

MICROORGANISMOS DEL GÉNERO *Trichoderma* PRODUCTORES DE FITOHORMONAS Y ANTAGONISTAS DE FITOPATÓGENOS

Blanca E. López-Valenzuela¹, Olivia Tzintzun-Camacho², Adolfo D. Armenta-Bojórquez³,
Fernando A. Valenzuela-Escoboza¹, Glenda J. Lizárraga-Sánchez⁴,
Jesús del R. Ruelas-Islas¹ y Daniel González-Mendoza²

RESUMEN

Los productos químicos aplicados indiscriminadamente en la agricultura, han causado graves desequilibrios al ambiente; por ello, la necesidad de utilizar alternativas sustentables como los bioinoculantes. Se evaluaron cinco cepas de *Trichoderma* spp. como productoras de ácidos orgánicos, auxinas, giberelinas, así como su efecto sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) y su capacidad antagónica contra los fitopatógenos *Fusarium oxysporum*, *Alternaria* spp. y *Helminthosporium* spp. presentes en el noroeste mexicano. Los resultados mostraron que las cepas segregaron ácidos orgánicos, y a las 72 horas se observó la máxima producción. Todas las cepas sintetizaron auxinas y giberelinas, y entre ellas, TF presentó la mayor producción de auxinas (35,3 µg·mL⁻¹), mientras que para las giberelinas no se presentaron diferencias significativas entre las cepas. En el PICR, el mayor valor contra *Fusarium oxysporum* lo presentaron TB (83,3 %) y TJ3 (81,5 %), mientras que contra *Alternaria* spp., los valores variaron entre 87,7 % para TB y 86,7 % para TM, sin diferencias significativas entre ellos. Contra *Helminthosporium* spp., el mayor valor lo alcanzó TJ3 (76,6 %). Las cepas exhibieron grados 1 y 2 de capacidad antagónica contra los fitopatógenos, demostrando su potencial para ser evaluadas como controladores biológicos e inductoras de crecimiento vegetal, combinación promisoriosa como producto biotecnológico y alternativa sustentable para el sector agrícola del noroeste de México.

Palabras clave adicionales: *Alternaria*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, reguladores de crecimiento

ABSTRACT

Microorganisms of genus *Trichoderma* as phytohormone promoters and pathogen suppressors

Chemical products applied indiscriminately in agriculture have caused serious imbalances to the environment; thus, there is a need to use sustainable tools such as bioinoculants. Five strains of *Trichoderma* spp. were evaluated as producers of organic acids, auxins and gibberellins, as well as its antagonistic capacity and the radial growth inhibition percentage (RGIP) against the plant pathogens *Fusarium oxysporum*, *Alternaria* spp. and *Helminthosporium* spp. of Northern Mexico. Results showed that all strains segregated organic acids, with its maximum production attained at 72 hours. All of them synthesized auxins and gibberellins, with TF showing the highest production of auxins (35.3 µg·mL⁻¹), while no statistical differences among the strains were found for gibberellins. The highest value of RGIP against *Fusarium oxysporum* was found in TB (83.3 %) and TJ3 (81.5 %), while against *Alternaria* spp. the values ranged between 87.7 % in TB and 86.7 % in TM, without significant differences between them. The strain TJ3 got the highest value (76.6 %) against *Helminthosporium* spp. The five strains showed class 1 and 2 of antagonistic capacity against the pathogens, showing a potential to be tested as biological control agents and plant growth promoters, a promising combination for a biotechnological product and sustainable tool in agricultural areas of Northern Mexico.

Additional keywords: *Alternaria*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, plant growth regulators

INTRODUCCIÓN

El noroeste de México se caracteriza por su

clima semidesértico con precipitaciones pluviales que van de 50 a 500 mm (González et al., 2015). No obstante, aun con las limitaciones ambientales

Recibido: Julio 15, 2021

Aceptado: Marzo 24, 2022

¹ Universidad Autónoma de Sinaloa. Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Juan José Ríos, Sinaloa, México. e-mail: blancalopezvzla@favf.mx; fernando.vzla@favf.mx; chuyitaruelas@favf.mx

² Universidad Autónoma de Baja California. Instituto de Ciencias Agrícolas. Ejido Nuevo León, Baja California, México. e-mail: otzintzun@uabc.edu.mx; danielg@uabc.edu.mx (autor de correspondencia)

³ Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad-Sinaloa. Guasave, Sinaloa, México. e-mail: aarmenta@ipn.mx

⁴ Universidad Autónoma de Occidente. Los Mochis, Sinaloa, México. e-mail: glenda.lizarraga@udo.mx

esta región es una de las zonas agrícolas más productivas del país, la cual participa con el 31 % del valor de la producción de hortalizas con respecto al resto del país (SIAP, 2020) lo que en parte es el resultado de la asociación de los productores con empresas distribuidoras internacionales de frutas y hortalizas, que permiten comercializar un elevado volumen de productos a nivel local e internacional. Sin embargo, la producción agrícola en esta zona del país puede verse disminuida por la presencia de enfermedades fúngicas que pueden afectar a los cultivos aumentando los costos de producción debido al incrementado uso de fungicidas sintéticos, y que además pudieran generar problemas de resistencia fúngica y efectos tóxicos en la salud del ecosistema, representando un riesgo para la población de las zonas agrícolas (González et al., 2017).

Ante lo planteado se incorporan en sus sistemas de producción alternativas sustentables que permiten controlar la incidencia de hongos fitopatógenos, como el uso de microorganismos con actividad antagónica (Tranier et al., 2014). En este sentido se ha señalado la eficacia de especies del género *Trichoderma* spp. como inductoras de resistencia sistémica contra fitopatógenos. Este es un hongo antagonista en acción contra varios hongos fitopatógenos, tales como *Alternaria* spp. (Chowdappa et al., 2013), y *Fusarium* spp. y *Phytophthora* (Hernández et al., 2021), presentando diferentes mecanismos de acción contra ellos que involucran la competencia por espacio y nutrientes, producción de enzimas hidrolíticas y otros metabolitos relacionados con la defensa que se observan en las plantas previamente colonizadas por diferentes cepas del antagonista (Nawrocka y Malolepsza, 2013). Por lo tanto, se planteó el objetivo de evaluar la producción de fitorreguladores de crecimiento vegetal y la capacidad antagónica *in vitro* de cinco cepas nativas de *Trichoderma* spp., contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria* spp. y *Helminthosporium* spp. que afectan a diversos cultivos en la región noroeste de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material fúngico y condiciones de crecimiento.

Se probaron cinco cepas fúngicas (TB, *Trichoderma asperellum*; TF, *Trichoderma virens*;

TM, *Trichoderma asperellum*; TJ3, *Trichoderma* spp. y TJ7, *Trichoderma* spp.) aisladas de la rizosfera de plantas de *Jatropha curcas* L. en diferentes suelos de los Valles de El Fuerte y Guasave en la región norte de Sinaloa, México. Este material es parte del cepario de microorganismos benéficos resguardados en la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte (UAS). De éstas, tres fueron identificadas de forma morfológica y molecular por López et al. (2015); las cepas TJ3 y TJ7 tienen identificación morfológica sólo a nivel género.

La investigación se realizó bajo condiciones *in vitro* en el Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma de Baja California, México, utilizando *Fusarium oxysporum* y *Alternaria* spp., aislados de la rizosfera de plantas de algodón (*Gossypium hirsutum*) en el Valle de Mexicali y *Helminthosporium* spp. y del follaje de plantas de *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) en el Valle de Guasave.

Todas las cepas se sembraron en placas Petri con medio papa dextrosa agar (PDA) y se incubaron a 28 °C y se transfirieron las de *Trichoderma* spp. a medio caldo de papa y se mantuvieron en agitación hasta obtener una concentración de 1×10^4 esporas·mL⁻¹ para realizar los análisis bioquímicos y de antagonismo.

Pruebas bioquímicas a las cepas de *Trichoderma* spp.

- Prueba cualitativa del índice de solubilización de fosfato y producción de ácidos orgánicos.

Para el análisis del índice de solubilización y segregación de ácidos orgánicos se inocularon cepas de *Trichoderma* spp. en medio Pikovskaya (PK), más el reactivo púrpura de bromocresol en placas Petri. Se agregó 10 µL de inóculo ajustado a concentración 1×10^4 esporas·mL⁻¹ más un control negativo aislado de *Bacillus* spp. que no produce estas sustancias, aplicando 10 µL de inóculo en concentración 1×10^8 UFC. Después de la incubación a 30 ± 2 °C se midió con un vernier el diámetro del halo fluorescente alrededor del micelio para luego aplicar la fórmula propuesta por Kumar y Narula (1999), donde el índice de solubilidad (IS) = (diámetro de colonia+diámetro de halo)/diámetro de colonia. La capacidad e inicio de solubilización referido a la segregación de ácidos orgánicos se determinó en función del diámetro del halo y su tiempo de formación.

Cuantificación de la producción de

fitohormonas

- Cuantificación de ácido indol-3-acético (AIA). A partir de cultivos fúngicos se cuantificó la presencia de ácido indol-3-acético (AIA). Las concentraciones fueron calculadas luego de realizar mediciones de las conocidas (curva patrón con concentraciones desde 0,5 hasta 30 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ con $R^2 = 0,9782$). La detección se llevó a cabo mediante el método Salkowski propuesto por Mohite (2013). Se inocularon 1×10^4 esporas $\cdot\text{mL}^{-1}$ en 10 mL de caldo de papa suplementado con L-triptófano ($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), contenido en tubos de vidrio, protegido de la luz, incubado a 120 rpm y 26 °C durante 24 h, después del período de incubación, se tomó una alícuota de 2 mL para recolectar las células mediante centrifugación (10,000 rpm) durante 10 minutos, posteriormente a 1 mL de sobrenadante se le añadió igual volumen de reactivo de Salkowski, la reacción se incubó a 28 °C, durante 1 hora, en la oscuridad. La concentración de AIA se determinó con un espectrofotómetro Thermo Scientific Biomate 3 (λ 540 nm), en comparación con una curva estándar.

Detección de giberelina-3 (GA₃). Las giberelinas se estimaron colorimétricamente mediante la metodología de Moreno et al. (2014). A 15 mL de sobrenadante, se agregaron 2 mL de reactivo de acetato de zinc (21,9 g de acetato de zinc + 1 mL de ácido acético glacial y el volumen se completó hasta 100 mL con agua destilada). Después de 2 minutos, se agregaron 2 mL de ferrocianuro de potasio (10,6 % en agua destilada) y se centrifugó a 2000 rpm durante 15 minutos. A 5 mL de sobrenadante se agregaron 5 mL de HCl al 30 % y la mezcla se incubó a 26 °C durante 75 min. Como muestras blanco se utilizaron 5 mL de HCl al 5 %. La absorbancia se midió a 254 nm en un espectrofotómetro Hach DR 6000 y la concentración de giberelinas se calculó preparando la curva estándar con ácido giberélico (GA₃, Hi-media) como estándar ($100\text{-}1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$).

Prueba de antagonismo de *Trichoderma* contra hongos fitopatógenos. Esta prueba se realizó contra *Fusarium oxysporum*, *Alternaria* spp. y *Helminthosporium* spp. a través de la técnica de confrontación dual (Cherif y Benhamou, 1990), donde se evaluó la competencia por espacio y nutrientes. Discos de PDA de 5 mm de diámetro con micelio de los tres hongos fueron sembrados en placas de Petri con medio PDA, 4 días antes que el antagonista, ya que el crecimiento de

Trichoderma spp. en este medio es más rápido. En los tratamientos control, se colocaron discos con micelio del patógeno, sin el antagonista, en el centro de una placa de Petri. Todos los hongos se incubaron a 23 ± 4 °C, en constante oscuridad. La evaluación se realizó según lo referido por Reyes et al. (2008), midiendo con un vernier el diámetro de cada colonia de microorganismos durante 7 días.

Los porcentajes de inhibición del crecimiento radial (PICR) se determinaron mediante la fórmula empleada por Ezziyyani et al. (2004): $\text{PICR} = 100 \cdot (R1 - R2) / R1$, donde R1 es el radio del control fitopatógeno y R2 es el radio del fitopatógeno con el antagonista.

La clasificación antagónica de las cepas se realizó a los 10 días de crecimiento en las placas de Petri, según la escala de capacidad antagónica *in vitro* para *Trichoderma* spp. de Bell et al. (1982) (Cuadro 1).

Diseño experimental y análisis estadístico. Se realizaron dos ensayos en cada prueba para la confirmación de datos y confiabilidad de los mismos. Las bioquímicas realizadas a las cinco cepas de *Trichoderma* spp. se midieron por triplicado y los resultados se presentaron por los valores medios y su desviación estándar. En la prueba de antagonismo (PICR) se evaluaron las cepas de *Trichoderma* spp. contra los tres fitopatógenos (15 tratamientos), con cuatro repeticiones cada uno, en un diseño experimental completamente al azar. Cada repetición consistió en una placa de Petri con 60 unidades experimentales. Los datos se sometieron a un análisis de varianza y comparación de medias según la prueba de Duncan empleando el paquete estadístico SAS, versión 9.4 (Cary, NC, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Pruebas bioquímicas a las cepas de *Trichoderma* spp.

Índice de solubilización de fosfatos y producción de ácidos orgánicos. Los resultados cualitativos sugieren que las cepas de *Trichoderma* spp. segregaron ácidos orgánicos, a diferencia del control a las 24 y 72 horas, con mayor formación del halo fluorescente, relacionado con la producción máxima de ácidos orgánicos. Los diámetros medios para cada cepa, en orden decreciente, fueron 143,46 mm (TJ7),

138,07 mm (TJ3), 130,71 mm (TM), 126,88 mm (TB) y 109,48 mm (TF). La evaluación cualitativa indicó que las cepas TJ7, TM y TB mostraron mayor precocidad para producir ácidos orgánicos (a las 24 horas) a diferencia de las TJ3 y

TF que fueron más tardías en la segregación de los ácidos; sin embargo, éstas dos últimas, a las 72 horas, lograron solubilizar la totalidad del área de las cajas de Petri, igual que el resto de las evaluadas.

Cuadro 1. Escala de capacidad antagonica de *Trichoderma* spp. a nivel *in vitro*

Escala (grado)	Características
1	<i>Trichoderma</i> spp. crece 100 % sobre la colonia del patógeno y cubre completamente la superficie del medio de cultivo
2	<i>Trichoderma</i> spp. crece al menos sobre las 2/3 partes de la superficie del medio de cultivo
3	<i>Trichoderma</i> spp. y el patógeno cubren aproximadamente la mitad de la superficie del medio de cultivo
4	El patógeno crece al menos en las 2/3 partes del medio de cultivo limitando el crecimiento de <i>Trichoderma</i> spp
5	El patógeno crece sobre la colonia de <i>Trichoderma</i> spp. ocupando completamente la superficie del medio de cultivo

Fuente: Bell et al. (1982)

Por su parte, ninguna cepa de *Trichoderma* spp. mostró solubilización de fosfatos, dado que, en este respecto, el antagonista no mostró actividad. Por el contrario, resultó interesante demostrar que estas cepas fúngicas de *Trichoderma* spp. fueron capaces de acidificar el medio en el que se encontraban, produciendo ácidos orgánicos, aunque a concentraciones que no llegaron a solubilizar fosfatos, pero con indicios de poder promover el crecimiento vegetal en sustratos con abundante materia orgánica.

La falta de actividad para solubilizar fosfatos coincide con lo reportado por Moreno et al. (2014), quienes relacionan en su trabajo exclusivamente a géneros bacterianos con este modo de acción, y difieren de lo señalado por Bader et al. (2020) quienes probaron 19 cepas identificadas como *T. brevicompactum*, *T. gamsii* y *T. harzianum* las cuales solubilizaron un rango de 215,80 a 288,18 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de fosfato de calcio lo que se atribuyó a la producción de ácidos orgánicos (Chung et al., 2005).

En un estudio de Shaikh y Qureshi (2013) se evaluó el potencial de 47 cultivos de hongos para producir ácidos orgánicos en muestras de frutas sanas y en descomposición, verduras y suelo, y se encontró que sólo siete de los cultivos mostraron potencial para producirlo. Por su parte, Zhao et al. (2014) detectaron ácidos oxálico, fórmico y láctico en caldos de cultivo inoculados con *Trichoderma asperellum*.

Uno de los mecanismos empleado por los hongos solubilizadores más estudiados, como *Penicillium* y *Aspergillus* (El-Azouni, 2008; Pandey et al., 2008) es la producción de ácidos orgánicos, los cuales pueden realizar la quelación de minerales que forman los complejos insolubles con el fósforo (Chun et al., 2007; Dighton, 2007). Así mismo, se ha demostrado que estos ácidos son constituyentes normales de la mayoría de los suelos agrícolas y existen evidencias que indican sus efectos en el crecimiento de las plantas, debido a que forman complejos con metales, los solubilizan y participan en su transporte aumentando la disponibilidad de los nutrientes del suelo (Jones et al., 2003).

Cuantificación de ácido indol 3-acético (AIA). Todas las cepas evaluadas mostraron la habilidad de sintetizar AIA (Figura 1A). La TF presentó la mayor capacidad de producción de AIA (35,3 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) con respecto a las otras evaluadas ($P\leq 0,05$), seguidas por TM y TB las cuales mostraron una producción similar entre ellas (25,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ y 24,5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente) sin diferencia significativa entre sí ($P>0,05$). Por su parte TJ3 y TJ7, aunque mostraron la presencia en un incremento en la concentración de AIA (10,4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ y 9,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente), la producción fue muy baja, comparado con el resto de cepas evaluadas y fue muy similar entre sí ya que no hubo diferencias significativas entre ambas (Figura 1B).

Los resultados coincidieron con los obtenidos por Kumar et al. (2017), quienes mencionan que muchas especies de *Trichoderma* spp. fueron capaces de producir la fitohormona auxina ácido indol-3-acético (AIA) para promover el crecimiento de las raíces. Estos mismos autores, encontraron que la cepa *Trichoderma viride* VKF3 alcanzó la máxima producción de AIA ($115 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) cuando el medio se modificó con L-triptófano al 0,5 %. Así mismo, Sabre et al. (2017) reportaron que una cepa de *Trichoderma harzianum* WKY1, en ausencia de triptófano, produjo $18,1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de AIA, mientras que en presencia del mismo registró un aumento de 5,62 veces en la biosíntesis, alcanzando $101,7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Otro estudio de Ng et al. (2015) reportaron 38 aislados productores de AIA con valores de $2,5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ a $93,75 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, siendo este último el más alto obtenido por la cepa T61. Por su parte, Kotasthane et al. (2015) señaló una producción de $30,08 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de AIA y Bader et al. (2020) entre $13,24 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and $24,3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ valores que coincidieron con los obtenidos en esta investigación. Los compuestos con el grupo funcional indol, son la estructura química base de la ruta de biosíntesis del ácido indol-3-acético. La promoción de crecimiento es resultado indirecto de la estimulación de la vía de las auxinas (principalmente de AIA), propiciada por la presencia de bacterias y hongos según Vacheron et al. (2013).

Cuantificación de giberelina-3 (GA_3). La evaluación de la capacidad de síntesis de GA_3 de *Trichoderma* spp. mostró que las cinco cepas sintetizaron giberelinas sin presentar diferencias significativas entre ellas (Cuadro 2). Sin embargo, con la TJ3 se presentó una tendencia mayor en la producción de la fitohormona con respecto al resto. Los valores obtenidos están mostrados de mayor a menor: TJ3 ($2,78 \pm 0,296 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), TJ7 ($2,59 \pm 0,226 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), TB ($2,51 \pm 0,127 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), TM ($2,46 \pm 0,104 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) y TF ($2,42 \pm 0,181 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$).

Los resultados obtenidos de producción de giberelinas (GA_3) mediante este análisis se consideraron relevantes para el noroeste de México debido a que es escasa la información relacionada con microorganismos nativos en esta región, especialmente fúngicos asociados a la promoción del crecimiento vegetal. Por su parte, Jaroszuk-Ścisiel et al. (2019) evaluaron la cepa

Trichoderma DEMTkZ3A0 en diferentes condiciones de temperatura y días de incubación y encontraron que la misma presentó un efecto positivo en la síntesis de GA_3 solo a baja temperatura (12°C); a valores más altos la adición de aminoácidos influyó ligeramente en la síntesis de esta hormona. Así mismo, Turaeva et al. (2020) evaluaron diferentes cepas fúngicas entre estas *Trichoderma harzianum* UzCF-55 bajo distintas condiciones de fuentes de carbono, pH, temperatura e incubación, determinando valores de síntesis de GA_3 de $0,318 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ y $0,17 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, después del noveno día con pH de 5,5 a $28\text{-}20^\circ\text{C}$.

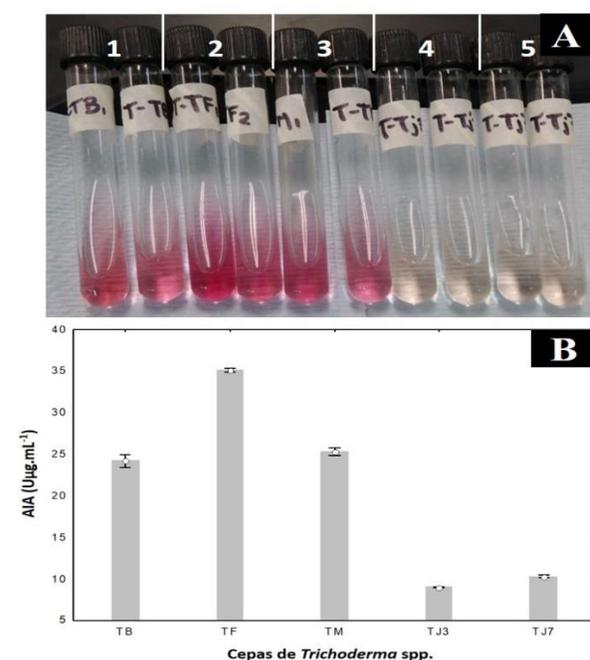


Figura 1. Cuantificación de auxinas (AIA) detectadas en sobrenadantes de cepas de *Trichoderma* spp. A) Reacción colorimétrica de las cepas con el reactivo de Salkowski. 1= TB, 2= TF, 3= TM, 4= TJ3 y 5= TJ7. TB: (*T. asperellum*), TF: (*T. virens*), TM: (*T. asperellum*), TJ3: (*Trichoderma* spp.), TJ7: (*Trichoderma* spp.). B) Valores detectados por cada cepa fúngica.

Estos resultados demostraron la importancia de realizar evaluaciones con cepas de *Trichoderma* spp. bajo condiciones óptimas de adaptabilidad edafo-climáticas o distintos sustratos para garantizar con ello la máxima producción de fitohormonas tales como GA_3 , estrechamente

vinculada con la síntesis de AIA, ácido jasmónico (AJ), etileno y otros, con funcionalidad en la vía de inducción a la resistencia a enfermedades de las plantas teniendo un impacto como antagonistas de fitopatógenos y en la regulación de crecimiento en los cultivos agrícolas (Díaz et al., 2020).

Prueba de antagonismo de *Trichoderma* spp. contra hongos fitopatógenos. En la competencia por espacio, a los 7 días de confrontación dual de *Trichoderma* spp. contra fitopatógenos, el PICR contra *Fusarium oxysporum* mostró diferencias significativas ($P=0,002$) entre las cepas antagonistas donde la TB y TJ13, con promedios de 83,3 y 81,5 %, respectivamente, superaron a las

cepas restantes (Cuadro 2); entre éstas, la cepa TJ17 superó a la TF, mientras que la TM ocupó un lugar intermedio. Contra *Alternaria* spp. el PICR no presentó diferencias ($P>0,05$) entre las cepas, y los valores variaron dentro de un rango de 86,7 y 87,7 % indicando similar comportamiento de ellas frente al patógeno.

En cuanto a *Helminthosporium* spp. el mayor PICR lo obtuvo la cepa TJ3 (76,6 %) superando significativamente ($P=0,005$) al resto; le siguieron las cepas TJ7, TM y TF, las cuales no mostraron diferencias entre sí pero superaron a la TB, que ocupó el último lugar con un PICR promedio de 65,1 % (Cuadro 2).

Cuadro 2. Inhibición del crecimiento radial (PICR) a los 7 días de evaluación en cepas de *Trichoderma* spp. contra fitopatógenos

Cepas de <i>Trichoderma</i> spp.	Fitopatógenos (PICR)		
	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Alternaria</i> spp. (%)	<i>Helminthosporium</i> spp.
TB (<i>T. asperellum</i>)	83,3 a	87,7 a	65,1 c
TF (<i>T. virens</i>)	75,1 c	87,0 a	69,6 b
TM (<i>T. asperellum</i>)	77,2 bc	86,7 a	70,7 b
TJ3 (<i>Trichoderma</i> spp.)	81,5 a	87,6 a	76,6 a
TJ7 (<i>Trichoderma</i> spp.)	79,0 b	87,2 a	71,5 b
Probabilidad, prueba de F	0,0025	0,9073	0,0052

Medias con letras iguales no son diferentes según la prueba de Duncan ($P\leq 0,05$)

En cuanto a la capacidad antagonista, las cinco cepas de *Trichoderma* spp. se ubicaron en el grado 1 (valor 1,0) frente a *Alternaria* spp. según la escala de referencia de Bell et al. (1982); contra *Fusarium* spp. sólo TF se ubicó en grado 2 y el resto mostró el grado 1. En el caso con *Helminthosporium* spp. sólo TB obtuvo el grado 2 con el menor valor de capacidad antagonista a diferencia TF, TM, TJ3 y TJ7 que se ubicaron en el grado 1 contra este fitopatógeno, sin diferencias significativas entre sí.

Los resultados de PICR obtenidos demostraron que las cinco cepas de *Trichoderma* spp. tienen alta habilidad en la competencia por espacio y nutrientes contra los fitopatógenos evaluados (*Fusarium oxysporum*, *Alternaria* spp. y *Helminthosporium* spp.). Lo anterior coincidió con un estudio realizado por Ng et al. (2015) donde 65 aislados de *Trichoderma* fueron evaluados en su PICR contra *Fusarium fujikuroi* y el aislado T40 mostró el valor más alto con 77,33% comparado con el resto, lo cuales registraron valores entre 45 y 55 %; sin embargo, esos resultados son más

bajos a los obtenidos en el presente estudio. En un trabajo realizado por Zuñiga et al. (2017), en confrontación dual *in vitro* donde calcularon PICR cada 24 h hasta obtener el grado de antagonismo de acuerdo a la escala de referencia, reportaron que el valor fue de 17,4 % frente a *Sclerotium rolfsii* y 22,2 % contra *Sclerotium cepivorum* a las 48 y 72 h, respectivamente. *Trichoderma harzianum* obtuvo el grado 1 de antagonismo sobre *S. cepivorum* y grado 2 contra *S. rolfsii*, en la escala. De la misma forma, López et al. (2015) evaluaron a tres de las cinco cepas evaluadas en este estudio (TB y TM= *T. asperellum* y TF= *T. virens*) fueron confrontadas *in vitro* bajo la misma técnica dual contra *Phymatotrichopsis omnivora* y clasificadas en los grados 1 y 2 de capacidad antagonista, según la escala de referencia. Lo anterior coincidió con lo encontrado por Martínez et al. (2008) quienes evaluaron *in vitro* 59 cepas de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia* sp. y obtuvieron que el 81,35 % incluidas en estudio, se ubicaron en los grados 1 y 2 de la escala de referencia. También Duarte et al. (2017)

encontraron que 11 cepas de *Trichoderma* se ubicaron en el grado 2 de la escala contra *Sclerotium rolfsii*, coincidiendo con Reyes et al. (2008) y León et al. (2012), ya que la mayoría de las cepas de *Trichoderma* evaluadas se ubicaron en el grado 2 de capacidad antagónica contra *Sclerotium rolfsii* y notificaron que una de las características significativas del primero fue su elevada velocidad de crecimiento, lo que le brindó la posibilidad de ser un buen competidor por espacio y nutrientes, fundamentalmente en condiciones *in vitro*.

CONCLUSIONES

Se concluye que las cinco cepas de *Trichoderma* spp. (TB, TF, TM, TJ3 y TJ7) evaluadas, además de ser productoras de ácidos orgánicos y fitohormonas como auxinas (AIA) y giberelinas (GA₃), son potenciales para futuras evaluaciones sobre cultivos agrícolas para el control biológico de enfermedades por su alta capacidad antagónica contra fitopatógenos como *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. y *Helminthosporium* spp. a nivel *in vitro*.

La combinación de estas cepas podría jugar un rol promisorio como producto biotecnológico para evaluarse bajo condiciones de invernadero o campo aplicándose como promotores de crecimiento vegetal y/o agente de control biológico de fitopatógenos con la ventaja de ser una alternativa sustentable para el sector agrícola del noroeste de México.

AGRADECIMIENTO

Al Ing. Elihu Raziél Morán Niebla por su apoyo técnico y amistad durante la realización de este proyecto de investigación posdoctoral.

LITERATURA CITADA

- Bader, A. N., G.L. Salerno, F. Covacevich y V.F. Consolo. 2020. Native *Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole-3 acetic acid and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Journal of King Saud University-Science 32(1): 867-873.
- Bell, D., H. Well y C. Markham. 1982. "In vitro" antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology 72(49): 379-382.
- Cherif, S.S. y C.S. Benhamou. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* spp., on *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radices lycopersici*. Phytopathology 80: 1406-1414.
- Chowdappa, P., K.K. Upreti, M.J. Lakshmi y S.P. Kumar. 2013. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. Biological Control 65: 109-117.
- Chun-Chao, C., K. Yu-Lin, C. Chen-Ching y C. Wei-Liang. 2007. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by *Aspergillus niger*. Biology and Fertility of Soils 43: 575-584.
- Chung, H., M. Park, M. Madhaiyan, S. Seshadri, J. Song, H. Cho y T. Sa. 2005. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of crop plants of Korea. Soil Biology and Biochemistry 37: 1970-1974.
- Díaz, G., G. Rodríguez, L. Montana, T. Miranda, C. Basso y M. Arcia. 2020. Efecto de la aplicación de bioestimulantes y *Trichoderma* sobre el crecimiento en plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis* Sims) en vivero. Bioagro 32(3): 195-204.
- Dighton, J. 2007. 16 nutrient cycling by saprotrophic fungi in terrestrial habitats. The Mycota. Environmental and Microbial Relationships 4: 287.
- Duarte-Leal, Y., A. Lamz-Piedra y B. Martínez-Coca. 2017. Antagonismo *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a *Sclerotium rolfsii* Sacc. Revista Protección Vegetal 32(3): 1-11.
- El-Azouni, I.M. 2008. Effect of phosphate solubilizing fungi on growth and nutrient uptake of soybean (*Glycine max* L.) plants. Journal of Applied Sciences Research 4: 592-598.
- Ezziyyani, M., C. Pérez, S. Ahmed, M. Requena y M. Candela. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el

- biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Annales de Biology* 26: 35-45.
12. González-Mendoza, D., R. Troncoso-Rojas, C. Ceceña Durán, O. Grimaldo-Juárez, R. Zamora-Bustillo y E. Ruiz-Sánchez. 2015. Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante presente en tres variedades de berenjena cultivadas en el valle de Mexicali, Baja California. *IDESIA (Arica)* 33(3): 17-21.
 13. González-Soto, T., L. Moreno-Ramírez, R. Troncoso-Rojas, D. González-Mendoza, A. Sánchez-Estrada, O. Grimaldo-Juárez, O. Tzinzun-Camacho y C. Ceceña-Durán. 2017. Inoculación de *Trichoderma longibrachiatum* en algodón transgénico: Cambios en compuestos fenólicos y enzimas de estrés oxidativo. *IDESIA (Arica)* 35(1): 19-24.
 14. Hernández-Morales, J., T. Romero-Rosales, A.C. Michel-Aceves, M. Vargas-Hernández, A. Monteon-Ojeda y J.L. Valenzuela-Lagarda. 2021. Antagonismo enzimático de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora parasitica* en *Hibiscus sabdariffa* L. *Bioagro* 33(3): 203-214.
 15. Jaroszuk-Ścisiel, J., R. Tyśkiewicz, A. Nowak, E. Ozimek, M. Majewska, A. Hanaka y G. Janusz. 2019. Phytohormones (auxin, gibberellin) and ACC deaminase *in vitro* synthesized by the mycoparasitic *Trichoderma* DEMENTkZ3A0 strain and changes in the level of auxin and plant resistance markers in wheat seedlings inoculated with this strain conidia. *International Journal of Molecular Sciences* 20(19): 4923.
 16. Jones, D.L., P.G. Dennis, A.G. Owen y P.A. Van-Hess. 2003. Organic acid behavior in soils-misconceptions and knowledge gaps. *Plant Soil* 248: 31-41.
 17. Kotasthane, A., T. Agrawal, R. Kushwah and O.V. Rahatkar. 2015. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* and response towards growth of cucumber, bottle gourd and bitter gourd. *European Journal of Plant Pathology* 141: 523-543.
 18. Kumar, V. y N. Narula. 1999. Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *Azotobacter chroococcum* mutants. *Biology and Fertility of Soils* 28: 301-305.
 19. Kumar, N.V., K.S. Rajam y M.E. Rani. 2017. Plant growth promotion efficacy of indole acetic acid (IAA) produced by a mangrove associated fungi-*Trichoderma viride* VKF3. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6(11): 2692-2701.
 20. León, R., S.C. Pino y D.B. Núñez. 2012. Aislamiento y selección de cepas de *Trichoderma* y su efecto antagonista frente a *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. *Centro Agrícola* 39(2): 43-48.
 21. López-Valenzuela, B.E., A.D. Armenta-Bojórquez, S. Hernández-Verdugo, M.A. Apodaca-Sánchez, J. Samaniego-Gaxiola, K.Y. Leyva-Madrigal y A. Ortiz-Valdez. 2015. Selección *in vitro* e identificación de aislados de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. nativos para el control de *Phymatotrichopsis omnivora*. *ITEA- Información Técnica Económica Agraria* 111(4): 310-325.
 22. Martínez, B., D. Infante, D. Reyes, E. González, H. Baños y A. Cruz. 2008. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. *Revista de Protección Vegetal* 23: 118-125.
 23. Mohite, B. 2013. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13: 638-649.
 24. Moreno-Ramírez, L., D. González-Mendoza, F. Gutierrez-Miceli, M. Avilés-Marin, C. Ceceña-Durán y O. Grimaldo-Juárez. 2014. Phytohormones Production and Phosphate Solubilization Capacities of *Acinetobacter* sp., Strains Isolation from Mexicali Valley. *Journal of Pure and Applied Microbiology* 8(4): 1-5.
 25. Nawrocka, J. y U. Malolepsza. 2013. Diversity in plant systemic resistance induced by *Trichoderma*. *Biological Control* 67: 149-156.
 26. Ng, L.C., A. Ngadin, M. Azhari y N.A. Zahar. 2015. Potential of *Trichoderma* spp. as biological control agents against bakanae pathogen (*Fusarium fujikuroi*) in rice. *Asian Journal of Plant Pathology* 9(2): 46-58.
 27. Pandey, A., N. Das, B. Kumar, K. Rinu y P.

- Trivedi. 2008. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. isolated from soil samples of Indian Himalayan region. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24: 97-102.
28. Reyes, Y., B. Martínez y D. Infante. 2008. Evaluación de la actividad antagonista de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. *Revista de Protección Vegetal* 23(2): 112-117.
29. Sabre, W. I., K.M. Ghoneem, Y.M. Rashad y A.A. Al-Askar. 2017. *Trichoderma harzianum* WKY1: an indole acetic acid producer for growth improvement and anthracnose disease control in sorghum. *Biocontrol Science and Technology* 27(5): 654-676.
30. SIAP. 2020. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. <https://n9.cl/emrik> (consulta de marzo 3, 2022)
31. Shaikh, Z. y P. Qureshi. 2013. Screening and Isolation of organic acid producers from samples of diverse habitats. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 2(9): 39-44.
32. Tranier, M.S., J. Pognant-Gros, R. De la Cruz-Quiroz, C.N. Aguilar-González, T. Mateille y S. Roussos. 2014. Commercial Biological Control Agents Targeted Against Plant-Parasitic Root-knot Nematodes. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 57(6): 831-841.
33. Turaeva B., A. Soliev, F. Eshboev, L. Kamolov, N. Azimova, H. Karimov et al. 2020. The use of three fungal strains in producing of indole-3-acetic acid and gibberellic acid. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology* 21(35&36): 32-43.
34. Vacheron, J., G. Desbrosses, M.L. Bouffaud, B. Touraine, Y. Moëgne-Loccoz, D. Muller, L. Legendre, F. Wisniewski-Dyé y C. Prigent-Combaret. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontiers in Plant Science* 4(356): 1-19.
35. Zhao, L., F. Wang, Y.Q. Zhang y J.J. Zhang. 2014. Involvement of *Trichoderma asperellum* strain T6 in regulating iron acquisition in plants. *Journal of Basic Microbiology* 54: 115-124.
36. Zuñiga-Mendoza, E. y L.F. Ceja-Torres. 2017. *In vitro* antagonism of *Trichoderma harzianum* on *Sclerotium cepivorum* Berk, and *S. rolfii* Sacc., causal agents of onion rot. *Phyton. Revista Internacional de Botánica Experimental* 86: 7-13.

