar y Dehimat (15), ya que usaron el mismo método y mostraron que las sustancias metabólicas volátiles de *Trichoderma harzianum* Rifai inhibieron el crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* Pers.:Fr., *Cladosporium* sp., *Stemphylium botryosum* Wallroth entre 13,33 % y 50 %, respectivamente. Además, detectaron una disminución de la inhibición del crecimiento del patógeno con el

paso del tiempo. Esto también se observó en el presente ensayo. Probablemente, este efecto se deba a que la acumulación de metabolitos tóxicos al patógeno disminuye con el tiempo, por lo que esta acción quizás solo tenga efecto fungistático.

Los resultados evidencian que las cepas de *T. asperellum* en estudio pueden manifestar su potencial antagonico en un periodo de 1 a 4 días. Esto se debe tener en cuenta como un indicador para la selección de cepas promisorias de *Trichoderma* para el manejo de *A. solani* en papa.

### Efecto de metabolitos no volátiles de *T. asperellum* sobre el crecimiento de *A. solani*

Los metabolitos no volátiles de las cepas de *T. asperellum* inhibieron el crecimiento de *A. solani* desde 10,64 a 85,71 %, con diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) con el control a partir de las 48 h. Los metabolitos de la cepa *Ta. 85* inhibieron el crecimiento de *A. solani* desde las 24 hasta las 192 h, con diferencias estadísticas respecto a las restantes variantes (Tabla 2). Los resultados de este ensayo mantienen la tendencia del experimento anterior, donde la cepa *Ta. 85* muestra la mayor actividad antagonica y estabilidad. Stazonelli *et al.* (11) informaron que los metabolitos no volátiles de 19 cepas de *Trichoderma* mostraron elevados porcentaje de inhibición del crecimiento de *S. sclerotiorum*. Similares resultados alcanzaron Montealegre *et al.* (20) y Hernández *et al.* (19), quienes obtuvieron inhibición del crecimiento de *R.*

*solani* con metabolitos secundarios no volátiles producidos por *Trichoderma* spp.

De manera general, los resultados de este trabajo evidenciaron que *Trichoderma* tiene compuestos que, al ser excretados al medio, limitan el crecimiento del hongo patógeno. Este tipo de antagonismo, reconocido como antibiosis, es un modo de acción que pudiera estar asociado a una exoquitinasa extracelular, que provoca la liberación de algunos oligómeros de la pared del hongo diana e induce la expresión de endoquitinasas del micoparásito (21). Al ser estas liberadas, difunden y hacen que *Trichoderma* comience el ataque al hongo diana, antes del contacto físico entre ellos (22). Según estos resultados, la acción de metabolitos tóxicos (volátiles y no volátiles) de las cepas de *Trichoderma* es fungistática. Estos compuestos limitan la colonización del sustrato a los microorganismos en su radio de acción (13). Los resultados amplían los conocimientos sobre este género demuestran la existencia de cierta especificidad en el modo de acción de las cepas de *T. asperellum* evaluadas y ofrecen perspectivas para su uso y el de sus metabolitos. Esto pudiera contribuir al perfeccionamiento del manejo integrado del Tizón temprano en el cultivo de la papa.

**TABLA 2.** Porcentaje de inhibición del crecimiento de *A. solani* por los metabolitos no volátiles de las diferentes cepas de *T. asperellum*. / Percentage of mycelia growth inhibition of *A. solani* by non-volatile metabolites of different strains of *T. asperellum*.

Cepas de <i>Trichoderma</i>	Crecimiento y porcentaje de inhibición de <i>A. solani</i> a diferentes momentos de evaluación											
	24 h		48 h		72 h		96 h		168 h		192 h	
	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%	mm	%
<i>Ta.1</i>	0,90 b	35,71	5,00 b	44,44	9,60 b	31,43	15,00 b	10,71	28,60 ab	12,27	33,00 b	12,23
<i>Ta.12</i>	0,80 ab	42,86	5,20 b	42,22	9,00 b	35,71	13,80 b	17,86	28,20 ab	13,50	33,60 b	10,64
<i>Ta.25</i>	0,90 b	35,71	6,20 b	31,11	10,60 b	24,29	13,60 b	19,05	28,80 b	11,66	32,80 b	12,77
<i>Ta.85</i>	0,20 a	85,71	2,80 a	68,89	6,00 a	57,14	9,40 a	44,05	26,20 a	19,63	29,40 a	21,81
Control	1,40 b		9,00 c		14,00 c		16,80 c		32,60 c		37,60 c	
ESx	0,10		0,44		0,54		0,52		0,49		0,59	
CV	0,59		0,39		0,27		0,19		0,08		0,09	

## Efecto del pH sobre la interacción *T. asperellum* - *A. solani* a diferentes temperaturas

De manera general, se encontró que existe interacción entre los factores en estudio (pH, temperatura y cepa).

Al analizar los tres factores se observó que, para todas las cepas de *T. asperellum* evaluadas, la temperatura de 35°C afectó el crecimiento de *A. solani* a todos los pH (Fig. 1). Independientemente de la cepa, la mejor interacción pH-temperatura en la inhibición del patógeno en estudio es pH 5,2 y temperatura de 35°C; se destacan las cepas *Ta.* 12 y *Ta.* 85. La menor inhibición del patógeno se produjo a los pH 6 y 7 a las temperaturas 20 y 30°C.

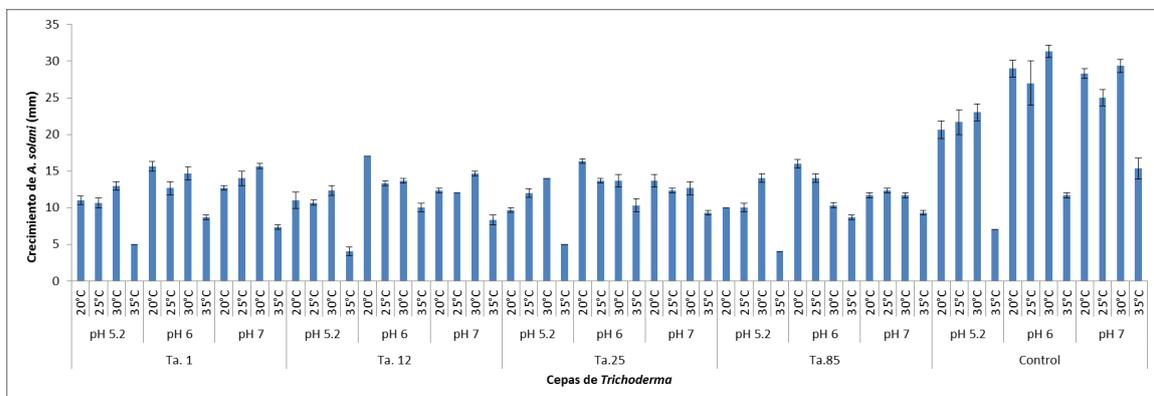
Estos resultados indican que para diferentes ambientes, en dependencia de los valores del pH y de la temperatura, se necesitan cepas que tengan mayor plasticidad ecológica, para que su antagonismo pueda actuar en cualquier interacción de temperatura-pH.

En las bibliografías consultadas no se encontraron resultados del efecto antagonístico de *Trichoderma* en la interacción pH-temperatura. No obstante, Petrișor *et al.* (22) tuvieron, con cepas de *Trichoderma* spp., mayor efecto inhibitorio del crecimiento de *R. solani* a pH 5,5 y temperatura 30°C. Ruano *et al.* (23) observaron que, de ocho aislados de *Trichoderma*, siete ejercieron inhibición sobre los aislados de *Rosellinia necatrix* Berl. ex Prill a 25°C.

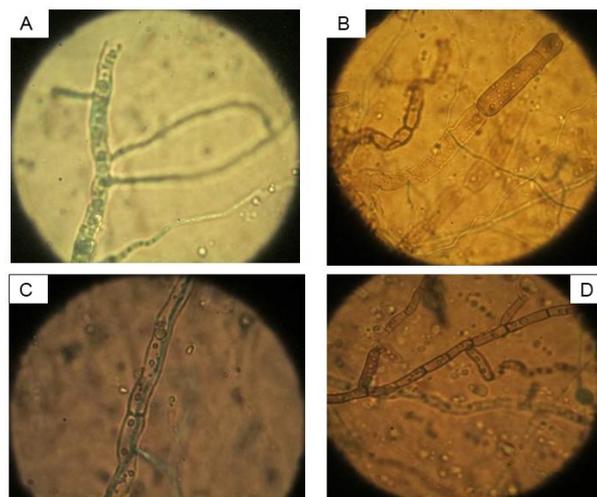
Según Martínez *et al.* (13), las temperaturas entre 25 y 30°C están relacionadas con mayor desarrollo de *Trichoderma*, aunque pueden crecer a 35°C; esto está más relacionado con el aislamiento que con la especie. Estos mismos autores informaron que las especies de *Trichoderma* no son exigentes con relación al pH del sustrato; pueden crecer en suelos con pH desde 5,5 a 8,5, aunque los valores óptimos se encuentran entre 5,5-6,5, es decir, en un ambiente ligeramente ácido.

El Tizón temprano se desarrolla a temperaturas entre 10 y 35°C y pH de 4,5 a 7,5 (2), por lo que para obtener una inhibición estable del crecimiento del patógeno se necesita seleccionar cepas de *Trichoderma* que expresen su antagonismo en ese intervalo. La cepa que cumple con estas condiciones, de manera general, es la *Ta.*85.

En las interacciones hifales se observaron micoparasitismo, granulación, lisis y vacuolización de las paredes de las hifas de *A. solani* (Fig. 2); los tres últimos son los que predominan (Tabla 3). Esto es una evidencia de la presencia de enzimas extracelulares del antagonista con actividad lítica, como quitinasas, glucanasas y/o proteasas, entre otras (9), sobre las hifas del patógeno. Es de destacar que, independientemente que las cepas de *Trichoderma* a pH 5,2 mostraron la mayor inhibición del crecimiento de *A. solani*, la mayoría de estas ocasionaron lisis a pH 6 a las diferentes temperaturas, excepto a 25°C. Por otro



**FIGURA 1.** Crecimiento micelial de *A. solani* en CD con las cepas de *T. asperellum* bajo la interacción pH-temperatura a las 162 horas. / Effectiveness of the interaction pH-temperature on the inhibition of the micelial growth of *A. solani* at 162 hours.



**FIGURA 2.** Interacciones hifales de cepas de *T. asperellum* sobre aislamiento de *A. solani* A: *Ta.25*-Granulación; B: *Ta.12*-Lisis; C: *Ta.85*-Micoparasitismo y D: *Ta.85*-Vacuolización. / *Hyphal interactions of strains of T. asperellum on an isolate of A. solani* A: *Ta.25*-Granulation; B: *Ta.12*-Lysis; C: *Ta.85*-Micoparasitism and D: *Ta.85*-Vacuolization

**TABLA 3.** Interacciones hifales de las cepas de *T. asperellum* frente a *A. solani* a diferentes pH y temperaturas. / *Hyphal interactions of the strains of T. asperellum on A. solani at different values of pH and temperature.*

Cepas	Temperaturas °C				
	20	25	30	35	
pH 5,2	1	GV		GV	GV
	12	GV	G	GV	GVL
	25	G	V	GVL	GV
	85	GV	GLP	GLP	GVL
pH 6		20	25	30	35
	1	GVL	GV	GV	V
	12	GV	GV	GVL	G
	25	GVL	G	GVL	GV
	85	GVL	GV	GVL	GVL
pH 7	Cepas	20	25	30	35
	1	GV			G
	12	GV	G	G	GV
	25	G	V	G	GV
	85	GV	GL	GV	GV

lado, la mayor cantidad de interacciones hifales a los diferentes pH estuvo vinculada con las temperaturas: a pH 5,2 - 35 y 30°C, pH 6 - 30°C y pH 7 - 20 y 35°C. Los resultados pudieran servir para el manejo de las aplicaciones de este control biológico.

### CONCLUSIONES

Las cepas de *T. asperellum* presentaron, en mayor o menor medida, capacidad de inhibir el

crecimiento de *A. solani* mediante metabolitos volátiles y no volátiles.

Las cepas de *T. asperellum* manifestaron diferencias en su antagonismo a diferentes valores de pH y temperatura.

Se evidenció, en las interacciones hifales, que hubo presencia de enzimas extracelulares del antagonista con actividad lítica sobre las hifas del patógeno, donde predominaron la granulación, la lisis y la vacuolización.

Existe especificidad en la capacidad inhibitoria de las cepas de *T. asperellum* frente al patógeno; la más promisoría es la *Ta*. 85.

### REFERENCIAS

1. Paz NR, Polanco ÁG, Gómez RS, Noris NP. Comportamiento del tizón temprano del tomate (*Alternaria solani*) en las condiciones del municipio de Holguín, Cuba. Fitosanidad. 2013;17(2): 75-81. ISSN: 1562-3009.
2. Ministerio de Agricultura. Instructivo Técnico para la Producción de Papa en Cuba. República de Cuba. Ministerio de la Agricultura. Dirección de Agricultura. 2016; 1-62.
3. Acuña BI, Sandoval C. Enfermedades de la papa: Tizón temprano de la papa. INIA. Ficha Técnica 49. 2017.
4. Castellanos Cl. Nocividad, epidemiológica y manejo del tizón temprano (*Aternaria solani* Sor) en el cultivo de la papa. [Tesis presentada en opción del Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas]. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Central de Las Villas. Cuba. 2000.
5. Veitía N, García LR, Bermúdez-Carabaloso I, Acosta-Suárez M, Leiva-Mora M, Alvarado-Capó Y, et al. Protocolo para la selección *in vitro* de plantas de papa resistentes al filtrado de cultivo de *Alternaria solani* Sor. Biotecnología Vegetal. 2009; 9(1): 27-32. ISSN 1609-1841.
6. Domingues Fernandes MVP, De Moura KE, Salomão D, Elias LM, Alves Patricio FR. Effect of temperature on mycelial growth of *Trichoderma*, *Sclerotinia minor* and *S. sclerotiorum*, as well as on mycoparasitism. Summa Phytopathol. 2016; 42(3): 222-227. ISSN 0100-5405.
7. Sanmartín-Negredo P, López X, Pemberthy MP, Granada-Sinar D, Rueda-Lorza EA. Análisis del modo de acción y de la capacidad antagonica de *Trichoderma asperellum* sobre *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium* sp. Rev. Tumbaga. 2012; 2(7): 29-49.
8. Camargo-Cepeda DF y Ávila ER. Efectos del *Trichoderma* sp. sobre el crecimiento y desarrollo de la arveja (*Pisum sativum* L.). Ciencia y Agricultura. 2014; 11(1): 91-100.
9. Vargas-Hoyos HA, Rueda-Lorza EA, Gilchrist-Ramelli E. Actividad antagonica de *Trichoderma asperellum* (fungi: ascomycota) a diferentes temperaturas. Actualidad Biológica. 2012; 34(96): 103-112.
10. Acosta-Suárez M, Pichardo T, Roque B, Cruz-Martín M, Mena E, Leiva-Mora M, et al. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai contra *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Biotecnología Vegetal 2013; 13(4): 231-235.
11. Stazonelli EA, Yasem MG, Ploper DL. Inhibición de *Sclerotinia sclerotiorum* por metabolitos volátiles y no volátiles producidos por especies nativas del género *Trichoderma*. Rev. agron. noroeste argent. 2014; 34(2):197-199.
12. Yao Y, Li Y, Zhiquan C, Zheng B, Zhang L, Niu B, et al. Biological control of potato late blight using isolates of *Trichoderma*. American Journal of Potato Research. 2016; 93(1):33-42. Doi:10.1007/s12230-015-9475-3
13. Martínez B, Infante I D, Reyes Y. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Rev. Protección Veg. 2013; 28(1): 1-11.
14. Gakegne ER, Martínez B. Evaluación *in vitro* de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg como antagonistas de *Alternaria solani* Sorauer. Rev. Protección Veg. 2015; 30(1): 73.
15. Mokhtar H, Dehimat A. Antagonism capability *in vitro* of *Trichoderma harzianum* against some pathogenic fungi. Agric. Biol. J. N. Am. 2012; 3(11):452-460. ISSN: 2151-7517.
16. Samaniego G, Ulloa S, Herrera S. Hongos del suelo antagonistas de *Phymatotrichum omnivorum*. Rev. Mex. Fitopatología. 1989; 8:86-95.

17. Bell DK, Wells HD, Markam CR. In vitro antagonism of *Trichoderma* spp. against six fungal pathogens. *Phytopathology*. 1982; 72(4):379-382.
18. Di Rienzo J, Balzarini M, Casanoves F, González L, Tablada M, Walter CR. InfoStat versión 1.1. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 2002.
19. Hernández EO, Castillo FD, Herrera RR, Fuentes SE, Drouaillet BE, Santillán JA. Actividad antagónica de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia solani* *in vitro*. *Investigación y Ciencia*. 2016; 24(67): 5-11.
20. Montealegre JR, Ochoa F, Besoain X, Herrera R, Pérez LM. In vitro and glasshouse biocontrol of *Rhizoctonia solani* with improved strains of *Trichoderma* spp. *Cienc. Inv. Agr.* 2014; 41(2):197-206.
21. Martínez B, Obret Y, Pérez S, Reyes Y. Antagonismo *in vitro* de cepas de *Trichoderma* spp. frente a *Sarocladium oryzae* (Sawada) W. Gams & D. Hawksworth. *Rev. Protección Veg.* 2014; 29(2):106-111.
22. Petrișor C, Paica A, Constantinescu F. Temperature and pH influence on antagonistic potential of *Trichoderma* sp. strains against *Rhizoctonia solani* Kühn. Series B, Horticulture 2016; Vol. LX: 275-278. ISSN 2286-1580.
23. Ruano-Rosa D, Del Moral-Navarrete L, López-Herrera CJ. Estudio de temperaturas de crecimiento *in vitro* en aislados de *Trichoderma* sp. y de *Rosellinia necatrix*. Evaluación del antagonismo mediante cultivos duales. V Congreso Mundial del Aguacate. 2003; 525-529.

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.