

CAPACIDAD ANTAGONISTA DE HONGOS CELULOLÍTICOS FRENTA A *FUSARIUM SP.* Y *MACROPHOMINA SP.*

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF CELLULOLITIC FUNGI AGAINST *FUSARIUM SP.* AND *MACROPHOMINA SP.*

Néstor Leopoldo Tarazona Meza¹, Diego Efrén Zambrano Pazmiño², Leonel Rolando Lucas Vidal¹, Sergio Miguel Vélez Zambrano³

¹Carrera de Agrícola, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón, Km 2.7 Vía Calceta-El Limón-Sector El Gramal

²Coordinación de Investigación Científica, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón, Km 2.7 Vía Calceta-El Limón

³Becario SENESCYT, Universidad Nacional de Brasilia, Campus Universitario Darcy Ribeiro-Brasilia-Brasil

Contacto: taramenes1@hotmail.com

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad antagonista de ocho hongos celulolíticos nativos frente a los hongos fitopatógenos *Fusarium sp.* y *Macrophomina sp.* En primera instancia se determinó la cepa promisorio del hongo celulolítico, para lo cual, en caja Petri se colocó un disco de agar de 4 mm de diámetro con micelio de una cepa antagonista y en el extremo opuesto, a una distancia de cinco centímetros aproximadamente, otro disco de 4 mm con micelio de un patógeno. La capacidad antagonista se determinó por el grado de micoparasitismo y la competencia por nutrientes y espacios, registrando el porcentaje de inhibición del crecimiento radial. Con la cepa del hongo celulolítico que tuvo el mejor comportamiento antagonista se realizó un cocultivo independiente con cada patógeno, aquí se evaluó las UFC, crecidas en medio PDA. También se inoculó junto a las cepas fitopatógenas en plantas de pimiento para conocer el nivel de antagonismo en macetas. En la evaluación cualitativa, la cepa A.O-5 mostró una invasión y esporulación total en la superficie en ambos patógenos; mientras que en el cocultivo inhibe el crecimiento de los patógenos a las 96 h. Igualmente demostró su acción antagonista frente a *Fusarium* y *Macrophomina* en las plántulas de pimiento. Por lo encontrado, se estima que la cepa A.O-5 es un potencial agente antagonista de los fitopatógenos evaluados.

Palabras clave: Invasión, cocultivo, crecimiento radial, fitopatógenos.

ABSTRACT

This research aimed to evaluate the antagonistic activity of eight native cellulolytic fungi against the phytopathogenic fungi *Fusarium sp.* and *Macrophomina sp.* First, the promising strain of the cellulolytic fungi was identified, for the purpose a 4mm mycelia disc of an antagonistic strain was plated in a petri dish containing agar, then a 4mm mycelia disc of a pathogen was placed about 5cm from the antagonistic. The antagonistic activity was determined by the degree of mycoparasitism, and the competition for nutrients and space, recording the percentage inhibition of the radial growth. The cellulolytic fungi strain which showed the best antagonistic activity and each pathogen were co-cultivated separately, in this step the Ln CFUs that grew in PDA plates were evaluated. It was also inoculated altogether with the phytopathogenic fungi on plants of pepper to identify the antagonistic capacity on potted plants. Regarding the qualitative evaluation, the A.O-5 strain showed a total invasion and sporulation on the surface of both pathogens; while in the co-culture, it inhibits the pathogenic growth after 96 hours. Furthermore it showed antagonistic activity against *Fusarium* and *Macrophomina* on the pepper potted plants. Therefore, it can be concluded that the A.O-5 strain is a potential antagonistic agent against the evaluated phytopathogens.

Keywords: Invasion, co-culture, radial growth, phytopathogens.



Recibido: 12 de agosto del 2014

Aceptado: 28 de noviembre del 2014

ESPAMCIENCIA 5(2): 119-126/2014

INTRODUCCIÓN

Los estudios sobre hongos eficientes sirven como pauta para determinar, en la práctica, la capacidad antagonista frente a hongos fitopatógenos. Un ejemplo de estos trabajos lo reportan Guzmán *et al.* (2014), quienes aislaron un grupo de hongos de diferentes ambientes de Manabí-Ecuador con la intención de seleccionar los de mayor actividad celulolítica; además, se vienen evaluando otras posibles aplicaciones agronómicas en fases de laboratorio y campo en la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí.

Los microorganismos del suelo (hongos y bacterias) son propagadores anónimos que hacen que este sea fértil, descomponiendo la materia orgánica hasta la más mínima expresión, haciendo posible la absorción de muchos compuestos y elementos, por las plantas. Un suelo fértil es aquel que tiene una gran biodiversidad de microorganismos que mediante las actividades liberan nutrientes en forma permanente, para alcanzar un balance que permita un buen desarrollo vegetal (Borrero y Silva, 2005).

Por ello, el crecimiento y desarrollo de los hongos se ve influenciado por los factores bióticos (interacciones con hongos y otros organismos) y por los factores abióticos, como la actividad de agua, la temperatura, la composición gaseosa y el pH del sustrato (Roselló, 2003).

Las especies de *Trichoderma* son importantes como agentes de biocontrol y es uno de los géneros fúngicos con mayor potencial para el control de las plagas que afectan a la agricultura. Estos hongos son empleados en numerosas ocasiones, con o sin registro legal, para el control de enfermedades de las plantas. Diversas especies de este género se utilizan en el tratamiento de semillas e incluso contra hongos que causan la degradación de la madera. Además las especies de *T. viride* y *T. harzianum* se han reconocido como bioplaguicidas principalmente contra *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Sclerotinia* y *Botrytis* (Santamarina *et al.*, 2001).

Las especies de *Fusarium* están referenciadas como hongos de campo, pero no es extraño encontrarlos, ocasionalmente, como hongos de almacén, sobre todo cuando la disponibilidad de agua es alta y las temperaturas bajas. Por ello suelen estar involucradas en el desarrollo de distintas fitopatologías, concretamente son los causantes de los marchitamientos vasculares (fusariosis vascular), de

las podredumbres de cuello y raíces, y los mohos amarillos y rosados de las enfermedades de poscosecha (Roselló, 2003).

Es una enfermedad de alto riesgo para la producción (Díaz, 1993, citado por Díaz *et al.*, 2008). Se presenta principalmente en las regiones tropicales y subtropicales. Este hongo infecta un amplio rango de plantas cultivadas y silvestres (Songa 1996 citado por Williams *et al.*, 2009).

Un ejemplo de marchitamiento vascular es la pudrición de la raíz cuyo agente causante es *Macrophomina phaseolina*. Otros nombres que tiene esta enfermedad en América latina son: pudrición gris del tallo, mancha ceniza del tallo, pudrición carbonosa de la raíz, tizón cenizo del tallo, podredumbre carbonosa y podridao cinzenta do caule. Este ocasiona daños importantes al frijol y otros cultivos (Fernández *et al.*, 2004). Las razones expuestas permiten plantear como objetivo evaluar la capacidad antagonista de hongos celulolíticos, aislados en Manabí-Ecuador, frente a hongos fitopatógenos *Fusarium sp.* y *Macrophomina sp.* como potenciales agentes de control biológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, ubicada en el sitio El Limón.

Se estudió ocho cepas de hongos celulolíticos como agente antagonista de *Fusarium* y *Macrophomina*. La investigación se condujo mediante tres experimentos que se detallan a continuación.

Capacidad antagonista de los hongos celulolíticos frente a los hongos fitopatógenos *Fusarium sp.* y *Macrophomina sp.* a nivel *in vitro*

Se confrontaron cada uno de los hongos celulolíticos contra cada una de los patógenos (Cuadro 1), colocándose en un extremo de la caja Petri un disco de agar de 4 mm de diámetro con micelio del hongo celulolítico y en el extremo opuesto, otro disco de 4 mm con micelio del patógeno, a una distancia de 5 mm, aproximadamente, entre ellos, posteriormente se incubaron bajo las mismas condiciones, y se realizaron evaluaciones diarias durante diez días.

Cuadro 1. Tratamientos obtenidos por la combinación de los factores en estudio

Nº	
1	A.O-1 <i>Fusarium sp.</i>
2	A.O-1 <i>Macrophomina sp.</i>
3	A.O-2 <i>Fusarium sp.</i>
4	A.O-2 <i>Macrophomina sp.</i>
5	A.O-3 <i>Fusarium sp.</i>
6	A.O-3 <i>Macrophomina sp.</i>
7	A.O-5 <i>Fusarium sp.</i>
8	A.O-5 <i>Macrophomina sp.</i>
9	A.O-6 <i>Fusarium sp.</i>
10	A.O-6 <i>Macrophomina sp.</i>
11	A.O-8 <i>Fusarium sp.</i>
12	A.O-8 <i>Macrophomina sp.</i>
13	A.Q-8 <i>Fusarium sp.</i>
14	A.Q-8 <i>Macrophomina sp.</i>
15	R.C-3 <i>Fusarium sp.</i>
16	R.C-3 <i>Macrophomina sp.</i>

Se evaluó la capacidad antagónica por el porcentaje de inhibición de crecimiento radial mediante la fórmula que consiste en $PICR = (R1 - R2) / R1 \times 100$, donde R1 es el radio mayor (radio patógeno testigo) y R2 es el radio menor (radio del patógeno en enfrentamiento con el antagonista) y grado de micoparasitismo de acuerdo a la escala de capacidad antagónica (Cuadro 2) propuesta por Ezziyyani *et al.* (2004).

Cuadro 2. Escala para evaluación de la capacidad antagónica

Escala	Capacidad antagónica
1	Ninguna invasión de la superficie de la colonia del hongo patógeno
2	Invasión de ¼ de la superficie de la colonia del hongo patógeno
3	Invasión de ½ de la superficie de la colonia hongo patógeno
4	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno
5	Invasión total de la superficie de la colonia del hongo patógeno (esporulación sobre ella)

Determinar la actividad antagónica de los hongos celulolíticos seleccionados frente a *Fusarium sp.* y *Macrophomina sp.* a través de cocultivos en medio líquido

Una vez seleccionado la cepa del experimento anterior que demostró la mejor capacidad antagónica, esta se mezcló por separado con *Fusarium sp.* y *Macrophomina*

sp. en Erlenmeyer que contenían 90 mL de caldo papa dextrosa. Estos cocultivos fueron inoculados a partir de cultivos frescos de cada cepa en PDA durante 72 h a 30 °C en incubadoras hasta que estuvieron totalmente esporuladas, las cuales se homogenizaron con 10 mL de solución salina para una concentración de 6 UFC.mL⁻¹. Se realizaron estos ensayos a las 48, 72 y 96 h contra ambos patógenos y se efectuó el conteo de las UFC a través del método de las diluciones seriadas (de -1 a -3) y el conteo en placas con medio PDA, donde se utilizaron contador de colonias, estas se incubaron a 30 °C durante 72 h en incubadora.

Control biológico de la cepa de hongo celulolítico, seleccionado, frente a *Fusarium sp.* y *Macrophomina sp.* en plantas de pimiento infestadas con estos patógenos

Se aplicó el hongo de mejor capacidad antagónica sobre plántulas de pimiento reproducidas en vivero, así mismo se inoculó los patógenos *Fusarium* y *Macrophomina*, para obtener plántulas inoculadas con el antagonista y cada patógeno, además se incorporó un control negativo.

Se midió altura de planta (cm) cada 7 días durante 28 días; masa del follaje (g) a los 30 días de edad de la planta, el peso de la masa foliar fue tomado en estado fresco. Para la obtención del peso seco este follaje fue introducido en una estufa a 55 °C durante 15 minutos con la finalidad de eliminar la humedad. Para registrar este valor, se empleó una balanza de precisión; masa radicular (g) después de ser lavadas las raíces se pesaron en una balanza de precisión, este dato fue reportado en estado fresco y seco. Para la obtención del peso seco la raíz fue introducida en la estufa a 55 °C durante 15 minutos con el propósito de reducir los niveles de humedad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Capacidad antagónica *in vitro*

La capacidad antagónica *in vitro* de las cepas en estudio presentaron diferencias estadísticas ($p < 0.001$) en todas las evaluaciones realizadas. En el cuadro 3 se observa que las cepas R.C-3, A.O-1 y A.O-6 presentaron igualdad estadística, el mismo que se mantuvo en todas las evaluaciones. La cepa R.C-3 obtuvo 61.48; 60 y 60 %; la A.O-1 con 61.48; 60.37 y 60.37 %; y A.O-6 con 63.7; 62.59 y 62.22 % en cada evaluación respectivamente. El tratamiento A.O-3 obtuvo los menores valores obteniendo

38.15 % en la primera evaluación y 16.3 y 11.11 % en la segunda y tercera evaluación.

Con estos datos se tiene indicios fuertes del antagonismo de las cepas en estudio frente a *Macrophomina*. Pineda y Gonnella (1988) al confrontar *Aspergillus* y *Trichoderma* contra *M. phaseolina* observaron capacidad para inhibir el desarrollo y la producción de esclerocios del patógeno in vitro. Entre las investigaciones relacionadas se tiene que Reyes *et al.* (2011) encontraron que cepas de *Bacillus* inhibieron a *Macrophomina*, con un de promedio 38.1 %. Así mismo Sosa *et al.* (2012) al evaluar in vitro 13 cepas del genero *Bicillus* todas presentan inhibición a *Macrophomina phaseolina* con porcentajes desde 48 a 73.7 %.

Cuadro 3. Porcentaje de inhibición radial de *Macrophomina*

Tratamientos	Evaluaciones (días)		
	3	6	9
A.O-1	61.48 a	60.37 a	60.37 a
A.O-2	36.67 b	35.93 bc	34.44 b
A.O-3	38.15 b	16.30 c	11.11 c
A.O-5	52.22 ab	51.48 ab	51.48 ab
A.O-6	63.70 a	62.59 a	62.22 a
A.O-8	54.44 ab	55.19 ab	51.48 ab
A.Q-8	51.11 ab	51.11 ab	51.11 ab
R.C-3	61.48 a	60.00 a	60.00 a
Probabilidad	0.001	<0.001	<0.001
Error estándar	4.07	4.32	4.5

Para el caso de *Fusarium* los porcentajes de inhibición fueron superior a 70 % en la mayoría de casos. Algunas cepas mantuvieron su porcentaje mostrado con *Macrophomina* y otras aumentaron su capacidad antagonica con respecto a *Macrophomina*. Por lo que es posible que la actuación de una cepa tenga relación directa con el patógeno.

En el cuadro 4 se observa que la cepa con mayor porcentaje de inhibición fue A.O-1 en todas las evaluaciones con 81.11 y 80 %. Los menores promedios fueron variables en cada evaluación y no coincidió con lo ocurrido en *Macrophomina*. La cepa R.C-3 presentó el menor promedio en la tercera evaluación, después de haber alcanzado un promedio superior al 70 % en las anteriores evaluaciones descendió a 27.04 %. Lo que hace presumir que la competencia por alimento y sobrevivencia de ambos patógeno la ganó el *Fusarium*. Otras cepas que mostraron similar comportamiento fueron la A.O-8 y A.O-6 aunque con menor descenso (Cuadro 4).

Cuadro 4. Porcentaje de inhibición radial de *Fusarium*

Tratamientos	Evaluaciones (días)		
	3	6	9
A.O-1	81.11 a	80.00 a	80.00 a
A.O-2	68.89 ab	68.15 abc	68.15 abc
A.O-3	68.15 ab	67.41 abc	66.37 abc
A.O-5	71.37 ab	66.67 abc	66.67 abc
A.O-6	62.22 b	58.15 c	51.11 c
A.O-8	61.11 b	48.89 bc	56.67 bc
A.Q-8	71.48 ab	70.74 abc	70.74 ab
R.C-3	74.07 ab	72.96 ab	27.04 bc
Probabilidad	0.003	0.0015	0.0014
Error estándar	2.83	2.92	3.69

a, b, c, letras diferentes en una misma columna indicas diferencias estadísticas según Tukey 005.

Los porcentajes encontrados fueron superiores a los reportados por Suárez *et al.* (2008) que al evaluar 12 cepas de *Trichoderma* (comercial y nativo) todas presentaron inhibición con porcentajes no mayores al 71 %. Por otro lado Michel *et al.* (2001) y Michel *et al.* (2005), al evaluar el efecto antagónico de aislados nativos de *Trichoderma spp.* sobre el crecimiento del micelio y potencial reproductivo de *F. oxysporum* y *F. subglutinans*, los valores máximos de inhibición fueron del 47.6 %. Arzate *et al.* (2006), al evaluar a *Trichoderma.*, sobre *Mycosphaerella fijiensis*, seleccionaron 6 de 25 aislados que inhibieron al menos el 45 % el crecimiento del micelio del fitopatógeno.

Sin embargo, en estudios de antagonismos de *Trichoderma* con otros patógenos se han encontrado porcentajes del orden de 80 % (Michel *et al.*, 2008). Por lo antes expuesto no es raro encontrar una alta variabilidad de antagonismo de cepas de diferentes o igual géneros o especies.

Al evaluar las cepas por la metodología de Ezziyyani *et al.* (2004) se encontraron cierta variación con respecto al porcentaje de inhibición radial. Es necesario mencionar que en este caso se evalúa visualmente la invasión del antagonista sobre el patógeno. Para el caso de *Macrophomina* la mayoría de cepas no se identifica ninguna invasión por parte del antagonista. La cepa A.O-5 y R.C-3 en la primera evaluación presentan ¼ de invasión, sin embargo, solamente la cepa A.O-5 aumenta su invasión en las siguientes evaluaciones llegando a la invasión total. En *Fusarium* se tuvo similar comportamiento, acentuando la acción de la cepa A.O-5 sobre el patógeno presenta-

do en *Macrophomina*, la misma que fue creciendo progresivamente hasta finalmente lograr la invasión total y esporulación sobre ella. Las demás cepas no presentaron invasión ninguna (Cuadro 5).

Cuadro 5. Evaluación cualitativa de la capacidad antagónica contra *Macrophomina*

Tratamientos	Evaluaciones		
	3 días	6 días	9 días
A.O-1	1	1	1
A.O-2	1	1	1
A.O-3	1	1	1
A.O-5	1-2	2	5
A.O-6	1	1	1
A.O-8	1	1	1
A.Q-8	1	1	1
R.C-3	1-2	1	1

Suárez *et al.* (2008) encontraron un parasitismo variable que en algunas cepas también llegaron a la esporulación del antagonista sobre el patógeno. Sin embargo, se debe rescatar que la mayoría de las cepas tuvieron la mitad de la superficie cubierta de parasitismo, siendo consistente con la evaluación del porcentaje de inhibición radial. Al contrario de lo encontrado en esta investigación donde la inhibición radial no concordó con el parasitismo ya que la mayoría de cepa solo llegó a ¼ de la superficie del patógeno cubierta. Hoyos *et al.* (2008) al evaluar *Trichoderma* de diferentes especie frente a *Sclerotium rolfsii* y *Rhizoctonia solani* obtuvieron un 100 % de micoparasitismo (totalidad de la superficie cubierta por el antagonista) en la gran mayoría de las cepas.

Cuadro 6. Evaluación cualitativa de la capacidad antagónica contra *Fusarium*

Tratamientos	Evaluaciones		
	3 días	6 días	9 días
A.O-1	1	1	1
A.O-2	1	1	1
A.Q-8	1	1	1
A.O-5	1-2-3	4-5	5
A.O-6	1	1	1
A.O-3	1	1	1
A.O-8	1	1	1
R.C-3	1	1	1

Actividad antagónica

Con los datos y observaciones realizados en la evaluación anterior se toma la decisión de evaluar a la cepa A.O-5 en medio líquido como cocultivo, con los patógenos *Macrophomina* y *Fusarium*. El grafico 1 muestra el crecimiento de la cepa A.O-5 y *Fusarium* tanto en cultivos aislados como en cocultivo. El crecimiento del patógeno es progresivo en el cultivo aislado sin el antagonista, pero al cul-

tarlo con el antagonista este interrumpe el crecimiento del patógeno a las 96 horas a diferencia de lo reportado por Fernández y Suárez (2009) quienes encontraron una inhibición a los cuatro días.

Es probable que la cepa A.O-5 actúe a partir de las 72 horas debido a la competencia generada por la escasez de alimento y su máximo poder antagonista lo muestre en esta necesidad. Además, no hay que dejar de lado la posible resistencia del patógeno en las primeras horas. La cepa A.O-5 tanto en cultivo asilado como dual tiene el mismo comportamiento con un pico máximo en 72 horas y un pequeño descenso a las 96 horas. Similar comportamiento encontró Fernández y Suárez (2009) al evaluar cepas de *Trichoderma* como antagonista de *F. oxysporum*.

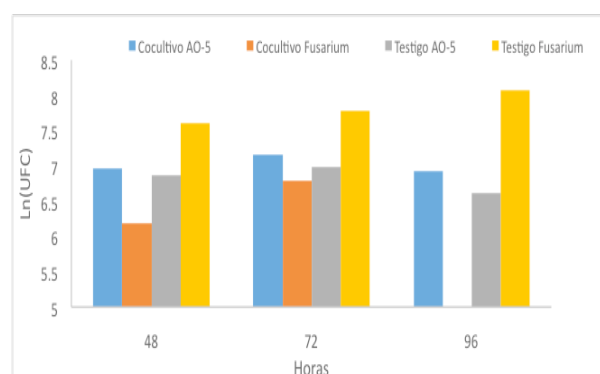


Gráfico 1. Actividad antagonista de la cepa A.O-5 frente a *Fusarium* en cocultivo medio líquido

A diferencia del *Fusarium*, *Macrophomina* desde el inicio presenta una tendencia a disminuir al cultivarla con el antagonista, coincidiendo en ambos patógenos que a las 96 horas sucede la eliminación total. Es posible que este patógeno sea más susceptible a la acción de microorganismos antagonistas. Aunque, al cultivarlo solo, presenta a las 72 h una disminución para luego aumentar su crecimiento, al observar este comportamiento se puede decir que el antagonista actuó en mayor medida en el 2º momento que el patógeno estuvo más susceptible.

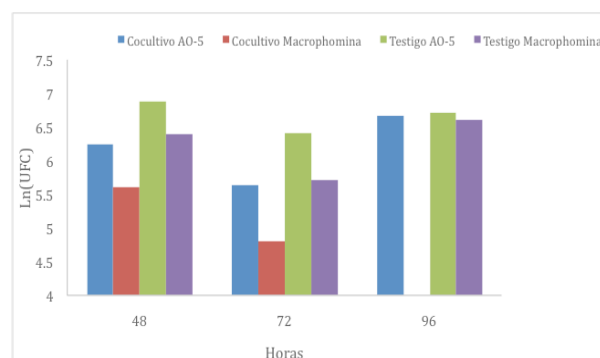


Gráfico 2. Actividad antagonista de la cepa A.O-5 frente a *Macrophomina* en cocultivo medio líquido

Control biológico en plántulas de pimiento

La altura de planta del pimiento se vio influenciada ($p < 0.05$) por los tratamientos en estudio a los 21 y 28 días después de la siembra. Inicialmente no se manifiesta diferencias estadísticas ($p > 0.05$), los promedios estuvieron entre 4.07 y 5.54 cm, siendo el de mayor promedio el tratamiento *Fusarium* + planta. A los 14 días se mantiene la no diferencia estadística ($p > 0.05$) con valores entre los 7.54 y 9.6 cm, el último valor correspondiente al testigo.

A los 21 días se observa la influencia del *Fusarium* en el crecimiento de la planta puesto que presenta la menor altura a diferencia de la evaluación realizada a los siete días donde obtuvo el mayor crecimiento. Esta tendencia se mantuvo también en los 28 días. Siendo mayor al incluir la cepa antagonista para el control de *Fusarium*, sin embargo es inferior al testigo (sin inoculación de microorganismo). Lo que ratifica la acción de la cepa A.O-5 en el control de *Fusarium* no solo in vitro sino a nivel de vivero. Aunque al inocular la cepa A.O-5 en la planta sin patógeno presenta los menores valores después de *Fusarium* +planta.

Este hecho podría ser visto como la necesidad de aplicar un agente antagonista siempre que haya un patógeno presente o al menos que se proyecte su presencia en el transcurso del cultivo. De lo contrario existe la posibilidad que actúe sobre la planta.

Cuadro 7. Promedio de la variable altura de planta de pimiento (cm)

Tratamiento	Días			
	7	14	21	28
Fusarium+Planta	5.54	8.79	12.32 b	15.21 b
A.O-5+Planta	5.14	8.55	13.93 ab	17.48 ab
Macrophomina+A.O-5+Planta	4.18	8.79	15.92 ab	21.40 a
Macrophomina+Planta	4.8	8.79	17.51 a	21.83 a
Fusarium +A.O-5+Planta	4.07	7.54	13.68 ab	20.63 ab
Testigo	5.29	9.6	15.78 ab	21.32 a
Probabilidad	0.1	0.2	0.013	0.012
Error Estándar	0.35	0.53	0.94	1.33

a, b letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas según Tukey 0.05.

Macrophomina no presenta el mismo comportamiento que *Fusarium*, puesto que con o sin el antagonista tuvo similares promedios. Esto podría estar en función de la susceptibilidad o resistencia de la planta a este patógeno. Por otro lado, la agresividad del propio patógeno también es un factor a tomar en cuenta.

El análisis del peso del follaje y raíz tanto seco como húmedo, presenta diferencias estadísticas ($p < 0.001$). El peso del follaje húmedo fue menor cuando la planta estaba en presencia de *Fusarium* o la cepa A.O-5. El efecto provocado por el *Fusarium* en la altura de la planta en los últimos días de evaluación (28 días) se acentuó en el peso del follaje, con una disminución de alrededor del 50 % con respecto al testigo.

Así mismo se observa que la relación *Fusarium*+A.O-5 en la planta no afecta el desarrollo de la misma, obviamente la acción del antagonista es evidente. Para el caso de *Macrophomina*, no presenta cambios, la posibilidad de la agresividad de *Macrophomina* puede ser determinante, conociendo que este tipo de patógeno se lo relaciona con especie como la soya, frejol, maíz, sorgo (Hernández *et al.*, 2009).

En el peso seco del follaje se mantiene la diferencia entre los mismos tratamientos. Pineda (2001) encontró que al aplicar gránulos de arcilla con solución de sacarosa y *Trichoderma harzianum* en la semilla de ajonjolí reduce significativamente el porcentaje de la enfermedad producida por *M. phaseolina*, sin embargo, Cardona y Rodríguez (2006) no evidenciaron la reducción de la enfermedad.

Cuadro 8. Promedio de las variables peso seco y húmedo tanto en el follaje y la raíz

Tratamiento	Variables			
	P.H.FO	P.S.FO	P.H.R	P.S.R
Fusarium+Planta	1.71 d	0.27 c	0.98 c	0.28 ab
A.O-5+Planta	2.32 c	0.73 b	1.47 b	0.38 a
Macrophomina+A.O-5+Planta	4.0 ab	1.21 a	1.46 b	0.2 b
Macrophomina+Planta	4.0 ab	1.07 a	1.98 a	0.2 b
Fusarium+ A.O-5+Planta	4.04 a	1.05 a	1.7 ab	0.39 a
Testigo	3.57 b	1.14 a	1.53 b	0.35 a
Probabilidad	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Error estándar	0.1	0.06	0.08	0.02

a, b, c, letras diferentes en una misma columna indican diferencias estadísticas según Tukey 0.05. P.H.FO= Peso húmedo del follaje; P.S.FO= Peso seco del follaje; P.H.R= Peso húmedo de la raíz; P.S.R= Peso seco de la raíz.

En la raíz se aprecia que el *Fusarium* se aleja estadísticamente de los demás tratamientos y la cepa A.O-5 presenta un promedio más cercano a los demás tratamientos, este hecho sugiere que *Fusarium* causa daños al follaje y raíz.

La elección promisorio de la cepa A.O-5 al parecer fue correcta, aunque no hay que dejar de lado que usualmente la actividad antagonista in vitro constituye un indicativo

CONCLUSIÓN

inicial de su promisoría actividad biológica contra hongos fitopatógenos Hoyos *et al.* (2008). En muchos casos existen inconsistencia de los datos *in vitro* y campo (invernadero o vivero) (Carsolio *et al.*, 1999), que posiblemente se hubieran encontrado si se evaluaban todas las cepas, así mismo, otras cepas probablemente tendrían el mismo comportamiento de la A.O-5.

Todas las cepas de hongos celulolíticos evaluadas ejercieron inhibición radial frente a los patógenos. En la evaluación cualitativa del parasitismo solamente la cepa A.O-5 presenta un cubierto total y esporulación sobre el patógeno. La cepa A.O-5 en crecimiento dual en medio líquido inhibe el desarrollo de *Fusarium* y *Macrophomina* a las 96 horas de incubación. A nivel de vivero la cepa A.O-5 también muestra su capacidad de antagonismo de los patógenos *Fusarium* y *Macrophomina*.

LITERATURA CITADA

- Arzate-Vega, J.; Michel-Aceves, A. C.; Domínguez-Márquez, V. M. y Santos-Eméstica, O. A. 2006. Antagonismo de *Trichoderma spp.*, sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de la sigatoca negra del plátano (*Musa sp.*) *in vitro* e invernadero. Rev. Mex. Fitopatol. 24: 98-104.
- Borrero, C y Silva, M. 2005. Efectos de *Trichoderma (in vitro)* en los microorganismos no patógenos descomponedores de la materia orgánica de un suelo oxisol clase IV piedemonte llanero.
- Cardona R. y Rodriguez H. 2006. Efecto del hongo *Trichoderma harzianum* sobre la incidencia de la enfermedad carbonosa en ajonjolí. Rev. Fac. Agron. 23:42-48
- Carsolio, C., N. Benhamou, S. Haran, C. Cortez, A. Gutierrez y A. Herrera-Estrella. 1999. Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech42, in mycoparasitism. Appl. Environ. Microbiol. 65:929-935.
- Díaz, A; Montes, N. 2008. La Fitopatología en la Región Semiárida de Tamaulipas. MX. Revista Mexicana de Fitopatología. 26(1):65.
- Ezziyani, M.; Perez, S. C.; Requena, M. E.; Rubio, L. y Candela, M. E. 2004. Biocontrol por *Streptomyces rochei* -Ziyani-, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annum L.*) causada por *Phytophthora capsici*. Anales de Biología 26: 69-78.
- Fernández R; y Suárez C. 2009. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp passiflorae en maracuyá (*Passiflora edulis* Sims var. Flavicarpa) del municipio zona bananera colombiana. Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín 62(1): 4743-4748.
- Fernández, R; Reyes, M; Medina, M; Hernández, S y Mayek, N. 2004. *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en Frijol (*Phaseolus vulgaris L.*) de Aguascalientes: Relación Patogénica y Genética con Aislamientos de Otras Regiones de México. Revista Mexicana de Fitopatología. 22(2):172-177.
- Guzmán, A.; Zambrano, D.; Rondón, A.; Silva, M.; Pérez, M.; León, R y Rivera, R. 2014. Aislamiento, selección y caracterización de hongos celulolíticos a partir de muestras de suelo en Manabí-Ecuador. Revista Facultad de Ciencias Agrarias UNCUYO. 46(2): 177-189.
- Hernández, S.; M. H. Reyes; R. Rosales; N. Mayek; 2009. Molecular Markers Associated with *Resistenceto Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. in Common Bean. Journal of Plant Pathology 91(1): 163-170.
- Hoyos, L; Chaparro, P; Abramsky, M; Chet, I; Orduz, S. 2008. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma spp.* contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones *in vitro* y de invernadero. Agronomía Colombiana. 26(3): 451-458.

- Michel, A. C.; Otero, M. A.; Martínez, R. D.; Rebolledo, O.; Lezama, R. y Ariza, R. 2005. Actividad micoparasítica in vitro de *Trichoderma Pers.: Fr. spp.*, sobre *F. subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) P.E. Nelson, T. A. Toussoun y Marasas y *F. oxysporum Schlechtend.: Fr.* Rev. Mex. Fitopatol. 23(3):253-261.
- Michel, A. C.; Rebolledo, O. y Lezama, R. 2001. Especies de *Trichoderma* en suelos cultivados con mango afectados por “Escoba de bruja” y su potencial inhibitorio sobre *Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*. Rev. Mex. Fitopatol. 19(2):154-160.
- Michel, A.; Otero, M.; Martínez, R.; Ariza, R.; Barrios, A.; Rebolledo, A. 2008. Control biológico in vitro de enfermedades fungosas en tomate *Lycopersicon esculentum* Mill. Avances en Investigación Agropecuaria.12(3):55-68.
- Pineda J. 2001. Evaluación de métodos de aplicación de *Trichoderma harzianum* al suelo para el control de *Macrophomina phaseolina* en ajonjolí. Fitopatología venezolana. 14(2):31-34.
- Pineda, J; Gonnella E. 1988. Evaluación del control biológico de *Macrophomina phaseolina* en ajonjolí (*Sesamum indicum* L.). Agronomía tropical. 38(4-6):43-48.
- Reyes A, Ruiz E, Yam C, Dzul M. 2011. selección de *Bacillus* Spp. con actividad antagonista in vitro contra *Macrophomina phaseolina* (TASSI) Goid en diferentes medios de cultivo. Fitosanidad. 15(2):117-121.
- Roselló, J. 2003. Capacidad antagonista de *Penicillium oxalicum* Currie & Thom y *Trichoderma harzianum* Rifai frente a diferentes agentes fitopatógenos. Estudios ecofisiológicos. Tesis de grado doctoral. Universidad de Valencia. ES. p 4- 26- 38
- Santamarina, MP; Sanz, I; Roselló, J; García, J. 2001. Una cepa de *Trichoderma harzianum* con un fuerte potencial para inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos y hongos productores de micotoxinas. Resúmenes del XVIII Congreso de la Sociedad Española de
- Sosa, M; Ruiz E, Mejía M, Reyes A, Cristóbal J, Valencia A, Gutiérrez O. 2012. Actividad antagonista in vitro de aislados de la clase *Bacillus* de la península de yucatán contra cuatro hongos fitopatógenos. Universidad y ciencia. 28 (3):279-284.
- Suárez C L; Fernández, R; Valero O, Gámez, R; Páez, A. 2008. Antagonismo in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. Revista Colombiana de Biotecnología. 10(2): 35-43.
- Williams, H; Pecina, V; Montes, N; Palacios, O; Arcos, G; Vidal, V. 2009. Reacción de Variedades de Sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] para Grano a *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Revista Mexicana de FITOPATOLOGÍA. 27(2):149-155