



05

05

Fecha de presentación: febrero, 2016

Fecha de aceptación: junio, 2016

Fecha de publicación: noviembre, 2016

Niveles de humedad, cepa y cantidad de sustrato arroz entero para la reproducción de *Trichoderma* spp.

Humidity level, strain and quantity of entire rice grain substrate for reproduction of *Trichoderma* spp.

María I. Irimia Hernández¹
Ana L. Rodríguez Hernández¹
Leónides Castellanos González²
Email: lcastellanos@ucf.edu.cu

¹Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal Cienfuegos. Delegación Provincial del Ministerio de la Agricultura. Carretera de Palmira Km 4.

²Centro de Estudios para la Transformación Agraria Sostenible. Facultad de Ciencias Agrarias.CETAS. Universidad de Cienfuegos.

¿Cómo referenciar este artículo?

Irimia Hernández, M. I., Castellanos González, L., & Rodríguez Hernández, A. L. (2016). Niveles de humedad, cepa y cantidad de sustrato arroz entero para la reproducción de *Trichoderma* spp. Revista Científica Agroecosistemas [seriada en línea], 4 (1). pp. 39-45. Recuperado de <http://aes.ucf.edu.cu/index.php/ras>

RESUMEN

El experimento se realizó en el Centro de Reproducción de Entomopatógeno del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Cienfuegos en el período comprendido de septiembre del 2008 a julio del 2009. Se estudió el comportamiento de los biopreparados de las cepas A-53 y A-34 de *Trichoderma harzianum* y C-66 de *Trichoderma viride*, bajo diferentes volúmenes de sustrato y porcentajes de humedad, obtenidos de forma artesanal en tarrinas bajo condiciones de cultivo estático sobre soporte sólido (arroz entero). Para la producción del biopreparado se utilizaron las metodologías correspondientes, realizando el secado en cuarto climatizado a temperatura de 20 C°. Se evaluó la calidad del bioproducto terminado, realizando las pruebas de concentración ufc/g, viabilidad, virulencia y pureza. Con la cepa *Trichoderma harzianum* A-53 se obtiene mayor calidad que con el resto de las cepas por la tecnología de fermentación en estado sólido usando sustrato arroz entero, reflejado en alto nivel de pureza y mayor concentración de los conidios del biopreparado, sobre todo en la combinación 100 g de arroz por tarrina y 35% de humedad. La cepa A-53 alcanza los mayores valores de virulencia (hiperparasitismo sobre *Sclerotium rolfsii*), mientras que no se observa diferencia entre las tres cepas en estudio en cuanto a la viabilidad de los conidios.

ABSTRACT

The experiment was carried out in the Center for Entomopathogenic Microorganisms Reproduction at the Provincial Plant Health Laboratory in Cienfuegos, from September 2009 to July 2010. The behavior of the bioproducts of strain A-53 and A-34 of *Trichoderma harzianum* and C-66 of *Trichoderma viride* were studied, under different substrate volumes and percentages of humidity, obtained in a low technology way, in pots for static cultivation on solid supports (entire rice grain). For the bioproducts production, the corresponding methodologies were applied. The drying was done at 20 C° in an air-conditioned room. The quality of the finished bioproduct was evaluated doing the tests of ufc/g concentration, viability, virulence and purity. With the *Trichoderma harzianum* A-53, more quality was obtained than with the rest of the strains, applying the fermentation technology in solid state and using substrate of entire rice grain. This was reflected in the high level of purity and in the higher concentration of the bioproduct conidia, especially in the combination of 100 g of rice per pot and 35 % of humidity. The strain A-53 reaches the higher values of virulence (hyperparasitism on *Sclerotium rolfsii*), while the difference among three conidia under study looking for the viability of them, was not observed.

INTRODUCCIÓN

El interés en el control biológico como método de control de enfermedades aumentó en los últimos años y aunque su desarrollo ha sido relativamente lento el potencial que representa para el manejo de las enfermedades es enorme y al igual que el de plagas de insecto tiene un futuro promisorio. La crisis de los sistemas agrícolas convencionales hace que sea un imperativo del momento el desarrollo y aplicación de nuevos métodos y técnicas de manejo de enfermedades. El control biológico da respuesta a muchos de los problemas de la agricultura moderna y es uno de los componentes esenciales de la agricultura sostenible (Martínez et al., 2013).

Entre los métodos de control biológico es importante la utilización de microorganismos antagonistas. En este grupo tiene un gran empleo las especies de hongos del género *Trichoderma* (Puño et al., 2011). El proceso de producción de hongos antagonistas con calidad competitiva exige, entre otros factores, la selección de sustratos idóneos para la propagación de microorganismos factibles, a partir de la producción agrícola local y no comprometida con otros usos, así como la formulación de otros ingredientes que confieran protección al principio activo y una metodología que garantice la estabilidad y preservación del producto final, que no alteren las propiedades físico-químicas y su interacción con la naturaleza biológica de los microorganismos (Reyes, 2011).

En Cuba la producción artesanal del biopreparado a base de especies del género *Trichoderma* ha sido difundida por su fácil reproducción y efectividad en la protección de los cultivos contra hongos del suelo (Stefanova, 2007). Por otra parte Martínez et al., (2013) plantea que la producción de biopreparados de diferentes cepas de *Trichoderma* se realiza mediante métodos artesanales, por cultivos líquidos estáticos y sólidos bifásicos.

Por primera vez en Cuba durante las campañas 1994-1995 se emplearon biopreparados, obtenidos por métodos alternativos con materias primas nacionales y parámetros controlados, de cepas promisorias nativas de *Trichoderma* (Stefanova, 2007).

La introducción del hongo *Trichoderma* spp. en Cienfuegos tuvo lugar en el período comprendido entre 1993-1995. El antagonista se comenzó a producir un método líquido estático empleando como sustrato la melaza. Posteriormente se empleó el método de reproducción de fermentación sólida empleando sobres de papel. Como tercera tecnología se empleó un método bifásico inóculo sólido – sustrato sólido similar al anteriormente descrito, pero en vez de emplear los sobres de papel se utilizaron

cajas metálicas para la reproducción de este antagonista (Castellanos et al., 2008).

A pesar de la experiencia acumulada en la provincia de Cienfuegos en la reproducción de *Trichoderma* spp. sobre soporte sólido por método estático, no se ha logrado un bioproducto con las condiciones de calidad y estabilidad que permitan su comercialización en el mercado de frontera y aunque se lograron exportar varios lotes del bioproducto, después de tres ciclos de producción había que cerrar el laboratorio por la presencia de contaminaciones fuertes. Para este mercado se exige que el sustrato sea grano de arroz entero, la concentración de unidades formadoras de colonia por gramo (ufc/g) supere el valor 1×10^9 , y que la estabilidad del producto sea más de 90 días.

La investigación tuvo como objetivo evaluar diferentes niveles de humedad y cantidad de sustrato (arroz entero) para la obtención de un bioproducto en tarrina de buena calidad a partir de las cepas de *Trichoderma harzianum* A-34, *Trichoderma harzianum* A-53 y *Trichoderma viride* C-66.

Materiales y métodos

El ensayo se realizó en el Centro de Reproducción de Entomopatógeno del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Cienfuegos, en el período comprendido entre septiembre del 2007 a julio del 2008. Se estudió el comportamiento de las cepas de *Trichoderma harzianum* A-34, A-53 y *Trichoderma viride* C-66 nativa de Cienfuegos, bajo diferentes volúmenes de sustratos y porcentajes de humedad en condiciones de cultivo estático sobre soporte sólido (grano de arroz entero).

Se adicionó a 45 tarrinas plásticas la cantidad de arroz entero a evaluar 100, 150 y 200 g. de acuerdo al tratamiento, se agregó un volumen de agua potable en relación al peso del arroz hasta lograr 30, 35 y 40% de humedad.

Se empleó un diseño multifactorial completamente aleatorizado con 27 tratamientos distribuidos en tres factores (tres cepas, tres cantidades de sustrato y tres niveles de humedad) con 5 réplicas (tarrinas), las cuáles constituyeron la unidad experimental. Las cepas estudiadas fueron *Trichoderma harzianum* cepa A 34, *Trichoderma harzianum* cepa A 34 y *Trichoderma viride* C66. Las cantidades de sustratos fueron 100, 150, 200 g y las humedades 30, 35 y 40 %.

Preparación del sustrato: Para cada nivel de sustrato estudiado (100, 150, 200 g) depositado en tarrinas plásticas se adicionó la cantidad de agua potable necesaria en relación al volumen peso para

lograr los niveles de humedad evaluados (30, 35 y 40 %) a cada nivel de sustrato.

Esterilización: Para ejecutar la esterilización las tarrinas se ubicaron en una autoclave a 121 °C de temperatura y 1,2 atm durante 40 minutos, este proceso se realizó como esta recomendado en el procedimiento para la reproducción de los biopreparados según metodología del INISAV. Posteriormente se extrajeron y se agitaron con movimientos horizontales para descompactar el sustrato, procurando que no quedaran granos de cabecilla en las paredes y tapas, se mantuvieron en reposo durante 12 horas y se procedió a la inoculación.

Preparación de preinóculos: Se utilizaron frascos de cristal de 500 ml, donde se adicionaron 24 g de arroz por cada recipiente y a partir de suspensiones de cultivos puros agarizados de las tres cepas de *Trichoderma* A-53, A-34 y C-66, obtenidos en la sección de entomo-patógeno del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal con sus correspondientes controles de calidad; se procedió a la inoculación para la que se emplearon dos cepas diluidas en 100ml de agua destilada estéril por cada una de las cepas evaluadas con una concentración mayor de 10⁸ ufc/g, después se inició la incubación en el cuarto de reposo a 25°C durante 5 días, de igual forma se comprobó la calidad del preinoculo para realizar posteriormente la siembra.

Inoculación del sustrato: A partir de los preinóculos se obtuvo el material para inocular el sustrato. La inoculación se realizó empleando la proporción de 10 ml de la suspensión por cada 100 g de sustrato. Se agitaron las tarrinas inmediatamente con movimientos laterales para homogenizar el inóculo por todo el sustrato.

Incubación del biopreparado: Este proceso se realizó en cuarto climatizado a una temperatura de 25 °C donde el microorganismos se mantuvo en reposo hasta que se cosechó a los siete días.

Secado: La producción terminada se esparció sobre bandejas metálicas en cuarto climatizado a una temperatura de 20° C para extraer la humedad durante 72 horas, se tomaron muestras del producto final realizando las pruebas correspondientes de control de calidad.

Del producto final se tomaron muestras de cada réplica por variante o tratamiento y se le realizaron los análisis según la metodología descrita anteriormente para determinar los parámetros de calidad. Las variables de calidad del bioproducto que determinadas fueron:

Concentración de conidios/gramo de sustrato: De la muestra del biopreparado evaluado se tomó un gramo del producto y se realizó una suspensión en 10 mL de agua destilada estéril durante una hora después se realizaron cuatro diluciones a las que posteriormente se realizó el conteo de conidios en cámara de Neubauer, utilizando microscopio óptico con el objetivo de 40X.

Pureza del bioproducto: Durante todo el proceso de producción se mantuvo una evaluación diaria eliminando el producto contaminado evaluando el nivel de contaminaciones de las producciones visualmente y por medio de observaciones al microscopio para determinar los microorganismos contaminantes presentes en el biopreparado. Al final del ciclo se totalizó el producto contaminado, teniendo en cuenta el tipo de cepa, volumen de sustrato y porcentaje de humedad en las variantes en estudio.

Virulencia: Se realizó un enfrentamiento entre las diferentes variantes de cepas evaluadas y el hongo *Sclerotium rolfsii* Sacc empleando medio agarizado de agar-papa-dextrosa (PDA), en placas Petri de 9 cm, se sembró un disco de 0.5 cm de diámetro de *Trichoderma* spp. (cepas A-34, A-53 y C-66) en un extremo y en el otro uno similar con el crecimiento del patógeno. Se midió el crecimiento micelial de la *Trichoderma* spp. con una regla graduada al enfrentarse con el patógeno (entre cuatro a seis días), midiendo el solapamiento de la *Trichoderma* en cm.

Viabilidad: Se llevó a cabo mediante siembra en PDA de 0.1 mL de suspensiones conidiales con Tween 60 al 0.01 % preparadas a partir del biopreparado final, a una concentración del orden de 10⁸ con/g. Estas se incubaron a 28 °C por 24 horas. El conteo de conidios se realizó en microscopio de contraste de fase, a las 24 h. Se efectuaron dos conteos por replicas a las 24 horas y los datos se expresaron en porcentaje de conidios germinados.

Para conocer si existía diferencia entre las diferentes variantes en cuanto a la variable concentración del biopreparado (ufc/g) se realizó un análisis de varianza trifactorial. Se empleó como unidad experimental la tarrina. Además se realizó un análisis de varianza simple para conocer si había diferencia entre las cepas en cuanto a las variables virulencia y viabilidad. Los datos de porcentajes de virulencia sobre el hongo patógeno y viabilidad de los conidios fueron transformados en $2 \arcsen \sqrt{p}$. En todos los casos las medias fueron comparadas por el test de rangos múltiples de Duncan con 5% de probabilidad de error para lo cual se empleó el paquete estadístico SSPS versión 15 para Windows.

Resultados y discusión

La pureza visual y al microscopio, se observó para todos los tratamientos de las combinaciones de la cepa A-53 se obtuvo 100 % excepto para la combinación 200 g de sustrato y 40 % de humedad (Tabla 1). Para la cepa A-34 solo se alcanzó 100 % de pureza al microscopio en la combinación 100 g de sustrato con 30% de humedad y para la cepa C-66 no se alcanzó en ninguna combinación. Entre los contaminantes se encontraron bacterias sin identificar y varios hongos como *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp. y *Monilia* spp.

Tabla 1: Interacción cepa-cantidad y humedad de sustrato del biopreparado.

Tratamientos						
Tipo de Cepa	Niveles sustrato (g)	Niveles de humedad (%)	Pureza visual (%)	Pureza al microscopio (%)	Contaminantes	Concentración biopreparado Ufc g ⁻¹
A-53	100	30	100	100	No contaminado	2,32 x 10 ⁹ bc
A-53	100	35	100	100	No contaminado	4,46 x 10 ⁹ a
A-53	100	40	100	100	No contaminado	2,59 x 10 ⁹ bc
A-53	150	30	100	100	No contaminado	2,80 x 10 ⁹ b
A-53	150	35	100	100	No contaminado	2,50 x 10 ⁹ bc
A-53	150	40	100	100	No contaminado	2 x 10 ⁵ e
A-53	200	30	100	100	No contaminado	1,68 x 10 ⁹ bcd
A-53	200	35	100	100	No contaminado	1,37 x 10 ⁹ de
A-53	200	40	100	80	Bacteria	2 x 10 ⁵ e
A-34	100	30	100	100	No contaminado	4,8 x 10 ⁷ de
A-34	100	35	100	80	<i>Aspergillus</i> spp.	3,2 x 10 ⁷ e
A-34	100	40	100	60	<i>Penicillium</i> spp.	3 x 10 ⁵ e
A-34	150	30	100	40	<i>Rhizopus</i> spp.	2,0 x 10 ⁷ e
A-34	150	35	100	40	Bacteria	8,0 x 10 ⁷ e
A-34	150	40	100	40	Bacteria	2 x 10 ⁵ e
A-34	200	30	80	40	<i>Rhizopus</i> spp.	2,3 x 10 ⁷ e
A-34	200	35	80	40	<i>Penicillium</i> spp.	2,8 x 10 ⁷ e
A-34	200	40	80	40	<i>Monilia</i> spp.	0,15 x 10 ⁷ e
C-66	100	30	100	60	<i>Penicillium</i> spp.	3,0 x 10 ⁷ e
C-66	100	35	100	60	<i>Aspergillus</i> spp.	3,2 x 10 ⁷ e
C-66	100	40	80	60	Bacteria	2,44 x 10 ⁸ de
C-66	150	30	100	40	<i>Rhizopus</i> spp.	4,1 x 10 ⁷ de
C-66	150	35	100	40	<i>Penicillium</i> spp.	4,5 x 10 ⁷ de
C-66	150	40	60	40	<i>Monilia</i> spp.	3,1 x 10 ⁷ e
C-66	200	30	60	40	<i>Aspergillus</i> spp.	2,2 x 10 ⁷ e
C-66	200	35	60	40	<i>Penicillium</i>	2,2 x 10 ⁶ e
C-66	200	40	60	40	Bacteria	2 x 10 ⁵ e
CV (%)						4,5
Error Típico*						0,066

* Medias con letras desiguales difieren para p < 0.05 según test de Duncan

El análisis estadístico arrojó significación para la interacción de los tres factores (cepa, humedad y cantidad del sustrato), e interacción doble cepa humedad del sustrato para la variable concentración del bioproducto, así como entre las cepas para la anterior variable y el hiperparasitismo, no así para la germinación de los conidios. Se verificó también significación estadística entre las cantidades del sustrato para la variable concentración del bioproducto.

Al analizar la concentración de conidios del biopreparado para la interacción tipo de cepa, cantidad de sustrato y porcentaje de humedad (Tabla 1) la mejor combinación fue para la cepa A-53 con un 35% de humedad y 100 g de sustrato con una concentración de 4,46 x 10⁹ ufc/g, le siguieron desde el punto de vista estadístico A-53 con 30% de humedad y 150g, A-53 con 40% de humedad y 100g, A-53 con 35% de humedad

y 150g, A-53 con 30% de humedad y 100g, A-53 con 40% de humedad y 150g. Para la cepa A-53 solamente la variante de 200 gramos y 35% de humedad se encuentra con concentraciones por debajo de 1,68 x 10⁹ conidios/g mientras que la cepa C-66 arrojó los menores valores de concentración de ufc/g.

Cuando un microorganismo no encuentra condiciones idóneas para su crecimiento y desarrollo, no evidencia su potencial, en particular cuando existe un medio rico en almidón como el arroz, lo que permite que sea utilizado en otros microorganismos lo que está en correspondencia con lo planteado por Elosegui *et al.* (2005) quienes comprobaron que para condiciones similares de humedad y esterilización el mayor riesgo de contaminaciones del bioproducto de *Trichoderma* ocurrió en la variante que incluía cabecilla de arroz en la mezcla de sustrato.

La presencia de contaminantes en las diferentes variantes estudiadas se considera como algo inherente al propio proceso productivo como han planteado Elosegui *et al.* (2005), quienes además señalan en particular que la calidad del sustrato y de la esterilización juega un papel importante en la carga de contaminantes del bioproducto de *Trichoderma* al final del proceso productivo.

Los presentes resultados demuestran la mayor adaptabilidad de la cepa A-53 en el proceso productivo tanto para la cantidad de sustrato como para el porcentaje de humedad, determinado esto por las características intrínsecas de las cepas.

Similares resultados de calidad del producto obtuvo Castillo, (2001) al lograr en la producción de conidios de *Trichoderma aureoviride* TAT-1 con la tecnología de fermentación en estado sólido sobre sustrato arroz, alcanzando concentraciones de $2,74 \times 10^9$ con/g con el nivel más bajo de humedad 70% y cantidad de sustrato arroz $0,39 \text{ g/cm}^2$. Además los presentes resultados coinciden con los de este autor en lo relacionado a la respuesta diferencial de una cepa de *Trichoderma* spp. frente a diferentes porcentajes de humedad y sustrato para la variable concentración de ufc/g.

De las combinaciones estudiadas en la interacción cepa-humedad del sustrato la cepa A-53 con 35% de humedad presentó el valor más alto de concentración ($1,7 \times 10^9$ ufc/g). Este tratamiento no presentó diferencia estadística para la concentración del biopreparado en la combinación de la propia cepa con 30% y 40% de humedad, ni con cepa A-34 con porcentaje de humedad de 30% y 35%. El resto de las variantes presentaron títulos inferiores a $1,10 \times 10^9$ ufc/g y difieren estadísticamente de la mejor combinación (Tabla 2).

Tabla 2: Concentraciones del biopreparado (ufc/g) en el momento de la cosecha para la interacción Cepa-humedad del sustrato.

Cepa	Humedad (%) del sustrato	Concentración ufc/g	Significación
<i>Trichoderma</i> A-53	30	$1,03 \times 10^9$	ab
<i>Trichoderma</i> A-53	35	$1,7 \times 10^9$	a
<i>Trichoderma</i> A-53	40	$1,02 \times 10^9$	ab
<i>Trichoderma</i> A-34	30	$1,13 \times 10^9$	ab
<i>Trichoderma</i> A-34	35	$1,10 \times 10^9$	ab
<i>Trichoderma</i> A-34	40	$0,66 \times 10^9$	b
<i>Trichoderma</i> C-66	30	$0,71 \times 10^8$	b
<i>Trichoderma</i> C-66	35	$0,55 \times 10^8$	b
<i>Trichoderma</i> C-66	40	$0,71 \times 10^8$	b
CV (%)			12,3
Error Típico*			0,08

*Medias con letras desiguales difieren para $p < 0.05$ según test de Duncan.

Los resultados obtenidos con las combinaciones de la cepa A-53 con 30%, 35% y 40% de humedad reflejan que esta cepa tiene una capacidad más amplia de adaptación al régimen de humedad que el resto. Al parecer las cepas A-34 y 66 requieren condiciones más específicas de humedad y les afecta el exceso de esta.

Estos resultados coinciden con lo planteado por Elosegui *et al.* (2005) cuando refiere que un exceso de humedad provoca baja disponibilidad de oxígeno y por ende pobre desarrollo del microorganismo, además compactaría el sustrato impidiendo una colonización total de su superficie, por otro lado este autor señala que una baja humedad podría inhibir el desarrollo del antagonista.

Los resultados obtenidos en la comparación entre las cepas de *Trichoderma*, demostraron que la cepa A-53 manifestó superioridad con una concentración de $2,37 \times 10^9$ ufc/g presentando diferencia estadística con la cepa A-34 y C-66 con concentraciones de $2,82 \times 10^8$ y $2,28 \times 10^8$ respectivamente independientemente de la cantidad del sustrato y porcentaje de humedad, y se obtuvo la menor concentración del biopreparado con la cepa C-66 del grupo *T. viride* (Tabla 3).

Tabla 3: Concentraciones del biopreparado (ufc/g) e hiperparasitismo para tres cepas de *Trichoderma* en el momento de cosecha.

Cepa	Concentración biopreparado Ufc g ⁻¹	Hiperparasitismo (cm)
<i>Trichoderma</i> A-53	$2,37 \times 10^9$ a	2,18 a
<i>Trichoderma</i> A-34	$2,82 \times 10^8$ b	1,17 b
<i>Trichoderma</i> C-66	$2,28 \times 10^8$ b	1,15 c
CV (%)	7,6	8,0
Error Típico*	0,10	0,12

* Medias con letras desiguales difieren para $p < 0.05$ según test de Duncan.

Los resultados obtenidos de $2,37 \times 10^9$ ufc/g son los exigidos para estos bioproductos al momento de la exportación se corresponden con lo planteado por Stefanova (2007) para Cuba, quien informó concentraciones de conidios de $2-3 \times 10^9$ con/g en el caso de producciones sólidas.

Se conoce de otras investigaciones que el arroz entero contiene de 0,2-0,5% de celulosa, y que todas las especies del género *Trichoderma* producen celulasas (Marín, 2012) por lo que al parecer *T. harzianum* (Cepa A-53 y A-34) son menos exigentes a la celulosa ya que se desarrollaron mejor sobre el sustrato en estudio (arroz) que la especie *T. viride* (Cepa C-66). Esto está

en correspondencia con lo planteado por Rodríguez y Piñeiro (2007) quien resaltó al hongo *T. viride* como el mejor productor de la enzima celulasa y alta capacidad para crecer en materiales celulolíticos.

Todas las cepas de *Trichoderma* spp. resultaron hiperparasíticas, esporulando sobre el hongo *Sclerotium rolfsii* Sacc., aunque la cepa A-53 superó el resto y presentó diferencia estadística con las cepas A-34 y C-66 (Tabla 3). Resultados similares fueron obtenidos con otras especies de *Trichoderma* sobre hongos patógenos aislados de otros cultivos por Martínez et al. (2010), Guedez et al. (2012) y Martínez et al. (2014).

Al analizar los resultados de virulencia pudo comprobarse que *Trichoderma* cepa A-53 fue superior a las 96 horas con 2,18 cm de solapamiento (Tabla 3) seguidas en orden descendente por las cepas A-34 y C-66. Los resultados alcanzados indican que la virulencia del bioproducto no va a depender de las condiciones bajo las cuales se realizó el proceso de producción en cuanto a cantidad de sustrato y porcentajes de humedad, sino que depende de la capacidad intrínseca de cada cepa de producir hiperparasitismo sobre un organismo determinado.

Estos resultados se corresponden con los de Reyes et al. (2006) quienes enfrentaron a *Trichoderma* spp. con el hongo *Rhizoctonia solani*, presentando el mayor hiperparasitismo *T.harzianum* cepa A-53 y A-34, demostrando la elevada actividad hiperparasítica de esta especie sobre el hongo patógeno.

Al analizar la concentración del bioproducto (ufc/g) en las variantes con diferentes cantidades de sustrato se observa que este parámetro resultó mayor cuando se utilizó 100 g/tarrina de arroz al alcanzar un título de $1,79 \times 10^9$ ufc/g manifestando diferencia estadística con las variantes de 150 y 200 g/tarrina y éstas a su vez no arrojaron diferencia estadística entre sí, presentando una concentración con valores medios de $1,25 \times 10^9$ y $9,3 \times 10^8$ ufc/g respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4: Concentración del biopreparado (ufc/g) por cantidad de sustrato en el momento de cosecha.

Cantidad de sustrato g/tarrina	Concentración del bioproducto ufc/g	Significación
200	$9,3 \times 10^8$	b
150	$1,25 \times 10^9$	b
100	$1,79 \times 10^9$	a
CV (%):		14,5
Error Típico*		0,11

* Medias con letras desiguales difieren para $p < 0.05$ según test de Duncan (Lerch, 1977).

Cuando se emplea mayor cantidad de sustrato este tiende a compactarse más, cumpliéndose lo planteado por Elosegui et al. (2005) quienes manifiestan que la compactación del sustrato impide una colonización total de la superficie por parte del microorganismo lo que se refleja en los valores de menor concentración obtenidos en la variante de 200 g de sustrato/tarrina.

Conclusiones

Con la cepa *Trichoderma harzianum* A-53 se obtiene mayor calidad que con las cepas *T. harzianum* A 34 y *T. viride* C66 por la tecnología de fermentación en estado sólido usando sustrato arroz entero, reflejado en alto nivel de pureza, mayor concentración de los conidios del biopreparado sobre todo en la combinación 100 g de arroz por tarrina y 35% de humedad.

La cepa A-53 alcanzó los mayores valores de virulencia (hiperparasitismo sobre *Sclerotium rolfsii*), mientras que no se observó diferencia entre las tres cepas en estudio en cuanto a la viabilidad de los conidios.

Bibliografía

- Castellanos, L., Rodríguez, A. Nimo, N., Sumit D. (2008). *25 años de experiencias de la lucha biológica en Cienfuegos*. Ponencia al 1er Congreso de la Sanidad Vegetal en Cuba. La Habana. 25 p.
- Castillo, D.M. (2001). Evaluación del crecimiento y desarrollo de *Trichoderma aureoviride* TAT-1 en una fermentación de estado sólido sobre el sustrato arroz. *Ciencia y Desarrollo*. 28-33.
- Elosegui, O., Fernández Larrea, O., Carr A. (2005). Influencia de la carga microbiana contaminante inicial del sustrato en la calidad final de biopreparados de *Trichoderma harzianum* Rifai y *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Fitosanidad*: 9 (1): 51-55.
- Guédez, C., Cañizalez L., Castillo C., Olivar R. (2012). Evaluación "in vitro" de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 32(3): 44-49
- Marín, S. (2012). *Trichoderma* spp. Modos de acción, eficacia y usos en el cultivo del café. En: *Federación Nacional de Cafeteros de Colombia*. Boletín técnico Cenicafe N 38.
- Martínez, B., Obret, Y., Pérez, S.; Reyes, Y. (2014). Antagonismo in vitro de cepas de *Trichoderma* spp. frente a *Sarocladium oryzae* (Sawada) W. Gams & D. Hawksworth. *Revista de Protección Vegetal*. 29(2): 106-111.

- Martínez, B., Infante, D., y Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Rev. Protección Vegetal*, 28 (1): 14-18.
- Martínez, B.; Reyes, Y., Infante, D.; González, E., Baños, H., Obret, Y., Cruz, A. (2010). Selección in vitro de aislamientos de *Trichoderma* para el control de hongos patógenos en arroz. *Fitosanidad*. 14(1): 51.
- Puño, R., Terrazas, E., Alvares, T., Giménez, A., Mendoza, L. H., Loza, M. (2011). Evaluación de la capacidad biocontroladora de metabolitos de *Trichoderma inhamatum* Bol12 QD sobre cepas nativas de *Phytophthora infestans* in vitro. *Journal of the Selva Andina Research Society*. 2(1): 26-33.
- Reyes, R.T., Rodríguez, G.G., Pupo Z.D., Alarcón P.L., Llimonta C.Y. (2006). Efectividad in Vitro de *Trichoderma harzianum* (Rifai) en el biocontrol de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Pyricularia grisea* (Sacc.) en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). En: *memorias del taller Latinoamericano. Biocontrol con Trichoderma y otros antagonistas*. INISAV. Ciudad de La Habana.
- Reyes, Y. (2011). *Aislamientos de Trichoderma spp. promisorios para el control biológico del tizón de la vaina (Rhizoctonia solani Kühn) en arroz*. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Mayabeque. Cuba. 94 p.
- Rodríguez, I. y Piñeros Y. (2007). Producción de complejos enzimáticos celulolíticos mediante el cultivo en fase sólida de *Trichoderma* sp. sobre los racimos vacíos de palma de aceite como sustrato. *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. 14 (2): 35-42. Universidad de Antioquia, Colombia
- Stefanova, M. (2007). Introducción y eficiencia técnica del biocontrol de fitopatógenos con *Trichoderma* spp. en Cuba. Instituto de Investigación de Sanidad Vegetal. La Habana. *Fitosanidad*. 11(3): 175-179.
- Velásquez, J. (1996). *Control biológico de Sclerotium rolfsii Sacc. Con Trichoderma harzianum Rifai en siembras comerciales de tabaco en Estado de Portuguesa*. Tesis de Post grado de Fitopatología. UCLA. Barquisimeto. 103 p.