VOLUMEN 48
**XXXI Verano De la Ciencia**
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

# Efecto inhibidor de *Trichoderma asperellum* frente a dos cepas de *Alternaria spp.* en condiciones in vitro y en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) con diferencial en tiempos de inoculación

Inhibitory effect of *Trichoderma asperellum* against two isolates of *Alternaria spp*. under *in vitro* conditions and in tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*) with different inoculation timing

Ilse Alejandra Huerta-Arredondo, Diana Sanzón-Gómez, Cristóbal Martín González-Pérez, Eduardo Missael Zavala-Sandoval

[1]Departamento de Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca
ilse.huerta@ugto.mx

## Resumen

*Alternaria spp.* es un hongo fitopatógeno que afecta la producción de cultivos hortícolas como el tomate, causando la enfermedad conocida como tizón temprano. El uso de agentes biológicos antagonistas es una alternativa para su manejo integrado. Este estudio evaluó el efecto inhibidor de *Trichoderma asperellum* (Tr) sobre el crecimiento micelial de dos cepas de *Alternaria spp.* (AT y AH) en condiciones *in vitro* y en plántulas de tomate (S*olanum lycopersicum*) en diferentes tiempos de inoculación. Se realizaron confrontaciones en cajas Petri con medio PDA utilizando discos con micelio de 6 mm (Tr*AT y Tr*AH). Las cajas Petri fueron mantenidas durante 9 días a 25°C. Se obtuvo el crecimiento micelial (cm) promedio y se calculó el porcentaje de inhibición mediante la fórmula de Abbott, en comparación con sus testigos que se sembraron de manera independiente. Se realizaron dos ensayos con cuatro a cinco repeticiones, comparando los dos grupos mediante la prueba t de Student. Todas las cepas disminuyeron su crecimiento micelial durante las confrontaciones en comparación con sus respectivos testigos. *T. asperellum* ejerció un efecto inhibitorio de hasta 42% y de parasitismo sobre la cepa AT. En contraste, frente a la cepa AH se observó inhibición entre 8.7 y 27.6%, sin micoparasitismo; por el contrario, ambas colonias permanecieron separadas por un halo de inhibición, sin llegar a establecer contacto. Estos resultados indican que diferentes cepas de *Alternaria spp*. responden de manera diferencial ante *T. asperellum*, por lo que es necesario realizar pruebas específicas para evaluar el potencial de *T. asperellum* como estrategia de control biológico. Por otro lado, se inocularon plántulas de tomate con discos de 6 mm de diámetro en el cepellón, previa realización de pequeñas heridas en la raíz para favorecer la infección. Se establecieron ocho tratamientos con 15 plántulas por tratamiento: cuatro testigos (AT, AH, TR y agar-agar), dos tratamientos con inoculación simultánea (AH*TR y AT*TR), y dos tratamientos con inoculación en diferentes tiempos, en los que *T. asperellum* se aplicó una semana antes que las cepas de *Alternaria spp.* (TR*AH +1 sem y TR*AT +1 sem). El ensayo aún está en proceso, pero hasta el momento todas las plantas presentan síntomas, aunque el grado de severidad se mantiene entre 1 y 2 de la escala utilizada.

**Palabras clave**: tizón temprano, control biológico, antagonismo, inhibición, *Alternaria spp*., *Trichoderma asperellum,* incidencia, severidad

## Abstract

*Alternaria* spp. is a phytopathogenic fungus that affects the production of horticultural crops such as tomatoes, causing the disease known as early blight. The use of antagonistic biological agents offers an alternative for its integrated management. This study evaluated the inhibitory effect of *Trichoderma asperellum* (Tr) on the mycelial growth of two *Alternaria* spp. strains (AT and AH) under *in vitro* conditions and on tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*) at different inoculation times. Dual-culture assays were conducted in Petri dishes containing PDA medium, using 6 mm mycelial discs (Tr*AT and Tr*AH). The Petri dishes were incubated for 9 days at 25°C. Average mycelial growth (cm) was recorded, and the percentage of inhibition was calculated

VOLUMEN 48
**XXXI Verano De la Ciencia**
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

using Abbott's formula, comparing the results against independently cultured controls. Two trials with four to five replicates were performed, and the groups were compared using Student's T-test. All strains showed reduced mycelial growth during the dual-culture assays compared to their respective controls. *T. asperellum* had an inhibitory effect of up to 42% and exhibited mycoparasitism against strain AT. In contrast, inhibition ranging from 8.7% to 27.6% was observed against strain AH, with no mycoparasitism; instead, both colonies remained separated by an inhibition zone without making contact. These results indicate that different *Alternaria* spp. strains respond differentially to *T. asperellum*, highlighting the need for specific tests to evaluate the potential of *T. asperellum* as a biological control strategy. Additionally, tomato seedlings were inoculated with 6 mm diameter discs placed in the root ball, following the creation of small root wounds to facilitate infection. Eight treatments were established with 15 seedlings per treatment: four controls (AT, AH, TR, and agar-agar), two treatments involving simultaneous inoculation (AH*TR and AT*TR), and two treatments involving inoculation at different times, in which *T. asperellum* was applied one week prior to the *Alternaria* spp. strains (TR*AH +1 week and TR*AT +1 week). The trial is still ongoing, but so far, all plants exhibit symptoms, although the severity remains between 1 and 2 on the scale used.

**Key words:** Early blight; Biological control, Antagonism, Inhibition, Alternaria spp., Trichoderma asperellum, incidence, severity

## Introducción

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es uno de los cultivos hortícolas de mayor importancia económica a nivel mundial. En 2023, México ocupó el séptimo lugar en producción con 4.15 millones de toneladas (FAO, 2023). Asimismo, en 2021 fue el principal exportador mundial de tomate, al destinar 1.90 millones de toneladas al mercado internacional, equivalentes al 23.13 % de las exportaciones mundiales (Soto & Alcalde, 2024). A nivel nacional, Sinaloa concentra el 21.49 % de la producción de tomate, con aproximadamente 800 mil toneladas anuales (SIAP, 2024). Por su parte, Guanajuato ocupa el duodécimo lugar, con una participación del 3%, correspondiente a 111,912.12 toneladas (SIAP, 2024).

El tizón temprano es una de las enfermedades más importantes del tomate y es causado por varias especies del género *Alternaria*. Bajo condiciones favorables, puede ocasionar pérdidas en el rendimiento de entre 35 y 79 %, además de disminuir la calidad de los frutos y generar importantes pérdidas económicas (Adhikari et al., 2017; Bhatia et al., 2021). Además, especies de *Alternaria* asociadas al complejo damping-off pueden ocasionar pérdidas de hasta 50 % en plántulas establecidas (Reyes, 2017).

Las especies del género *Alternaria* son hongos fitopatógenos asexuales de hábito necrotrófico que afectan principalmente los órganos aéreos de las plantas. La infección inicia con la dispersión de conidios por el viento, los cuales germinan sobre la superficie del hospedero y penetran a través de estomas, heridas o directamente por la cutícula cuando las condiciones ambientales son favorables (Thomma, 2003). Como resultado, se desarrollan lesiones necróticas, usualmente en círculos concéntricos que reducen el área fotosintéticamente activa y afectan el crecimiento, la calidad y el rendimiento de los cultivos (Thomma, 2003; Adhikari et al., 2017). El género comprende cientos de especies, la mayoría saprófitas, que habitan el suelo, tejidos vegetales y materia orgánica en descomposición, y actualmente se clasifica dentro del filo Ascomycota, clase Dothideomycetes, orden Pleosporales y familia Pleosporaceae (Rivas & Mühlhauser, 2014; Woudenberg et al., 2013).

El manejo del tizón temprano depende principalmente de la aplicación de fungicidas sintéticos. Sin embargo, el uso repetido de ingredientes activos con el mismo modo de acción favorece la selección de poblaciones resistentes de *Alternaria*, reduciendo la eficacia del control químico y resaltando la necesidad de implementar estrategias de manejo más sostenibles (Bhatia et al., 2021; FRAC, 2024). En este contexto, el control biológico mediante especies del género *Trichoderma* ha adquirido gran relevancia debido a su capacidad para antagonizar un amplio rango de fitopatógenos, colonizar la rizósfera y promover el crecimiento vegetal (Woo et al., 2023).

Las especies de *Trichoderma* son hongos saprófitos ampliamente distribuidos en el suelo y otros sustratos ricos en materia orgánica. Su actividad como agentes de control biológico se basa en mecanismos como la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo, la producción de metabolitos antifúngicos y

enzimas hidrolíticas, así como la inducción de mecanismos de defensa en las plantas (Infante et al., 2009; Poveda, 2021; Woo et al., 2023). La eficacia de *Trichoderma* frente a *Alternaria* depende de la especie, el aislamiento y los mecanismos antagónicos que predominan durante la interacción.

Aunque diversas especies de *Trichoderma* han mostrado actividad antagónica contra *Alternaria*, existe poca información sobre la eficacia de *Trichoderma asperellum* frente a diferentes cepas del patógeno, particularmente en plántulas de tomate. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto inhibidor de *T. asperellum* sobre dos cepas de *Alternaria* spp. mediante ensayos *in vitro* y en plántulas de tomate.

## Objetivos

Objetivo general: Determinar el efecto inhibidor *in vitro* de *Trichoderma asperellum* sobre el crecimiento micelial de dos cepas de *Alternaria spp.* así como evaluar su efecto en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) bajo diferentes tiempos de inoculación.

Objetivos específicos:

-Medir el crecimiento micelial de dos cepas de *Alternaria spp*. (AT y AH) en confrontación con *T. asperellum* bajo condiciones *in vitro*, para determinar si existe efecto inhibitorio y de micoparasitismo.

-Determinar el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de las dos cepas de *Alternaria spp.* (AT y AH) al confrontarlos con *T. asperellum*.

- Evaluar la incidencia y severidad de *Alternaria sp.* en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) en presencia de *T. asperellum* incoulado en distintos momentos

## Materiales y métodos

### Cepas de *Alternaria*

Se utilizaron dos cepas de *Alternaria* spp., previamente obtenidas de tejido vegetal de tomate y chile habanero infectados. Las muestras vegetales se entregaron al Laboratorio de Fitopatología en la División de Ciencias de la Vida, donde se realizó la identificación, aislamiento, y purificación del fitopatógeno mediante cultivos monospóricos. Las cepas fueron nombradas AT y AH por su obtención de tomate y chile habanero respectivamente. Se han conservado en medio Papa Dextrosa Agar (PDA) e incubado a una temperatura de 23-25°C y resembrado periódicamente.

Para el presente estudio, cada cepa se resembró en medio PDA, y se incubó a 25°C por aproximadamente 7 días para crecer colonias de un tamaño suficiente que permitieran obtener el inóculo necesario para cada ensayo.

### Cepa de *T. asperellum*

Se obtuvieron conidios de *T. asperellum* RB-25 de una casa comercial que fabrica el producto biofungicida y bioestimulante denominado RubBisC ®. Los conidios se inocularon en medio PDA e incubaron a 25°C por aproximadamente 7 días para crecer colonias de un tamaño suficiente que permitieran obtener el inóculo necesario para cada ensayo.

### Confrontación *in vitro* de *T. asperellum* y *Alternaria* spp.

Se realizaron dos ensayos de confrontación de las cepas de *T. asperellum* (Tr) contra *Alternaria* spp. obtenida de tomate (AT) y de chile habanero (AH) en cajas de Petri de 9 mm con medio PDA.

Tratamientos. Para cada tratamiento, se extrajeron discos de micelio de 6 mm de diámetro de las colonias de *T. asperellum* y *Alternaria spp*. (AT y AH). Un disco de *T. asperellum* y uno de AT o AH se sembraron de

manera equidistante (Tr*AT y Tr*AH) en cajas de Petri con medio PDA y se incubaron a 25 °C durante el periodo de evaluación (Fig 1a). Asimismo, se establecieron testigos de cada cepa (Tr, AT y AH) para comparar el crecimiento individual de cada hongo, en contraste al crecimiento en los tratamientos de confrontación. Para los testigos, se sembraron discos de micelio de 6 mm al centro de cada caja (Fig 1b). Cada tratamiento y testigo constó de 3 a 5 repeticiones (Tabla 1).

***Tabla 1**. Descripción de los testigos y tratamientos en los ensayos de confrontación con sus respectivas claves. En cada caso se establecieron de 3 a 5 repeticiones*

| Tratamientos y testigos | Clave tratamiento |
|---|---|
| Testigo *T. asperellum* | Tr |
| Testigo *Alternaria* spp. cepa de tomate | AT |
| Testigo *Alternaria* spp. cepa de chile habanero | AH |
| Confrontación de *Alternaria* spp. tomate y *T. asperellum* (evaluación de AT) | AT (Tr*AT) |
| Confrontación de *Alternaria* spp. habanero y *T. asperellum* (evaluación de AH) | AH (Tr*AH) |
| Confrontación de *Alternaria* spp. tomate y *T. asperellum* (evaluación de Tr) | Tr (Tr*AT) |
| Confrontación de *Alternaria* spp. habanero y *T. asperellum* (evaluación de Tr) | Tr (Tr*AH) |

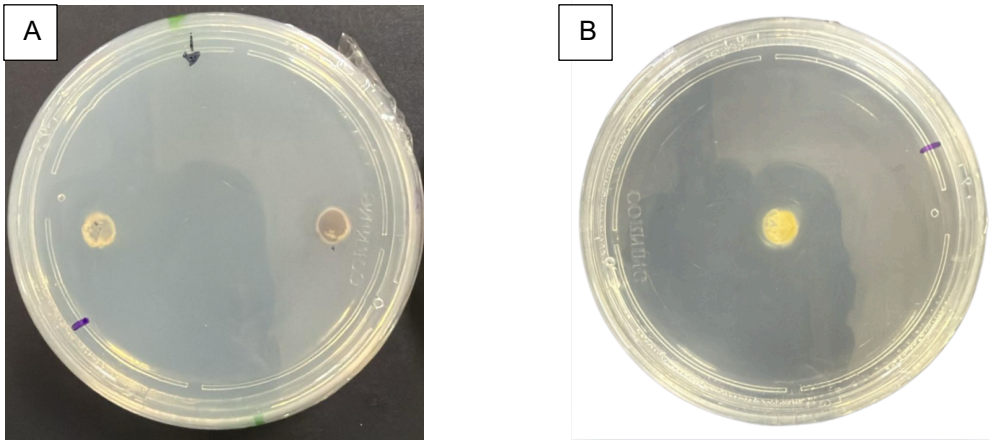



*Figura 1.* ***a) Disposición de discos de medio con T. asperellum (izquierda) y AH de Alternaria sp. (derecha) para el ensayo de confrontación. b) Disposición de disco de T. asperellum testigo en el centro de la caja de Petri.***

Evaluación. El crecimiento micelial se midió en dos zonas perpendiculares de cada una de las colonias con ayuda de un vernier. Se calculó el promedio de ambas mediciones para registrar el diámetro en centímetros (cm) de cada colonia en los tratamientos evaluados y sus repeticiones. Los datos se tomaron cada 24 h durante 9 días, que fue el tiempo aproximado en que *T. asperellum* alcanzó las colonias de *Alternaria* spp. y comenzó a micoparasitar en algunos casos.

Posteriormente se calculó el porcentaje de inhibición de cada repetición en los tratamientos en relación con el promedio de crecimiento de sus testigos. Para ello se utilizó la fórmula de Abbott (Abbott, 1925), descrita a continuación.

$$PI = \left(\frac{Dc - Dt}{Dc}\right) * 100$$

PI: porcentaje de inhibición de crecimiento micelial

D*c*: diámetro promedio del crecimiento en el control o testigo

D*t*: diámetro promedio del crecimiento en el tratamiento

Análisis. Para el análisis estadístico se comparó cada tratamiento con su testigo, mediante una prueba t de Student con un nivel de significancia de *p=0.05* utilizando el software Jamovi ®. La variable evaluada fue el crecimiento del diámetro de la colonia (cm) del día donde los testigos de *T. asperellum* alcanzaron los bordes de la caja y continuamos hasta los 9 días post inoculación para observar la interacción de ambas cepas en los tratamientos. Se utilizó estadística descriptiva para evaluar la inhibición del crecimiento en los tratamientos con respecto a sus testigos a lo largo del periodo evaluado.

## Ensayo *in vivo* en plántulas de tomate con diferentes tiempos de inoculación

Con el propósito de evaluar el efecto de *T. asperellum* sobre *Alternaria* spp. en condiciones naturales, se estableció un ensayo preliminar en plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum*) en el cual se inocularon las raíces con cada uno de los hongos en distintos momentos, como se indica en la sección de tratamientos.

El ensayo se estableció en un invernadero del Departamento de Agronomía en la División de Ciencias de la Vida, ubicada en la comunidad de El Copal, en Irapuato, Gto. México (20.741587, -101.330958).

Material vegetal. Se utilizaron plántulas de variedad de jitomate saladette (tipo Roma) denominada SVTE8444 de Seminis ®, de aproximadamente un mes de edad (fecha de siembra 18 de mayo del 2026).

Tratamientos. En total, el ensayo se conformó por ocho tratamientos, cada uno integrado por 15 plantas. Se incluyeron cuatro tratamientos testigo: cepas de *Alternaria* spp. AT y AH, *T. asperellum* (TR) y un testigo con discos de agar-agar. Además, se evaluaron dos tratamientos con inoculación simultánea entre el antagonista y el fitopatógeno (AT * TR y AH * TR), así como dos tratamientos de inoculación preventiva, en los que *T. asperellum* fue inoculado una semana antes de la incorporación de las cepas de *Alternaria spp*. (TR + AT + 1 SEM y TR + AH + 1 SEM).

***Tabla 2****. Descripción de los testigos y tratamientos en los ensayos de inoculación de plántulas de tomate (Solanum lycopersicum).* Cada tratamiento consistió en 15 plántulas.

| Clave tratamiento | Tratamientos y testigos | Descripción |
|---|---|---|
| Agar-Agar | Testigo absoluto | Plántulas inoculadas únicamente con discos de agar agar |
| AT | Testigo AT | Plántulas inoculadas únicamente con discos de la cepa de *Alternaria* spp. obtenida de tomate |
| AH | Testigo AH | Plántulas inoculadas únicamente con discos de la cepa de *Alternaria* spp. obtenida de chile habanero |
| Tr | Testigo Tr | Plántulas inoculadas únicamente con discos de la cepa de *T. asperellum* |
| Tr * AT | Inoculación simultánea | Plántulas inoculadas al mismo tiempo con discos de Tr y AT |
| Tr * AH | Inoculación simultánea | Plántulas inoculadas al mismo tiempo con discos de Tr y AH |
| Tr * AT + 1 SEM | Inoculación con una semana de diferencia | Plántula inoculada con Tr y una semana después se inoculó la cepa AT. |
| Tr * AH + 1 SEM | Inoculación con una semana de diferencia | Plántula inoculada con Tr y una semana después se inoculó la cepa AH. |

Inoculación. Las plántulas fueron inoculadas con las cepas de *Alternaria spp*. y/o *T. asperellum* (de acuerdo con tratamientos) mediante la colocación de un disco de micelio de 6 mm de diámetro en el cepellón para tener contacto más cercano con el sistema radical. (Figura 2b). Previo a la colocación del disco, se realizaron pequeñas lesiones en las raíces con una aguja de disección estéril con el fin de facilitar la penetración de los microorganismos (Tr, AT o AH) a la plántula (Figura 2a).

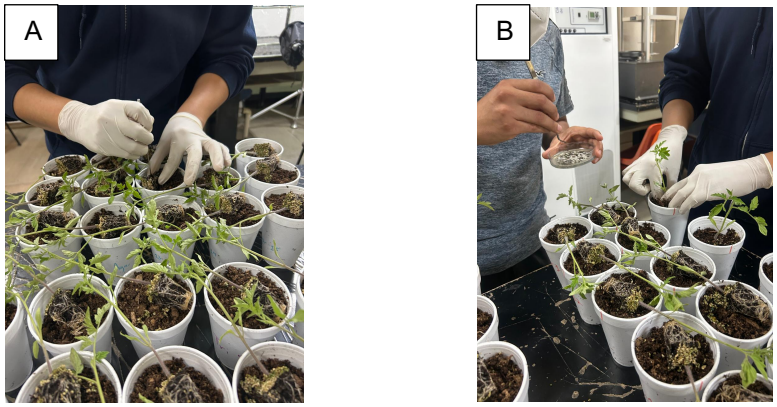
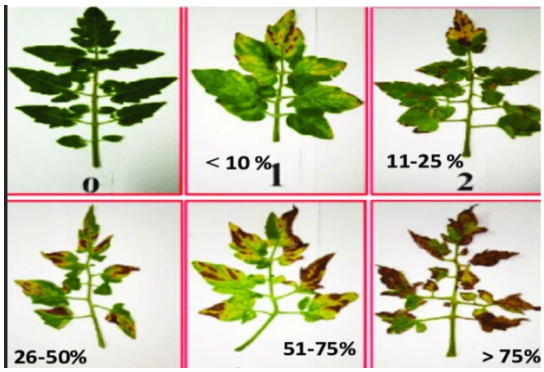



*Figura 2* ***Inoculación de los microorganismos en el cepellón. a) se realizaron ligeras lesiones en la raíz para facilitar la penetración de los microorganismos. b) colocación de los discos de 6 mm de Alternaria spp. AT o AH y/o Tr de acuerdo con el tratamiento.***

Condiciones de siembra y mantenimiento. Las plántulas de tomate fueron trasplantadas individualmente en vasos de unicel de 12 onzas (355 ml), con sustrato de peat moss previamente esterilizado por 30 minutos en la autoclave a 15 psi, para evitar el crecimiento de microorganismos. Después de la inoculación, se colocaron en el invernadero y se regaron de 3 a 4 veces por semana. Se fertilizaron en 2 ocasiones, con el producto Quantum root ® cuya fórmula es NPK (12-30-10) y aminoácidos libres.

Evaluación. Se evaluó la incidencia y la severidad de la enfermedad, una vez a la semana durante 5 semanas, tomando en cuenta síntomas como clorosis y necrosis en hojas Para ello se utilizó la escala de severidad de enfermedad para tizón temprano de Pandey et al. (2003) (Figura 3).




| Rating | Reaction description |
|---|---|
| 0 | Free from infection |
| 1 | < 10% surface area covering leaf, stem and fruit infected by early blight |
| 2 | 11-25% foliage of plant covered with a few isolated spot |
| 3 | Many spot coalesced on the leaves, covering 26-50% surface area of plant |
| 4 | 51-75% area of the plants infected, fruits also infected at peduncle end defoliation and blighting started. Sunken lesions with prominent concentric ring on stem, petioles and fruits |
| 5 | < 75% area of plant part blighted, severe lesion on stem and fruit rotting on peduncle end |

*Figura 3.* ***Escala de severidad de enfermedad para tizón temprano en tomate de Pandey et al. (2003)***

Análisis descriptivo. La incidencia se obtuvo al contar el número de plantas con síntomas de enfermedad y al calcular el porcentaje en función del total de plantas por tratamiento. Para fines de este estudio, se presentan los datos de incidencia durante las cinco semanas evaluadas. Por su parte, la severidad se evaluó individualmente de acuerdo con la escala indicada arriba. En este estudio presentamos el promedio de severidad del último día de evaluación. Más adelante se calculará el Área de Progreso de Enfermedad Bajo la Curva, para mostrar la acumulación de enfermedad por tratamiento. No se muestra ahora porque la evaluación sigue en curso.

## Resultados y discusión

### Confrontación *in vitro* de *T. asperellum* y *Alternaria* spp.

Como se indicó en materiales y métodos, las mediciones del diámetro de las colonias se llevaron a cabo durante un periodo de 9 días. Sin embargo, los datos utilizados para analizar las diferencias en el crecimiento se tomaron del último día en el que las colonias de algunos tratamientos entraron en contacto, pues después de eso no era posible realizar mediciones independientes de las colonias. En el caso del ensayo 1, se consideraron las mediciones del sexto día después de la siembra (dds), y en el ensayo 2 se llegó hasta el quinto dds para Tr, mientras que en el caso de las cepas de AT y AH se llegó hasta el noveno dds.

La Figura 4 muestra el avance en el crecimiento radial de las colonias en todos los tratamientos y sus testigos en el ensayo 1 (Figura 4A y 4C) y el ensayo 2 (Figura 4B y 4D) desde el día uno hasta el noveno día después de la siembra. Se muestran también los crecimientos de *T. asperellum* en cada caso. En general, *T. asperellum* presentó una mayor velocidad de crecimiento radial que las cepas de *Alternaria* spp., pues los testigos alcanzaron el diámetro máximo de la caja Petri (8.5 cm) entre 6 y 7 dds. Destaca también que las colonias de *T. asperellum* en confrontación con AH tuvieron una velocidad de crecimiento menor que sus testigos en ambos ensayos, llegando incluso a detener su crecimiento entre el 5 y 6 dds. En cambio, al confrontar *T. asperellum* con AT, la cepa de *Trichoderma* continuó creciendo, llegando incluso a micoparasitar la cepa de AT. En cuanto a las cepas de AH y AT, el crecimiento en AH fue muy similar entre testigo y tratamiento en el ensayo 1 y ligeramente distinto en el ensayo 2. Por otro lado, las diferencias de crecimiento entre testigo y tratamiento fueron evidentes en AT, especialmente a partir de los 5 y 6 dds.

La figura 5 muestra la interacción que mantuvo *T. asperellum* con cada una de las cepas de *Alternaria* spp. al día 9 en cada uno de los ensayos. Mientras que con AH se observó un halo de inhibición que mantuvo las colonias separadas, la cepa de AT fue micoparasitada por *T. asperellum.*

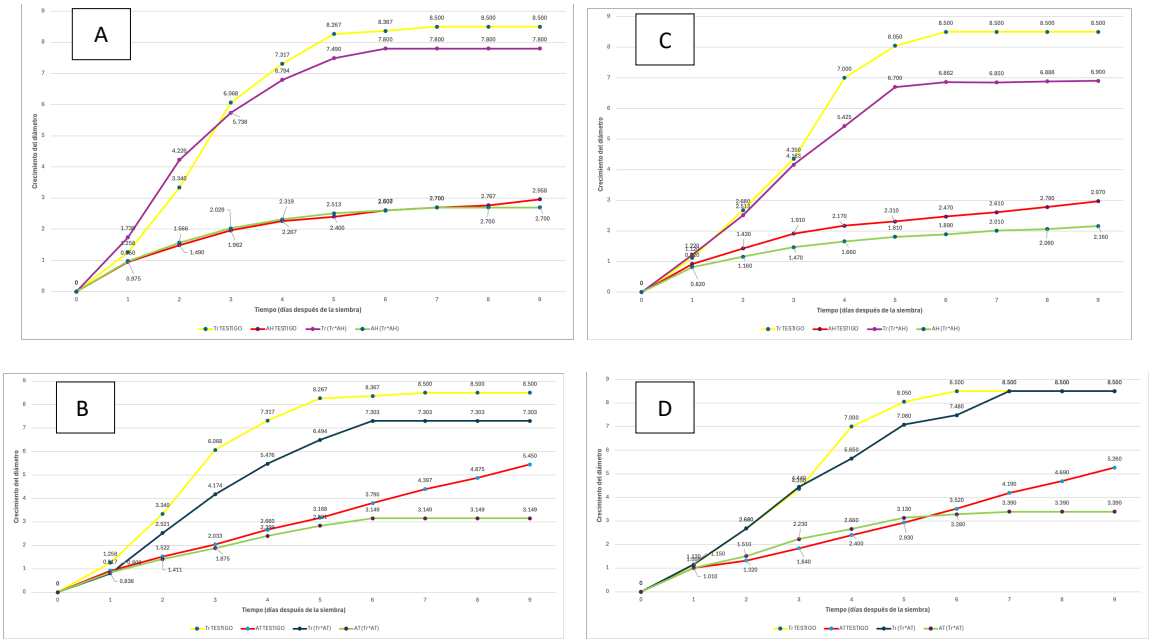



*Figura 4.* ***A) Promedio del crecimiento radial de T. asperellum y la cepa AH durante la confrontación in vitro en el ensayo 1. B) Promedio del crecimiento radial de T. asperellum y la cepa AT durante la confrontación in vitro en el ensayo 1. C) Promedio del crecimiento radial de T. asperellum y la cepa AH durante la confrontación in vitro en el ensayo 2.D) Promedio del crecimiento radial de T. asperellum y la cepa AT durante la confrontación in vitro en el ensayo 2.***

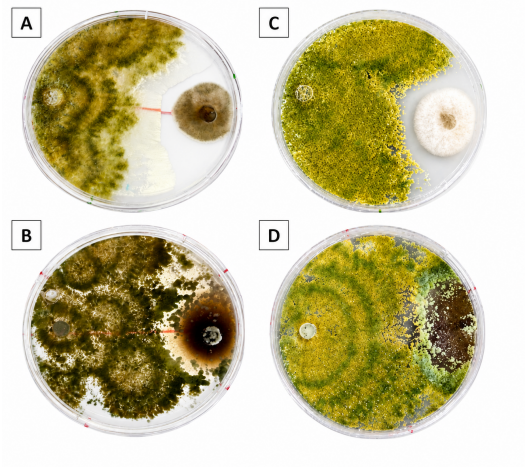



*Figura 5.* ***A y C) Crecimiento y halos de inhibición en tratamientos de Tr*AH en ensayo. 1 (A) y 2 (C) B y D) inhibición de T. asperellum a cepa de AT en tratamientos (Tr*AT) en ambos ensayos.***

VOLUMEN 48
**XXXI Verano De la Ciencia**
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Para realizar el análisis estadístico con la prueba t de Student se verificaron los supuestos estadísticos de normalidad y homogeneidad de varianzas en todos los tratamientos. En el ensayo 1, la prueba de Shapiro-Wilk arrojó valores de $p > 0.05$ en cada caso, confirmando la distribución normal de los datos. De igual manera, la prueba de Levene mostró valores de $p > 0.05$, indicando homogeneidad de varianzas entre los grupos. En el ensayo 2, los datos cumplieron con el supuesto de normalidad según la prueba de Shapiro-Wilk $p > 0.05$ en todos los casos. En la cepa AT, la prueba de Levene indicó heterogeneidad de varianzas ($F = 5.93$, $p = 0.041$), por lo que la comparación se interpretó considerando la corrección correspondiente para varianzas desiguales. En la cepa AH se verificó homogeneidad de varianzas ($F = 0.078$, $p = 0.787$). Estos resultados y sus correcciones validan el uso de la prueba t de Student para la comparación de los tratamientos.

En el ensayo 1, los promedios de crecimiento de la cepa AH no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre el testigo y el tratamiento ($p = 0.967$), como se observa en la tabla 3. Estos resultados indican que, bajo las condiciones evaluadas, la presencia de *T. asperellum* no modificó el crecimiento de la cepa AH. Se observó también que las colonias no llegaron a establecer contacto directo durante el periodo de evaluación, manteniéndose un halo de separación entre ambas, lo que sugiere la presencia de mecanismos de antibiosis o inhibición.

Por otro lado, en la cepa AT frente a *T. asperellum*, la prueba t de Student reveló diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento ($p = 0.005$), como se muestra en la tabla 3. Estos resultados indican que el crecimiento de la cepa AT se redujo de manera significativa en presencia de *T. asperellum*, evidenciando un efecto antagonista directo.

***Tabla 3****. Crecimiento promedio (cm) de la cepa AH y AT (6 dds) en condiciones de testigo y en confrontación con T. asperellum, incluyendo desviación estándar y valor p de la prueba t de Student en el ensayo 1.*

| Tratamiento | Crecimiento promedio (cm) | Desviación estándar | Valor p |
|---|---|---|---|
| AH TESTIGO | 2.607 | 0.164 | 0.967 |
| AH (Tr*AH) | 2.600 | 0.248 | |
| AT TESTIGO | 3.795 | 0.299 | 0.005 |
| AT (Tr*AT) | 3.149 | 0.043 | |

En el ensayo 2, los promedios de crecimiento de las cepas AH y AT mostraron diferencias estadísticamente significativas entre el testigo y el tratamiento ($p = 0.001$), como se observa en la tabla 4. Estos resultados indican que el crecimiento de ambas cepas se redujo de manera significativa en presencia de *T. asperellum*, evidenciando un efecto antagonista directo. Sin embargo, se observó que las colonias de AH y *Trichoderma* no llegaron a establecer contacto directo durante el periodo de evaluación, manteniéndose un halo de separación entre ambas, lo que sugiere la presencia de mecanismos de antibiosis o inhibición. Al contrario, la cepa de AT fue micoparasitada por *Trichoderma*.

***Tabla 4****. Crecimiento promedio (cm) de la cepa AH y AT (9 dds) en condiciones de testigo y en confrontación con T. asperellum, incluyendo desviación estándar y valor p de la prueba t de Student en el ensayo 2.*

| Tratamiento | Crecimiento promedio (cm) | Desviación estándar | Valor p |
|---|---|---|---|
| AH TESTIGO | 2.174 | 0.231 | 0.001 |
| AH (Tr*AH) | 1.671 | 0.277 | |
| AT TESTIGO | 3.01 | 0.327 | 0.001 |
| AT (Tr*AT) | 2.66 | 0.152 | |

El crecimiento de *T. asperellum* también mostró diferencias entre el testigo y las confrontaciones con las cepas de *Alternaria* spp. En el ensayo 1, la prueba t de Student reveló diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo a 6 dds (AH: $p = 0.045$; AT: $p < 0.001$). Igualmente en el ensayo 2, la prueba t de Student mostró que *T. asperellum* redujo significativamente su crecimiento radial frente a cada una de las cepas a 5 dds ($p < 0.001$). Lo anterior indica que el crecimiento de *T. asperellum* se ve afectado significativamente cuando está en confrontación con las cepas AH y AT. La diferencia principal es que, al pasar los días, *Trichoderma* detiene su crecimiento en presencia de AH, formándose un halo de inhibición entre ambas cepas. Mientras que con la cepa AT, *Trichoderma* continúa creciendo incluso sobre la colonia, evidenciando su capacidad antagonista al micoparasitar la cepa AT.

Resultados similares fueron reportados por Sharma y Ratnoo (2019), quienes señalan que en su estudio *Alternaria* spp. no se mezcló con el micelio de *Trichoderma* sp., formándose una zona clara como zona divisoria para el crecimiento de ambos hongos. Esto puede responder a un efecto de antibiosis, que se indica por la formación de una zona clara en la unión del micelio del hongo antagonista y el del hongo fitopatógeno (Ainy et al., 2015), lo que se puede observar en nuestra confrontación de Tr*AH. Sharma y Ratnoo (2019) mencionan que el mecanismo de antibiosis está asociado con la producción de metabolitos secundarios por *T. harzianum.* Por lo tanto, es probable que *T. asperellum* emplee un mecanismo similar durante su interacción con la cepa AH.

En el enfrentamiento entre *T. asperellum* y la cepa AT, se observó la invasión del micelio de *T. asperellum* sobre el de AT. De acuerdo con Sharma y Ratnoo (2019), este comportamiento puede atribuirse a mecanismos de competencia y antibiosis, derivados del rápido crecimiento y la capacidad colonizadora de *Trichoderma* spp.

El análisis estadístico evidenció diferencias significativas entre los tratamientos con *T. asperellum* y sus respectivos testigos. Sin embargo, el comportamiento observado sugiere que las cepas de *Alternaria* spp. compitieron con el antagonista por el espacio y los nutrientes durante el enfrentamiento.

Los porcentajes de inhibición nos permiten observar la disminución en el crecimiento de las colonias en los tratamientos con respecto a sus testigos. Al inicio, se llegan a observar números negativos por la variabilidad en el crecimiento en las distintas repeticiones, pero al acercarse a las cepas en confrontación, las colonias fueron reduciendo la velocidad de su crecimiento con respecto a sus testigos de manera más consistente. Así pues, en el ensayo 1 (Tabla 5), la inhibición del crecimiento de *T. asperellum* fue mayor cuando se enfrentó con la cepa AT, registrando un valor máximo de 36.42 % al primer día después de la siembra (dds). Posteriormente, el porcentaje de inhibición disminuyó gradualmente hasta alcanzar un mínimo de 12.72 % a los 6 dds. La cepa AH mostró un menor efecto inhibitorio sobre *T. asperellum*, con valores negativos durante los dos primeros días y un máximo de 9.40 % a los 5 dds. Respecto al efecto de *T. asperellum* sobre las cepas de *Alternaria* spp., la inhibición de AH fue prácticamente nula durante el periodo de evaluación, observándose únicamente un valor máximo de 8.73 % a los 9 dds. En el caso de la cepa AT, el porcentaje de inhibición aumentó desde 8.64 % al primer día hasta 42.22 % al noveno día, mostrando una mayor

inhibición. En conjunto, *T. asperellum* mostró un efecto inhibitorio más evidente sobre AT que sobre AH (Tabla 5).

***Tabla 5.*** *Porcentaje de inhibición del crecimiento de T. asperellum y de las cepas AH y AT durante el enfrentamiento in vitro (ensayo 1).*

| Tratamiento | 1 dds | 2 dds | 3 dds | 4 dds | 5 dds | 6 dds | 7 dds | 8 dds | 9 dds |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tr (*AH) | -38.08 | -26.52 | 5.45 | 7.15 | 9.40 | 6.77 | 8.24 | 8.24 | 8.24 |
| Tr (*AT) | 36.42 | 24.51 | 31.22 | 25.15 | 21.45 | 12.72 | 14.08 | 14.08 | 14.08 |
| AH (*Tr) | -2.63 | -5.12 | -3.42 | -2.30 | -4.69 | 0.26 | 0.00 | 2.41 | 8.73 |
| AT (*Tr) | 8.64 | 7.26 | 7.79 | 9.82 | 10.64 | 17.03 | 28.38 | 35.41 | 42.22 |

En el ensayo 2 (Tabla 6), la inhibición del crecimiento de *T. asperellum* fue mayor cuando se enfrentó a la cepa AH, con un máximo de 19.41% al séptimo dds, y prácticamente nula al enfrentarse a AT, aunque los números presentan algunas inconsistencias, probablemente porque las colonias de *T. asperellum* continuaron creciendo sobre la cepa AT, igualando el tamaño de sus testigos. La cepa AH presentó un crecimiento de 0.92 a 2.97 cm en el testigo, en comparación con 0.82 a 2.16 cm en el tratamiento con *T. asperellum*, lo que representó una reducción del 27.69 % al finalizar el experimento. La cepa AT, el crecimiento aumentó de 1.00 a 5.26 cm durante los nueve días de evaluación, mientras que en presencia del antagonista se limitó a 3.39 cm y se estabilizó a partir del séptimo día, evidenciando una marcada inhibición del desarrollo micelial del 41.5 % al décimo dds (Tabla 6).

***Tabla 6.*** *Porcentaje de inhibición del crecimiento de T. asperellum y de las cepas AH y AT durante el enfrentamiento in vitro (ensayo 2).*

| Tratamiento | 1 dds | 2 dds | 3 dds | 4 dds | 5 dds | 6 dds | 7 dds | 8 dds | 9 dds | 10 dds |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tr (*AH) | -8.93 | 6.25 | 4.31 | 22.50 | 16.77 | 19.26 | 19.41 | 18.97 | 18.82 | 18.82 |
| Tr (*AT) | -2.68 | 0.00 | -2.07 | 19.29 | 12.05 | 12.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| AH (*Tr) | 10.87 | 18.88 | 23.04 | 23.50 | 21.65 | 23.48 | 22.99 | 25.90 | 27.27 | 27.69 |
| AT (*Tr) | -1.00 | -14.39 | -21.20 | -10.83 | -6.83 | 6.82 | 19.09 | 27.72 | 35.55 | 41.55 |

En ensayos de confrontación dual, la formación de halos de inhibición puede asociarse con la producción de metabolitos difusibles, mientras que el sobrecrecimiento del antagonista refleja procesos de competencia y micoparasitismo (Woo et al., 2023; Susanna et al., 2024). Así pues, las relaciones de cada cepa con *Trichoderma* reflejan distintos modos de acción.

## Ensayo *in vivo* en plántulas de tomate con diferentes tiempos de inoculación

Incidencia. El porcentaje de incidencia de síntomas de enfermedad mostró un incremento progresivo en todos los tratamientos hasta llegar al 100% en todos ellos para la quinta semana de evaluación (22 de julio del 2026). En los tratamientos Tr*AH +1 semana y Tr*AT +1 semana, la incidencia aumentó de forma acelerada desde las primeras evaluaciones, en contraste con el tratamiento testigo (inoculado con discos de Agar-Agar) que mostró la menor incidencia inicial (6.7%), como se observa en la Figura 6.

VOLUMEN 48
**XXXI Verano De la Ciencia**
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

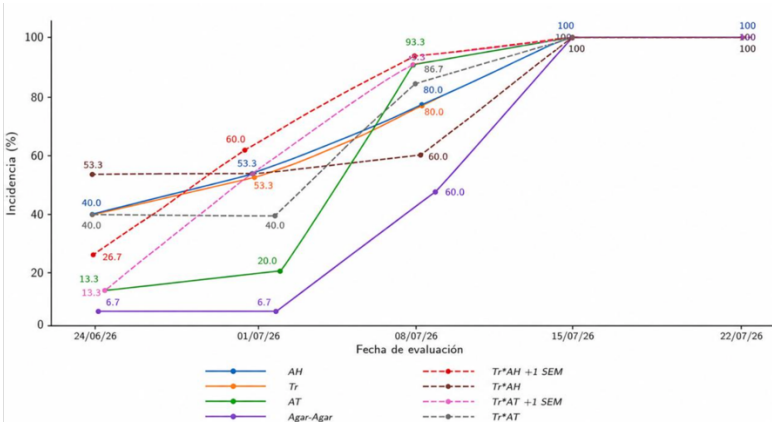



*Figura 6.* ***Progreso de la incidencia en los diferentes tratamientos en plántulas de tomate al día 22 de julio***

Severidad. En la Figura 7 se muestran los resultados del último día de evaluación (22 de julio del 2026), utilizando la escala de severidad de enfermedad para tizón temprano de Pandey et al. (2003). La severidad permanece mayoritariamente en el nivel 1 (<10%) en la mayoría de los tratamientos. Sin embargo, algunos tratamientos, como Tr*AT y Tr*AT +1 semana, muestran una mayor proporción de plantas con severidad en el nivel 2 (11-25%), lo que sugiere una progresión más acelerada de los síntomas. No se han detectado plantas en los niveles 2 a 5 de la escala de severidad.

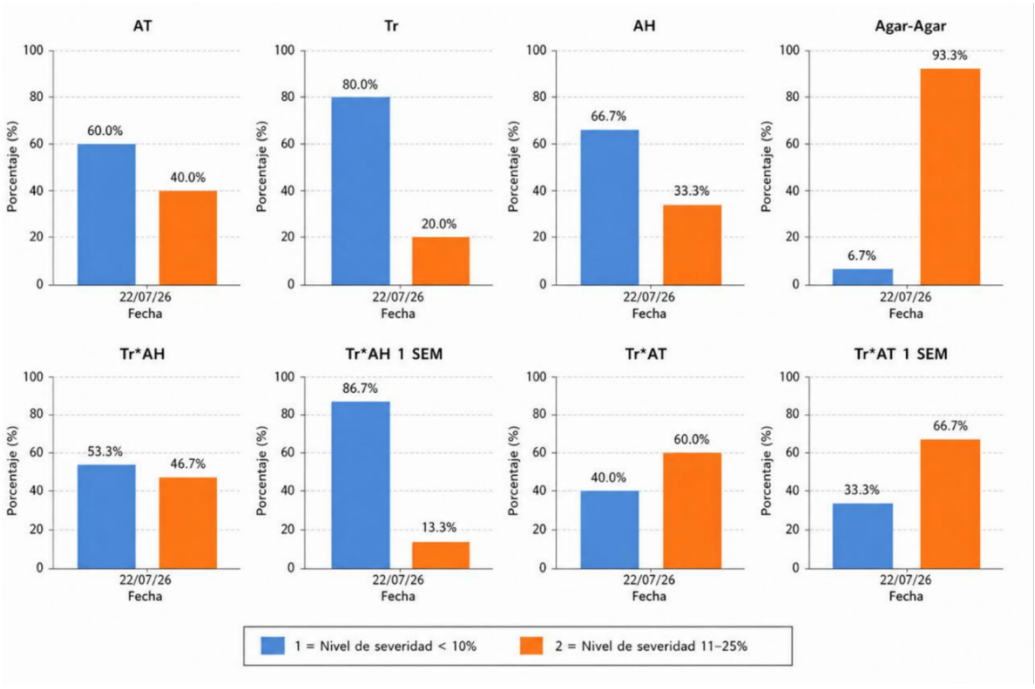



*Figura 7.* ***Medición de severidad de los diferentes tratamientos en plántulas de tomate del día 22 de julio evaluados mediante la escala de severidad de enfermedad para tizón temprano de Pandey et al. (2003).***

Debido a que el ensayo continúa en desarrollo, estas observaciones deben considerarse como tendencias preliminares. Para llegar a una conclusión más certera, deberá calcularse el Área de Progreso de Enfermedad Bajo la Curva una vez concluidas las mediciones y con ello realizar el análisis estadístico para determinar las diferencias entre los tratamientos evaluados.

## Conclusiones

En las confrontaciones *in vitro*, *T. asperellum* presentó una mayor velocidad de crecimiento radial que ambas cepas de *Alternaria* (AH y AT), lo cual era esperado. Asimismo, la confrontación limitó el desarrollo de las cepas de *Alternaria* spp. en comparación con sus respectivos testigos. La inhibición fue más evidente en la cepa de *Alternaria* aislada de tomate (AT), que en la cepa aislada de habanero (AH). Sin embargo, en los análisis estadísticos observamos diferencias entre el ensayo 1 y el ensayo 2. Mientras que en el primer ensayo no hay diferencias significativas entre el testigo y la confrontación de la cepa AH ($p=0.967$), en el segundo ensayo sí las hay ($p<0.001$). En caso de la cepa AT, ambos ensayos muestran diferencias significativas entre testigo y tratamiento (ensayo 1: $p=0.005$; ensayo 2: $p<0.001$). Se sugiere realizar un tercer ensayo para corroborar los resultados.

Una de las observaciones más interesantes, fue que *T. asperellum* nunca estableció contacto con la cepa AH, mientras que tuvo un sobrecrecimiento sobre la cepa AT. En conjunto, estos resultados indican que *T. asperellum* posee una alta capacidad competitiva frente a la cepa de AT, atribuible principalmente a su rápido crecimiento. Así pues, los mecanismos de inhibición frente a cada cepa fueron distintos, por un lado, la producción de metabolitos secundarios (AH) y por otro, se podría agregar la capacidad de micoparasitismo (AT).

Por otro lado, en el ensayo *in vivo* de inoculación de las plántulas de tomate se observó incidencia de enfermedad en el 100% de las plantas en la última medición (22 de julio). Sin embargo, la severidad se mantiene en niveles bajos de la escala utilizada (1 y 2). Esto indica que, aunque todas las plantas tengan algún síntoma, el grado de afectación no es grave. El ensayo aún está en proceso, por lo que no puede tomarse una conclusión. Para ello, es necesario calcular el Área de Progreso de Enfermedad Bajo la Curva, considerando todas las mediciones semanales y con ello realizar el análisis estadístico.

## Referencias

Adhikari, P., Oh, Y., & Panthee, D. R. (2017). Current status of early blight resistance in tomato: An update. International Journal of Molecular Sciences, 18(10), 2019. https://doi.org/10.3390/ijms18102019

Ainy, E. Q., Ratnayani, R., & Susilawati, L. (2015). The antagonist activity test of *Trichoderma harzianum* 11035 against *Colletotrichum capsici* TCKR2 and *Colletotrichum acutatum* TCK1, causes antracnose on chili. Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Environmental, and Learning, 12, 892–897. https://jurnal.uns.ac.id/prosbi/article/view/7122 (En inglés) [Accedido 18 octubre 2022]

Bhatia, A. K., Kumar, A., Goel, A., & Aggarwal, R. (2021). Review: Holistic pest management against early blight disease towards sustainable agriculture. Food and Energy Security, 10(4), e293. https://doi.org/10.1002/fes3.293

Celis-Perera, S. E., Moo-Koh, F. A., Reyes-Ramírez, A., Suárez, J. M. T., & Cristóbal-Alejo, J. (2021). Antagonismo in vitro de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg (Ta13-17) contra hongos patógenos de *Solanum lycopersicum* L. Revista de Protección Vegetal, 36(3).

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2023). FAOSTAT. https://www.fao.org/faostat/

Fungicide Resistance Action Committee. (2024). FRAC code list® 2024: Fungicides sorted by mode of action. https://www.frac.info/

Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Revista Protección Vegetal, 24(1), 14–21.

Osorio, H. E., Hernández, C. F. D., Rodríguez, H. R., Varela, F. S. E., Estrada, D. B., & López, S. J. A. (2016). Actividad antagónica de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia solani in vitro*. Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, (67), 5–11.

Pandey, K. K., Pandey, P. K., Kalloo, G., & Banerjee, M. K. (2003). Resistance to early blight of tomato with respect to various parameters of disease epidemics. Journal of General Plant Pathology, 69(6), 364–371.

Poveda, J. (2021). *Trichoderma* as biocontrol agent against pests: New uses for a mycoparasite. Biological Control, 159, 104634. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104634

Reyes, C. (2017). Secadera de plántulas o damping-off en tomate (*Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Alternaria* sp.). Panorama Agropecuario. https://panorama-agro.com/?p=2451

Rivas, L. M., & Mühlhauser, M. (2014). *Alternaria* spp. Revista Chilena de Infectología, 31(5), 605–606. https://doi.org/10.4067/S0716-10182014000500013

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2024). Anuario estadístico de la producción agrícola. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. https://nube.agricultura.gob.mx/cierre_agricola/

Sharma, S., & Ratnoo, R. S. (2019). Study on effect of host age and host range of Alternaria porri. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 8(1), 1295–1297.

Soto, D. H., & Alcalde, M. (2024). Un análisis de la competitividad del tomate mexicano en el mercado de Estados Unidos. GCG: Revista de Globalización, Competitividad y Gobernabilidad, 18(3), 51–68.

Susanna, S., Sayuthi, M., Salsabila, L., & Basri. (2024). Test antagonism of several Trichoderma species in suppressing the growth of Alternaria sp. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1297(1), 012066. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1297/1/012066

Thomma, B. P. H. J. (2003). Alternaria spp.: From general saprophyte to specific parasite. Molecular Plant Pathology, 4(4), 225–236. https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00173.x

Woo, S. L., Hermosa, R., Lorito, M., & Monte, E. (2023). Trichoderma: A multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. Nature Reviews Microbiology, 21(5), 312–326. https://doi.org/10.1038/s41579-022-00819-5

Woudenberg, J. H. C., Groenewald, J. Z., Binder, M., & Crous, P. W. (2013). Alternaria redefined. Studies in Mycology, 75, 171–212. https://doi.org/10.3114/sim0015