

Artículo de investigación

Caracterización y comportamiento biológico de una cepa nativa de *Trichoderma harzianum* Rifai del Sur del Lago de Maracaibo, Venezuela

Characterization and biological behavior of a native strain of *Trichoderma harzianum* Rifai from Sur del Lago of Maracaibo, Venezuela

Pineda-Zambrano Maryori C.¹; Pineda Daniel A.²; Labarca Johanna L.³; González-García Hebandreyna⁴

¹Laboratorio de Fitopatología, Programa de Ingeniería de la Producción Agropecuaria, Universidad Nacional Experimental Sur del Lago “Jesús María Semprum” (UNESUR), Santa Bárbara, estado Zulia. Venezuela, Código postal 5148, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4597-2420>. Autor de correspondencia correo electrónico: ingmaryoripineda@gmail.com, pinedamc@unesur.edu.ve; Número de teléfono: +5804149796087. ²Programa de Ingeniería de la Producción Agropecuaria, Universidad Nacional Experimental Sur del Lago “Jesús María Semprum” (UNESUR), Santa Bárbara, estado Zulia. Venezuela, Código postal 5148, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4068-2600>. ³Fundadora y Directora de Turística Sustentable, General Adolfo Holley # 133, Providencia, Chile. Código postal 7500000, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-746-590>. ⁴Laboratorio de Suelos, Programa de Ingeniería de la Producción Agropecuaria, Universidad Nacional Experimental Sur del Lago “Jesús María Semprum” (UNESUR), Santa Bárbara, estado Zulia. Venezuela. Código postal 5148, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9622-1139>.

RESUMEN

La tendencia mundial de conversión hacia la agricultura sostenible fomenta la búsqueda y utilización de productos agroecológicos nativos de las zonas de su interés. El objetivo de esta investigación fue caracterizar la cepa nativa de *Trichoderma harzianum* proveniente del bosque seco tropical del Sur del Lago de Maracaibo y estudiar su potencial biológico como antagonista bajo condiciones in vitro. Para ello, se analizó 30 muestras de suelo procedentes de plantaciones plataneras de 10 sectores de la zona en estudio; los aislamientos se realizaron empleando el método de dilución de suelo hasta obtener una concentración de 10⁻³, las alícuotas obtenidas por muestra fueron sembradas en platos Petri con agar-agua (AA) e incubadas bajo condiciones controladas. Desarrolladas las colonias se observó, contabilizó y aisló cada desarrollo fúngico en cultivos axénico en papa dextrosa agar (PDA). El estudio macro y micromorfológico de cada aislado obtenido permitió tipificar un aislado como *Trichoderma harzianum*. Posteriormente, se evaluó el comportamiento de estos con el patógeno *Colletotrichum acutatum* bajo condiciones in vitro mediante la técnica de cultivo dual en PDA, realizando mediciones cada 48 horas por 8 días para determinar: capacidad de competencia, micoparasitismo a través del porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) y cualidad de antibiosis entre la cepa en estudio y el patógeno. Los resultados mostraron el potencial antagonístico de la cepa aislada, mostrando la acción micoparasítica en grado 4, con invasión total de la colonia y esporulación sobre esta y un PICR de 62,22% con presencia de la formación de un halo de inhibición hacia el patógeno, posiblemente por la actividad metabólica de la especie.

Palabras clave: antagonista, *Colletotrichum acutatum*, confrontamiento, control biológico.

ABSTRACT

The global trend of conversion towards sustainable agriculture encourages the search and use of native agro-ecological products of the areas of interest. The objective of this research was to characterize the native strain of *Trichoderma harzianum* Rifai from the tropical dry forest of the Sur del Lago of Maracaibo and to study its biological potential as an antagonist under in vitro conditions. To do this, 30 soil samples from banana plantations in 10 sectors of the study area were analyzed; the isolations were made using the soil dilution method until obtaining a concentration of 10⁻³, the aliquots obtained per sample were seeded in Petri dishes with agar-water (AA) and incubated under controlled conditions. Once the colonies were developed, each fungal development was observed, counted and isolated in axenic cultures on potato dextrose agar (PDA). The macro and micromorphological study of each isolate obtained allowed the typification of one isolat as *Trichoderma harzianum*. Subsequently, the behavior of these with the pathogen *Colletotrichum acutatum* was evaluated under in vitro conditions using the dual culture technique in PDA, making measurements every 48 hours for 8 days to determine: competition capacity, mycoparasitism through the percentage of growth inhibition radial (PICR) and quality of antibiosis between the strain under study and the pathogen. The results showed the antagonistic potential of the isolated strain, showing the mycoparasitic action in grade 4, with total invasion of the colony and sporulation on it and a PICR of 62,22% with the presence of the formation of an inhibition halo towards the pathogen, possibly due to the metabolic activity of the species.

Keywords: antagonist, *Colletotrichum acutatum*, confrontation, biological control.

Recibido: 23-04-2020

Aceptado: 17-06-2020

Publicado: 17-06-2020

Autor de correspondencia: Pineda-Zambrano Maryori
Universidad Nacional Experimental Sur del Lago “Jesús María Semprum” (UNESUR). Correo: ingmaryoripineda@gmail.com

Introducción

Entre los factores que declinan la producción y productividad del sector agrícola mundial se encuentra los daños ocasionados por plagas y enfermedades en los cultivos agrícolas. A partir de su aparición, el hombre ha desarrollado distintas estrategias para poder contrarrestar la acción de los patógenos que van desde la rotación de cultivos hasta la utilización de plantas resistentes, pasando por el uso de agentes químicos fitosanitarios, siendo este último el de mayor preferencia por los productores. El uso cotidiano de esos químicos contribuye a la crisis de la agricultura que dificulta la preservación de los ecosistemas, los recursos naturales, y afecta negativamente la salud de las comunidades rurales y de los consumidores urbanos. La búsqueda de la productividad a corto plazo por encima de la sustentabilidad ecológica, practicada en las últimas décadas, ha dejado un saldo a nivel mundial de contaminación y envenenamiento donde el pretendido remedio universal ha resultado ser peor que la enfermedad (UNODC, 2010). Hoy día es prioritaria una agricultura limpia, sin contaminantes y generadora de productos inocuos que contribuyan a la seguridad alimentaria. El uso de hongos antagonista es una alternativa al uso de fungicidas (Alvarado et al., 2019).

Una vía para atenuar las afectaciones de hongos fitopatógenos es la utilización de alternativas ecológicas como medidas culturales, etológicas y el uso de microorganismos como agentes de biocontrol (Pérez-Torres et al., 2018), a partir de la utilización de antagonistas locales que permitan potenciar su acción sobre los organismos plagas. En la actualidad las especies del hongo del género *Trichoderma* se destacan en la agricultura alternativa (Astorga et al., 2014) debido a su plasticidad ecológica y los mecanismos de acción empleados en el antagonismo entre los que se encuentran: competencia, micoparasitismo (Awad et al., 2018), antibiosis (Nawrocka et al., 2018) y la producción de compuestos volátiles que reducen la infección de enfermedades en los cultivos (Osorio et al., 2016). Se ha determinado un efecto antagonico sobre los algunos agentes fitopatógenos: *Bipolaris*, *Phytophthora*, *Pyricularia*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Colletotrichum*, *Pythium* y *Fusarium* (González et al., 1999; García et al., 2001; Ulacio et al., 2002; Alarcón et al., 2005 y Pérez-Torres et al., 2018).

No todas especies de este género presentan en simultáneo los mecanismos señalados anteriormente, lo que hace que una especie los desarrolle es el nivel de agresividad de la cepa y esta a su vez depende de la procedencia directamente asociada al ambiente de donde es nativa y el ecosistema microbiano del cual por evolución de sobrevivencia este adaptado. En este sentido, la caracterización de una especie endémica de este género antagonista, potencia el éxito del control, en relación con otros bioproductos microbianos de su tipo (González et al., 1999). En función de ello, el presente trabajo tuvo como finalidad aislar, identificar, caracterizar y estudiar la capacidad biológica de la antagonica de la cepa nativa de *T. harzianum*

procedente del bosque seco tropical del sur del lago de Maracaibo.

Materiales y métodos

a. Tipo de estudio.

El estudio se llevó a cabo desde un paradigma positivista, con enfoque cuantitativo y un tipo de investigación descriptiva, el cual estuvo dividido en dos fases: 1) campo y 2) laboratorio. Para la fase de campo se tomó una población de diez (10) sectores dentro de la zona de vida Bosque Seco Tropical del Sur del Lago de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. La zona en general se caracteriza por presentar temperaturas promedios de 26,7 °C, precipitación entre 600 y 1500 mm/año, con dos picos de precipitación, uno en el mes de mayo y otro en el mes de octubre; los vientos predominantes tienen un rumbo nornoreste, en ocasiones con fuertes ráfagas y velocidades superiores a 50 km/h; la altura sobre el nivel del mar de la zona va desde 0,5 a 60 msnm (Méndez, 2003).

Los sectores muestreados fueron los siguientes: El Canal, Santa Rosa, El Chivo, Las Rurales y Mata de Coco, correspondiente al municipio Francisco Javier Pulgar y los sectores de El Paraíso, Dos Morales, Km. 18, Puerto Concha y Janeiro. Por cada sector, se muestreó tres (3) unidades de producción establecidas con producción de plátano cv hartón, tomando como consideración aquellas zonas cuyo manejo fuese el tradicional no tecnificado y que las superficies de las unidades de producción no excedieran a las 10 ha. En este sentido, la muestra total la conformaron 30 unidades de producción de la zona de estudio.

b. Métodos.

Los métodos aplicados fueron los siguientes:

Recolección de muestras: Se realizó por la técnica de muestreo compuesto en cada unidad de producción (UP). El procedimiento consistió en tomar muestras de suelo (10 a 15 sub-muestras, según la superficie de la UP) a partir del criterio de que las plantas se encontrarán en estado fenológico de prefloración, igualando las condiciones de los individuos muestreados (Coraspe y Tejera 2008), para ello, se procedió a realizar la limpieza del punto de muestreo (entre planta madre e hijo), y se efectuó una microcalicata de 15 cm de profundidad, de donde fue recolectado 500 g de suelo que constituyó la sub-muestras dentro del recorrido realizado en cada UP.

Aislamiento de los suelos: Se empleó la técnica de dilución de suelo hasta la concentración 10-3. La metodología consistió en pesar diez (10) g del suelo a los cuales fueron agregados 200 mL de agua destilada estéril (ADE), la mezcla fue agitada por 5 m y dejada en reposo por 30 m; constituyendo la “solución madre”. En forma paralela, se tomaron tres alícuotas de 90 ml de ADE, los cuales fueron colocados en forma individual y por orden sucesivo 10-1, 10-2, 10-3. Transcurrido el tiempo de reposo de la solución madre, se transvasaron 10 mL de la misma al recipiente identificado como (10-1), agitándolo continuamente por 5 m. Transcurrido este tiempo, se extrajeron 10 mL de esta solución y se transfirieron a la 10-2, repitiendo el procedimiento hasta la dilución 10-3 (Pineda et

al., 2009). Los platos Petri se encubaron a 27 ± 1 °C por cuatro semanas, tiempo en el cual se cuantificó las ufc (unidades formadoras de colonias) desarrolladas en el plato Petri y posteriormente se procedió al aislamiento, purificación de las colonias obtenidas durante el proceso.

Identificación de las especies de *Trichoderma*: Para la tipificación de las especies de *Trichoderma*, se tomaron en cuenta las características macroscópicas y micromorfológicas (esta última observadas bajo microscópico óptico en lente de 40X y 100X de aumento) que presentaron los aislados a los 3 y 6 días de desarrollo, evaluándolas con la ayuda de las claves taxonómicas de Rifai (1969) y Bissett (1991).

Origen del material biológico: Para estudiar el comportamiento in vitro del aislado de *T. harzianum*, se procedió a evaluar en condiciones controladas con un fitohongo identificado como *Colletotrichum acutatum*, aislado previamente a partir de muestras de tejido vegetal enfermo del cultivo de guanábana de la zona sur del lago de Maracaibo; y preservado en el Laboratorio de Microbiología y Fitopatología de la Universidad Nacional Experimental Sur del Lago “Jesús María Semprum”.

Comportamiento in vitro: Las pruebas se realizaron bajo la metodología de cultivo dual en medio PDA, colocando en un extremo del plato de Petri un disco 5 mm de diámetro con micelio de *T. harzianum* cepa nativa, y en el extremo opuesto otro disco de 5 mm con micelio del patógeno *C. acutatum*, a una distancia de 5 cm aproximadamente entre ellos; realizando 3 repeticiones. Los tratamientos evaluados y los controles del antagonista y patógeno, se incubaron, a una temperatura de 27 ± 1 °C. Las mediciones se realizaron a las 48, 96, 144 y 192 horas (Howell, 2003).

Variables a medir in vitro: La capacidad antagónica del aislamiento nativo se comprobó de tres formas: Primero: Midiendo el grado de micoparasitismo a través de la escala que propone Ezziyyani *et al.* (2004) (Tabla 1) y corroborando estos resultados a través de la interacción directa de las hifas por observación de un microscopio óptico con aumento de 40X.

Tabla 1. Escala para evaluación de la capacidad antagónica

Grado	Capacidad antagónica
0	Ninguna invasión de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
1	Invasión de ¼ de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
2	Invasión de ½ de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
3	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno.
4	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno esporulación sobre ella.

Fuente: Ezziyyani *et al.* (2004).

Segundo: Evaluando la competencia por espacio y nutrientes midiendo el radio de crecimiento del patógeno y antagonista en cultivo dual junto con sus respectivos testigos, con ayuda de un vernier. Además, de emplear la fórmula de porcentaje de

inhibición de crecimiento radial (PICR) utilizada por Ezziyyani *et al.*, (2004): $PICR = (R1 - R2)/R1 \times 100$. Donde R1 es el radio mayor (radio patógeno testigo) y R2 es el radio menor (radio del patógeno en enfrenta miento con el antagonista).

Y finalmente, tercero: La capacidad de antibiosis se evaluó cualitativamente por el crecimiento de patógeno en el cultivo dual antes del momento de contacto entre ambos hongos (48h), con respecto a su testigo, tomando en cuenta la capacidad antibiótica del *T. harzianum*, para promover la formación de un halo de inhibición durante el crecimiento radial del hongo patógeno, generalmente presenciado hasta los 10 días de crecimiento (Ezziyyani *et al.*, 2004).

c. Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos fueron tabulados en la herramienta ofimática de Microsoft Excel versión 2003 agrupados según las variables de estudios.

Resultados

Caracterización de la cepa del antagonista del bosque seco tropical del sur del lago de Maracaibo

De todas las muestras de suelo colectadas, solo en el sector El Canal se obtuvo una ufc con características compatibles al género antagonista, que posterior al aislado caracterizado se tipifico como el taxón *Trichoderma*. Rifai (1969) señala que este género de hongo es de tipo anaeróbico facultativo que se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios, pertenece a la subdivisión Ascomycetes en su fase telomórfica y es clasificada dentro del género *Hypocrea* (Chaverri *et al.*, 2004). Las características culturales y microscópicas que permitieron la identificación se asocian directamente al estado anamórfico de este. Al caracterizar sus estructuras macro y micromorfológicas desarrolladas se determinó la tipificación bajo la especie *T. harzianum*.

Las características macroscópicas que fueron observadas a los 3 y 6 días de desarrollo, se describen como colonias de textura algodonosa, topografía aérea de rápido crecimiento en medio PDA, el aislado inicialmente presentó una coloración blanca (Figura 1A); no obstante, una vez desarrollado el hongo la coloración se torna verde intenso con desarrollo concéntrico alrededor del plato Petri (Figura 1B), presenta agregados de conidios secos de color verde olivo de alta topografía y textura polvorienta (Figura 1C) y exudados hialinos (Figura 1D).

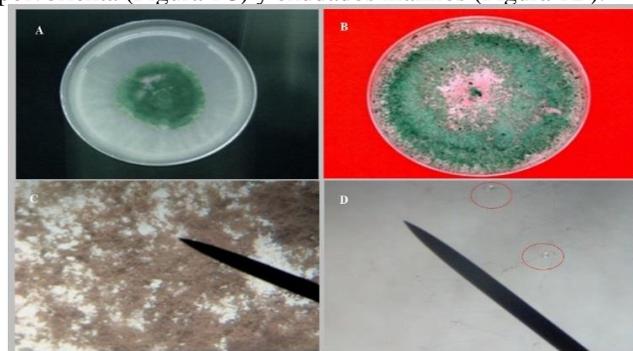


Figura 1. Características macroscópicas de *T. harzianum* aislado en el bosque seco tropical del sur del lago de Maracaibo a los 3 y 6 días. A. Observación de la colonia de *T. harzianum* a los 3 días de haber sido aislado. B. Colonia de *T. harzianum* a los 6 días. C. Agregados de conidios. D. Presencia de exudados hialinos

Por otra parte, micromorfológicamente (lente de 40 y 100X) se observó la formación de un conidióforo cerrado con disposición opuesta (Figura 2A), similar a un arbusto, fiálides ampuliforme (forma de botella) en números de 1 a 6 por verticilo (Figura 2B), agrupaciones de conidios de forma globosas, pared lisa y color verde (Figura 2C), alta presencia de clamidosporas (esporas de resistencia) de doble pared con ubicaciones terminales e intercaladas de forma globosa a sub-globosa (Figura 2D y 2E). Estas características coinciden con las descritas por Rifai (1969) caracterizando la especie *Trichoderma harzianum*.

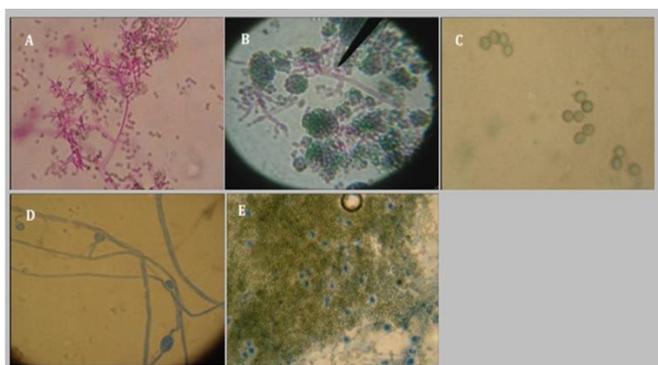


Figura 2. Características micromorfológicas de *T. harzianum* aislado en el bosque seco tropical del Sur del Lago de Maracaibo a los 3 y 6 días de haber sido aislado observadas en lente de 40X. A. Conidióforo cerrado. B. Agrupaciones de conidios y forma de las fiálides. C. Conidios de forma, pared lisa y color verde. D. Clamidosporas de forma sub-globosa y posiciones terminales e intercalas. E. Agrupaciones de conidios y clamidosporas en alta presencia.

Comportamiento in vitro de la cepa nativa aislada en el bosque seco tropical del sur del lago de Maracaibo frente al patógeno Colletotrichum acutatum.

El enfrentamiento in vitro mostró frente al patógeno confrontado una destacada capacidad antagonista. Para el caso de la variable micoparasitismo la cepa nativa de *T. harzianum* alcanzó el grado 4 según la escala descrita por Ezziyyani *et al.* (2004). Es decir, invasión total de la superficie del patógeno y esporulación sobre ella, logrando incluso desarrollarse por encima del patógeno antes de los 2 días de estudio, al evaluar la interacción de las hifas bajo microscopio se pudo observar que las hifas de *Trichoderma harzianum* se adhieren a las de *C. acutatum* (Figura 3A), mediante la formación de estructuras parecidas a ganchos y apresorios enrollándose alrededor de estas (Figura 3B) e incluso invade los tabiques internos del patógeno.

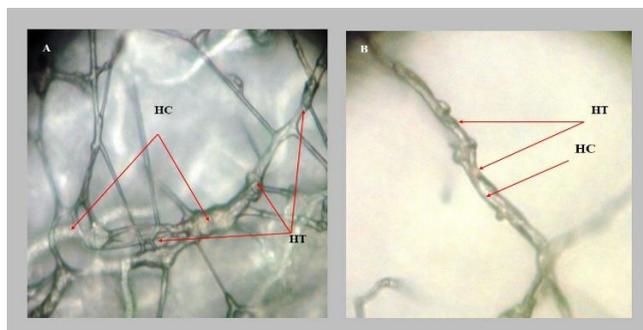


Figura 3. A. Interacción de las hifas *T. harzianum* cepa nativa sobre las hifas de *Colletotrichum acutatum*. B. Enrollamiento de las hifas *T. harzianum* sobre el *C. acutatum* (HC: Hifas de *Colletotrichum* HT: Hifas de *Trichoderma*).

Por otra parte, la capacidad de competencia del antagonista frente al patógeno en el cultivo dual mostró que el aislado nativo fue superior al del patógeno (Figura 4A), comparado con el testigo (Figura 4B) de este en el medio individual. Encontrándose para este caso un PICR de 62,22% al octavo día de estudio. Así mismo, es preciso describir que durante los días de ensayo el crecimiento de la cepa nativa fue superior que la del patógeno después de las 24 h de la evaluación impidiendo el desarrollo normal de este en más de 60% comparados con su control.

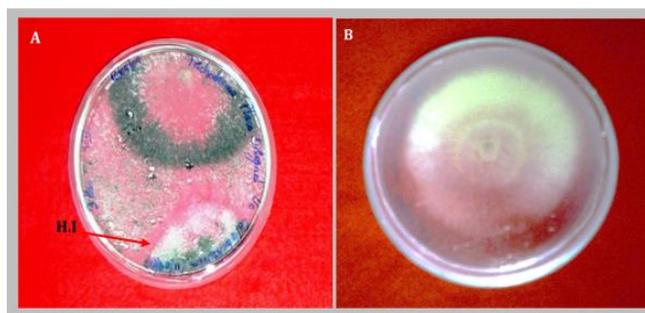


Figura 4. Actividad de competencia y antibiosis de la cepa nativa de *Trichoderma harzianum* sobre el hongo *Colletotrichum acutatum*. A. Cultivo dual, observación del halo de inhibición (H.I) entre el antagonista y el patógeno a las 96 horas. B. Testigo de crecimiento de *C. acutatum*, a las 96 horas.

Finalmente, la capacidad inhibitoria por antibiosis o liberación de metabolitos por parte de la cepa nativa sobre el crecimiento radial del patógeno, fue observada a las 72-96 h, a través de la formación de un halo de inhibición (Figura 4A), limitando significativamente el crecimiento radial a 37,32% del micelio del patógeno, en relación con su testigo. Es decir, que la masa vegetativa horizontal de este último solo creció 1,89 cm de diámetro comparado con los 5 cm del control solitario (Figura 4B). Sin embargo, se observó que la tasa de crecimiento del antagonista fue mayor en el transcurso de las horas (crecimiento), por lo que el mecanismo de competencia del antagonista desplazó el mecanismo de antibiosis visual

después de las 96 horas quedando el halo invadido por las hifas del antagonista.

Discusión

La identificación de esta especie en los suelos agrícolas del Sur de Lago de Maracaibo, Venezuela muestra la amplia distribución de este género fúngico en los agroecosistemas del mundo, al respecto Howell *et al.* (2003) señala que el género es polifacético y abunda en la mayoría de los suelos agrícolas, principalmente aquellos con altos niveles de materia orgánica. Sin embargo, los resultados demuestran una baja diversidad biológica para este taxón fúngico en la zona en estudio completa (zona bosque seco tropical del Sur del Lago de Maracaibo), ya que de los 10 sectores muestreados solo fue aislado en uno, encontrándose 1 ufc que representa 1000 células viables/g de suelo. Este valor, si bien no es bajo, su cuantificación específica únicamente en un sector plantea que podría estar sucediendo varios supuestos: 1) que de la zona en estudio el sector El Canal puede condicionar las necesidades ecofisiológicas necesarias para el desarrollo del género *Trichoderma*, que no están dadas en el resto de los sectores, principalmente la humedad, esto coincidiría con lo expresado por Wakelin *et al.* (1999) el cual señala que las condiciones óptimas para favorecer el crecimiento saprófito son aquellas donde el rango humedad oscila entre de 70% y el 80%; 2) la alta temperatura que caracteriza el sur del lago de Maracaibo junto con la exposición directa de los suelos a la radiación solar, reduce la posibilidad de adaptación y crecimiento de este género; al respecto, Alexopoulos *et al.* (1996) señala que el rango de temperatura para el crecimiento se encuentra entre los 10 °C a los 40 °C, considerándose una óptima de 25 °C e inactivando las células superior a esta temperatura, quizás esto pudo haber reducido la multiplicación en los suelos; 3) presencia de biota supresora que reduce en el resto de los sectores la proliferación del antagonista, 4) bajo contenido de materia orgánica en los suelos por el manejo agrícola empleado en la zona como resultados de años de monocultivo, han reducido la diversidad fúngica nativa y 5) residualidad de agroquímicos en los suelos donde se reduce la proliferación de micobiota potencialmente antagonista.

La evidencia del comportamiento biológico observado en la cepa nativa aislada comprueba la teoría señalada por González *et al.* (1999) donde aun cuando no es habitual, ciertas cepas pueden desarrollar la habilidad de presentar todos los mecanismos de acción al mismo tiempo, como resultado de la precedencia, evolución y sobrevivencia. Sin embargo, la intensidad de antagonismo varía según el patógeno con el que se confronte, pues existen medidas de resistencia genética y química que le permiten al fitopatógeno ser más susceptible o resistente incluso con el mismo agente de biocontrol, así lo señala Chet y Benhamou (1998) quienes explican que la acción micoparasítica de este antagonista depende del patógeno involucrado.

La habilidad micoparasita fue positiva, destacada y rápida, debido a que se observó que la cepa nativa creció aceleradamente en dirección hacia el patógeno invadiendo y

esporulando la colonia. Esta respuesta coincide con lo señalado por Chet e Inbar (1994) e Infante *et al.* (2009) quienes mencionan que esta especie puede identificar la presencia de un patógeno en el medio, a través de un estímulo químico, acelerando el crecimiento quimiotroficamente y al encontrarse ambos microorganismos las hifas del antagonista se desarrollan alrededor de la superficie del hospedero (enrollándose), para luego penetrarlo hasta el interior. Resultados similares sobre interacción, enrollamiento, penetración, fragmentación y pérdida de la turgencia entre las hifas de este género de antagonista y *Fusarium oxysporum* y *Rizoctonia solani* han sido observados y reportados Reyes *et al.* (2008) y Ulacio *et al.* (2002) respectivamente.

Aunque fue objeto de la investigación determinar cualitativamente si la cepa nativa presenta el mecanismo de antibiosis frente al patógeno estudiado, no se determinó las sustancias metabólicas específicas que liberó el antagonista para ocasionar el fenómeno. Sin embargo, el comportamiento reducción del crecimiento micelial, aislamiento de *C. acutantum* a un extremo del plato Petri y la formación de marcada del halo de separación comparado con el testigo, permite suponer la presencia de metabolitos secundarios que inhibieron el crecimiento de patógeno aun cuando el antagonista no estaba en contacto físico con el patógeno, al respecto Dennis y Webster, (1971) y Hjeljord y Tronsmo, (1998) explican que estas sustancias inhibitorias consideradas como antibióticas, son un grupo de compuestos volátiles y no volátiles, muy diverso en cuanto a estructura y función y logran inhibir el crecimiento del patógeno en el medio. Aunque no fue objeto de esta investigación determinar los componentes que ocasionan este efecto, se le puede atribuir a la excreción por parte de *T. harzianum* de metabólicos volátiles y no volátiles al medio con efectos fungistáticos y por ende limita el crecimiento destacándose la producción de compuestos entre los cuales se podrían encontrar: pirones, isocianatos, pépticos y trichocinas; además, de la producción de enzimas extracelulares difundibles tales como peptinasas, cutinasas, glucanasas, y quitinasas tal como lo señala Howell (2003).

Conclusiones

De las muestras de suelo colectadas en la zona de vida bosque seco tropical del sur del lago de Maracaibo se obtuvo un aislado del género *Trichoderma* identificado en la especie *harzianum*. Al evaluar el comportamiento in vitro de la cepa nativa se observó que frente al patógeno estudiado el antagonista activa los tres mecanismos de acción asociados a la especie *Trichoderma*, y muestra un alto nivel de eficiencia de biocontrol.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al Laboratorio de Microbiología y Fitopatología de la UNESUR y a la Dirección General de Creación, Promoción, Producción y Divulgación de los Saberes de la UNESUR por el apoyo técnico y logístico, el cual hizo posible la realización de esta investigación.

Referencias

- Alarcón, L., Reyes, T., Rodríguez, G., Pupo, A. (2005). *Efectividad in vitro de Trichoderma harzianum (Rifai) en el biocontrol de Rhizoctonia solani Kühn y Pyricularia grisea (Sacc.) en el cultivo del arroz (Oryza sativa L.)*. Rev. Fitosanidad. 9(3):55-60.
- Alvarado, A. A., Pilalao, W., Torres, S., Torres, K. (2019). *Efecto de Trichoderma harzianum en el control de mildiu (Pseudoperonospora cubensis) en pepino*. Agron. Costarricense. 43(1):101-111.
- Alexopoulos, C., Mims, C., Blackwell, M. (1996). *Introductory Mycology*. Fourth edition. Editorial Willey. (New York). 237 p.
- Astorga, K., Meneses, K., Zúñiga, C., Brenes, J., Rivera, W. (2014). Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. Rev. Tecnología en Marcha. 7(2): 82-91.
- Awad, N., Kassem, H., Hamed, M., Elfiki, A., Elnaggar, M., Mahmoud, K., Ali, M. et al. (2018). *Isolation and characterization of the bioactive metabolites from the soil derived fungus Trichoderma viride*. Mycology 10. [28 octubre 2020]. URL: <https://doi.org/10.1080/21501203.2017.142312>
- Bissett, J. (1991). *A Revision of the Genus Trichoderma. II. Infrageneric classification*. Can. J. Bot. 70:639 - 641; Can. J. Bot. 69: 2373-2417.
- Chet, I., Benhamou, S. (1998). *Mycoparasitism and lectinenzymes. In: Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. Harman GE, Kubicek CP. (Eds.) 2:53-152. Taylor & Francis Ltd. (London), UK.
- Chet, I., Inbar, J. (1994). *Biological control of fungal pathogens*. Applied Biochemistry and Biotechnology. 48:37-4.
- Coraspe, H., Tejera, S. (1996). *Procedimiento para la toma de muestras de suelos*. Revista Fonaiap Divulga. Suelos y fertilización. (54):7-10.
- Dennis, C., Webster, J. (1971). *Antagonistic properties of species groups of Trichoderma. I. Production of non-volatile antibiotics*. Transactions of the British Mycological Society. 57: 25-39.
- Ezziyyani, M., Pérez, C., Sid, A., Requena, M., Candela, M. (2004). *Trichoderma harzianum como biofungicida para el biocontrol de Phytophthora capsici en plantas de pimiento (Capsicum annum L.)*. Rev. Anuales de Biología. (26):35-45.
- García, R.; Riera, R.; Zambrano, C.; Maggiorani, A. (2001). *Evaluación y uso masivo de Trichoderma harzianum para el control de tres enfermedades fungosas del suelo en sistemas agrícolas prioritarios del páramo meridiano de Venezuela*. Rev. Fitosanidad. 10(2):115-121.
- González, S., Puertas, A., Fonseca, M., Suárez, E., Blaya, R. (1999). *Actividad antagonista de Trichoderma sp., aislada de un suelo de la provincia Granma, Cuba frente a Alternaria solani Sor.* Rev. Fac. Agro. LUZ. 16(1):167-173.
- Hjeljord, L., Tronsmo A. (1998). *Trichoderma and Gliocladium in biological control: an overview*. In: Harman G, Kubicek C. (Eds.) *Trichoderma & Gliocladium. Enzymes, biological control and commercial applications*. Taylor & Francis. (London), UK. p. 131-151.
- Howell, C.R. (2003). *Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts*. Plant Disease. 87(1): 4-10.
- Infante, D., Martínez, B., González, N., Reyes, Y. (2009). *Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos*. Rev. Prod. Veg. 24(1):14-21.
- Nawrocka, J., Szczech, M., Malolepsza, U. (2018). *Trichoderma atroviride enhances phenolic synthesis and cucumber protection against Rhizoctonia solani*. Plant Protect. Sci. 54(1):17-23.
- Méndez, Z. (2003). *Proveedor de datos del Centro de Cálculo Científico de la ULA (CECALCULA) de la estación CIPLAT*. [28 octubre 2020]. URL: <http://www.cecalc.ula.ve/redbc>.
- Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (2010). *Problemática ambiental y la utilización de agroquímicos en la producción de coca*. Informe analítico; Octubre 2010 [Internet]. Vienna, Austria: UNODC; [28 octubre 2020]. URL: http://www.unodc.org/documents/peruandecuador/Informes/Informes-Analiticos/Informe_Analitico_Agroquimicos.pdf
- Osorio, E., Hernández, F., Rodríguez, R., Varela, S., Estrada, B., López, J. et al. (2016). *Actividad antagonista de Trichoderma spp. sobre Rhizoctonia solani in vitro*. Investigación y Ciencia. 24(67):5-11.
- Pérez, T. E., Bernal, A., Milanés, P., Sierra, Y., Leiva, M., Marín, s., Monteagudo, O. et al. (2018). *Eficiencia de Trichoderma harzianum (cepa a-34) y sus filtrados en el control de tres enfermedades fúngicas foliares en arroz*. Rev. Bioagro. 30(1): 17-26.
- Pineda, Z. M., Pineda, D., Labarca, J., Dilcia, U., Paredes, Cl., Casassa, A. et al. (2009). *Micobiota de suelo asociada al cultivo de plátano (Musa AAB cv hartón) en el bosque seco tropical del Sur del Lago de Maracaibo, Venezuela*. Rev. UDO Agr. 9(1):158.165.
- Reyes, R., Martínez, B., Infante, D. (2008). *Evaluación de la actividad antagonista de trece aislamientos de Trichoderma spp., sobre Rhizoctonia sp.* Rev. Prot. Veg. 23(2):112-117.
- Rifai, M. A. (1969). *A Revision of the Genus Trichoderma. Mycological Papers*. Institute kew, (Surrey), England. (116):1-55.
- Ulacio, D., Salas, J., Quevedo, P., Sanabria, M. (2002). *Micobiota del suelo de zonas productoras de papa del estado Mérida y su relación con Rhizoctonia solani*. Rev. Bioagro. 14(1):11-16.

