



Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

DIRECCIÓN DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

Trabajo de Tesis

**Evaluación *in vitro* del antagonismo de
Trichoderma harzianum sobre *Cercospora*
spp. como alternativa de control biológico**

Autores:

Br. Lisbeth de los Ángeles Martínez Blandón
Br. María Nelly Báez Gómez

Asesor

MSc. Trinidad Castillo Arévalo

Presentado a la consideración del Honorable Comité
Evaluador como requisito final para optar al grado de
Ingeniero Sanidad en Vegetal e Ingeniero Agrónomo

Managua, Nicaragua
Noviembre, 2025

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable comité evaluador designado por la Dirección de Ciencias Agrícolas como requisito final para optar al título profesional de:

Ingeniero en Sanidad Vegetal / Ingeniero Agrónomo

Miembros del Comité Evaluador

MSc. Santos David Romero
Presidente

MSc. Víctor Ramón Monzón
Ruíz
Secretario

Ing. Luis Enrique Ruíz Obando
Vocal

Lugar y fecha: Managua, Nicaragua, 27/noviembre/2025

DEDICATORIA

A mi mamá Ana y a mi papá Luis, por su amor incondicional, por su apoyo en cada paso y por enseñarme con su ejemplo el valor del esfuerzo y la perseverancia.

A mis hermanos Francisco, Luis y Eduardo, quienes han sido mi compañía, mi inspiración y mi fuerza en los momentos más difíciles.

A mi pequeño sobrino Azael. Me regalo la mayor alegría y la razón más fuerte para terminar este trabajo. Él fue la chispa que encendió mi último esfuerzo.

Y con especial amor y gratitud, dedico este logro a la memoria de mis abuelitos, Emilio, Nelly y Carmen, quienes, aunque ya no están físicamente, siguen presentes en mi vida a través de sus enseñanzas, su cariño y su ejemplo que me guían siempre.

Br. María Nelly Báez Gómez

DEDICATORIA

Dedico con todo mi corazón y profundo sentimiento, a mi mamá, Lisbeth Blandón, y a mi papá, Juan Martínez, por su gran amor incondicional, por ser los pilares en cada etapa de mi vida, por enseñarme el valor del esfuerzo, luchar por mis metas, a ser perseverante y no olvidar nunca mis valores. Este logro es tanto mío como suyo. Los amo con todo mi ser.

A mi tío Reynaldo Blandón, por quererme como a una hija y mantenerse a mi lado en cada etapa de este proceso. Gracias por su constante presencia y por impulsarme a seguir adelante. Este logro también es de usted.

A mis abuelitas Rosa Espinoza y Mercedes Herrera, por su ternura, sus cuidados, sus palabras llenas de sabiduría y su amor sin medida. Gracias por cada una de sus oraciones y por ser faros de luz en mi vida.

Y en memoria de mis abuelos Reynaldo Blandón y Juan Martínez: aunque ya no están físicamente a mi lado, su memoria vive profundamente en mi corazón. Los recuerdo con inmenso amor, gracias por sus enseñanzas y por el cariño que sembraron en mi alma.

Br. Lisbeth de los Ángeles Martínez Blandón

AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser mi guía y mi sostén en cada momento. Por darme la fuerza, la claridad y la perseverancia necesaria para llegar hasta aquí. Sin su luz, este logro no habría sido posible.

A mis padres Luis y Ana. A mis hermanos, Francisco, Luis y Eduardo, por su amor, apoyo incondicional y confianza en mí, fueron el pilar más firme durante toda esta etapa. Gracias por creer en mí incluso cuando yo dudaba, este logro también es suyo.

A mis tíos Angélica, Eyra y Edward, por su cariño constante y por enseñarme con su ejemplo, el valor de la entrega y generosidad. Llevo cada una de sus muestras de apoyo en mi corazón.

A mis queridos amigos Herson, Adys, Clark y Francisco, gracias por ser compañía, refugio y recordarme que no estoy sola; su cariño, apoyo inquebrantable y palabras oportunas me sostuvieron en los días más difíciles. A mis amigos Cristóbal y Emiliano, gracias por su apoyo sincero y por estar presentes cuando más los necesitaba.

A Clarel López, por estar cuando fue necesario, por su paciencia y por el apoyo brindado en momentos clave. Su presencia marcó la diferencia para poder llegar hasta aquí.

A mis compañeros de carrera, quienes hicieron más llevadero el paso por la universidad. Gracias por compartir esfuerzos, risas, desvelos y aprendizajes.

A mi compañera de tesis y amiga Lisbeth, por su paciencia, compromiso y cariño. Gracias por caminar a mi lado y convertir este proceso en una experiencia significativa y llena de crecimiento.

A mi asesor Trinidad Castillo y María Elena Zamora, por su guía, dedicación y paciencia. Su apoyo académico y humano fue esencial para la construcción de este trabajo.

Finalmente, agradezco a la Universidad Nacional Agraria y a mis docentes, en especial a René Jarquín, Lucía Flores, Guadalupe Centeno, Isidro Salinas y Víctor Monzón. Por sembrar en mí el amor por mi profesión, por acompañar mi formación e inspirarme a seguir creciendo con responsabilidad y pasión.

Br. María Nelly Báez Gómez

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a Dios, por ser mi guía constante y darme la fortaleza para no rendirme y poder llegar hasta aquí.

A mis padres y a mis abuelitos, quienes han sido mi mayor motivación y apoyo incondicional, por su amor, sus consejos, sus oraciones, sus cuidados y sus enseñanzas. Todo lo que soy se los debo a ustedes.

A mi compañera de tesis Nelly Báez, gracias por compartir este proceso juntas. Tu dedicación y compañerismo hicieron de este camino una experiencia muy linda, convirtiéndonos en unas profesionales y grandes amigas.

A mis compañeros y grandes amistades de carrera Ana Hernández, Angelynne Matamoros y Clarel López, gracias por los momentos compartidos, que hicieron de esta etapa una experiencia inolvidable. Han dejado una huella en mi corazón y agradezco su comprensión y amistad.

A mi linda amistad de infancia Janicxa Castillo, gracias por tu amistad sincera y por ser el claro ejemplo de que los verdaderos lazos permanecen firmes sin importar las circunstancias. Tu apoyo fue un refugio en los momentos más exigentes.

A Josué Hernández por tu apoyo en esta etapa; por hacer más ligeros los días difíciles; por llenar mis días de paz y por acompañarme con paciencia y respeto en este proceso. Tu presencia fue luz, refugio y fuerza.

A mi Asesor MS.c Trinidad Castillo Arévalo y a la Ingeniera María Elena Zamora, por su constante apoyo, disposición y acompañamiento. Su experiencia, consejos y motivaciones fueron esenciales para fortalecer este proyecto.

Y por último agradezco a la Universidad Nacional Agraria, por brindarme el espacio necesario para desarrollar mis conocimientos. Agradezco la oportunidad de crecer académica y profesionalmente.

Br. Lisbeth de los Ángeles Martínez Blandón

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
AGRADECIMIENTO	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO	v
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos	3
III. MARCO DE REFERENCIA	4
3.1. Descripción del hongo <i>Cercospora</i> spp	4
3.2. Impacto económico	5
3.3. Estrategias de manejo empleadas en <i>Cercospora</i> spp	6
3.4. Importancia del control biológico para enfermedades	7
3.5. Descripción del hongo <i>Trichoderma harzianum</i>	7
3.6. Mecanismos de acción de <i>Trichoderma harzianum</i>	8
3.6.1. Efecto antagónico	8
3.6.2. Antibiosis	9
3.6.3. Micoparasitismo e inducción de resistencia en plantas	9
3.7. Métodos para el aislamiento de microorganismos	10
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	14
4.1. Ubicación del estudio	14
4.2. Diseño metodológico	14
4.3. Diseño experimental	15
4.4. Descripción de los tratamientos	15
4.5. Manejo del ensayo	15

4.5.1.	Recolección y procesamiento de las muestras	15
4.5.2.	Aislamiento de <i>Cercospora</i> spp	16
4.5.3.	Identificación de <i>Cercospora</i> spp	16
4.5.4.	Purificación de <i>Cercospora</i> spp	16
4.5.5.	Preparación de diluciones seriadas	17
4.5.6.	Recuento de conidios	17
4.5.7.	Prueba de antagonismo <i>in vitro</i> de <i>T. harzianum</i> sobre <i>Cercospora</i> spp	17
4.6.	Variables evaluadas	18
4.7.	Recolección de datos	19
4.8.	Análisis de datos	20
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
5.1.	Identificación de <i>Cercospora</i> spp	21
5.2.	Ritmo de crecimiento radial de <i>Trichoderma harzianum</i> en cultivos duales	22
5.3.	Ritmo de crecimiento radial de <i>Cercospora</i> spp en cultivos duales	23
5.4.	Crecimiento radial	24
5.5.	Tasa de crecimiento radial de <i>Trichoderma harzianum</i>	25
5.6.	Porcentaje de inhibición de crecimiento radial	26
VI.	CONCLUSIONES	29
VII.	RECOMENDACIONES	30
VIII.	LITERATURA CITADA	31
IX.	ANEXOS	35

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1.	Concentraciones de los tratamientos evaluados	15
2.	Descripción de las medias de crecimiento radial para cuatro concentraciones de <i>Trichoderma harzianum</i> y el testigo	25
3.	Tasa de crecimiento radial de las concentraciones de <i>Trichoderma harzianum</i>	26
4.	Tasa de crecimiento radial de <i>Cercospora</i> spp.	26

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1.	Ubicación geográfica del laboratorio donde se realizó el ensayo	14
2.	Aislamiento y purificación de <i>Cercospora</i> spp.	21
3.	Identificación bajo microscopio de <i>Cercospora</i> spp.	22
4.	Crecimiento radial de <i>T. harzianum</i> en cultivo dual a través de los diferentes intervalos de tiempo evaluados	23
5.	Crecimiento radial de <i>Cercospora</i> spp. en cultivo dual a través de los diferentes intervalos de tiempo	24
6.	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de <i>T. harzianum</i> sobre <i>Cercospora</i> spp.	28

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO		PÁGINA
1.	Formato de instrumento utilizado para la recolección de datos	35
2.	Procedimiento de recolección de muestras de tejido vegetal afectado por <i>Cercospora</i> spp.	40
3.	Aislamiento y purificación de <i>Cercospora</i> spp.	40
4.	Identificación de <i>Cercospora</i> spp.	40
5.	Preparación de las concentraciones de <i>T. harzianum</i>	41
6.	Establecimiento del ensayo	41
7.	Antagonismo de <i>T. harzianum</i> sobre <i>Cercospora</i> spp.	42
8.	Análisis estadístico	42

RESUMEN

Aislar y preservar microorganismos fitopatógenos como *Cercospora* spp. facilita estudiar sus características, requisitos, condiciones de crecimiento y mecanismos de patogenicidad. Con el propósito de encontrar alternativas de agentes de control biológico para *Cercospora* spp. se desarrolló el presente estudio en el laboratorio de Hongos Entomopatógenos de la Universidad Nacional Agraria, Managua, durante el año 2025. En el estudio se evaluó la capacidad antagonista de *Trichoderma harzianum* sobre *Cercospora* spp., mediante la técnica de cultivo dual bajo condiciones controladas. El aislamiento del patógeno se realizó a partir de tejido foliar lesionado para su posterior identificación mediante criterios morfológicos. El diseño del ensayo fue un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA) con cuatro tratamientos y un testigo, veinte repeticiones para cada uno, para un total de 100 unidades experimentales, donde se evaluaron cuatro dosis de *T. harzianum* 1×10^8 , 1×10^{10} , 1×10^{12} , 1×10^{14} y un testigo (*Cercospora* spp.). Las variables evaluadas fueron ritmo de crecimiento radial, media de crecimiento radial, tasa de crecimiento radial y porcentaje de inhibición de crecimiento radial. En los cultivos duales, *T. harzianum* mostró un patrón dinámico de crecimiento radial, caracterizado por una fase inicial de adaptación, seguida de una aceleración entre las 24 y 48 horas y una posterior desaceleración asociada a la activación de mecanismos de antagonismo como secreción de enzimas líticas y micoparasitismo. Por su parte, *Cercospora* spp. presentó un crecimiento inicial rápido que se vio progresivamente limitado por la presencia del antagonista, alcanzando una meseta entre las 72 y 96 horas que evidencia la eficacia del biocontrol. El análisis de varianza indicó diferencias significativas entre las medias de crecimiento radial de las distintas concentraciones de *T. harzianum* y el testigo, destacándose que este último presentó el mayor crecimiento. La tasa de crecimiento radial del antagonista se mantuvo estable ($0.18\text{--}0.22 \text{ mm h}^{-1}$), mientras que *Cercospora* spp. exhibió un crecimiento más lento (0.13 mm h^{-1}), reflejando la influencia inhibitoria de *T. harzianum*. Los porcentajes de inhibición obtenidos ($67.3\text{--}75.6 \%$) confirmaron una fuerte acción antagonista, siendo la concentración 1×10^{10} conidios/mL la más efectiva.

Palabras clave: Control biológico, hongos fitopatógenos, antagonismo microbiano, crecimiento micelial, cultivos duales, inhibición radial, enzimas hidrolíticas

ABSTRACT

Isolating and preserving phytopathogenic microorganisms such as *Cercospora* spp. facilitates the study of their characteristics, requirements, growth conditions, and pathogenicity mechanisms. With the aim of finding alternative biological control agents for *Cercospora* spp., this study was conducted in the Entomopathogenic Fungi Laboratory at the National Agrarian University in Managua during 2025. The study evaluated the antagonistic capacity of *Trichoderma harzianum* on *Cercospora* spp. using the dual culture technique under controlled conditions. The pathogen was isolated from damaged leaf tissue for subsequent identification using morphological criteria. The trial design was a completely randomized design (CRD) with four treatments and a control, twenty replicates for each, for a total of 100 experimental units, where four doses of *T. harzianum* 1×10^8 , 1×10^{10} , 1×10^{12} , 1×10^{14} , and a control (*Cercospora* spp.) were evaluated. The variables evaluated were radial growth rate, mean radial growth, radial growth rate, and percentage of radial growth inhibition. In dual cultures, *T. harzianum* showed a dynamic pattern of radial growth, characterized by an initial adaptation phase, followed by acceleration between 24 and 48 hours and a subsequent deceleration associated with the activation of antagonistic mechanisms such as lytic enzyme secretion and mycoparasitism. *Cercospora* spp., on the other hand, showed rapid initial growth that was progressively limited by the presence of the antagonist, reaching a plateau between 72 and 96 hours, which demonstrates the effectiveness of biocontrol. The analysis of variance indicated significant differences between the mean radial growth of the different concentrations of *T. harzianum* and the control, with the latter showing the highest growth. The radial growth rate of the antagonist remained stable ($0.18\text{--}0.22 \text{ mm h}^{-1}$), while *Cercospora* spp. exhibited slower growth (0.13 mm h^{-1}), reflecting the inhibitory influence of *T. harzianum*. The inhibition percentages obtained (67.3–75.6%) confirmed a strong antagonistic action, with the concentration of 1×10^{10} conidia/mL being the most effective.

Key words: Biological control, phytopathogenic fungi, microbial antagonism, mycelial growth, dual cultures, radial inhibition, hydrolytic enzyme

I. INTRODUCCIÓN

Según Pérez y Sandoval (2017), los productos agropecuarios han aportado alrededor del 30% de los ingresos del país en los últimos 15 años. Al incluir las exportaciones de carne y azúcar, su contribución supera el 50% del total exportado. De acuerdo con el Banco Central de Nicaragua, los principales productos exportados del sector agropecuario fueron: maní, tabaco en rama, y banano, entre otros productos agrícolas (BCN, 2024).

Las enfermedades son una de las principales limitantes en los cultivos agrícolas, causando pérdidas de hasta un 20% en rendimientos globales y un 10% adicional en la postcosecha. Los hongos y oomicetos son los agentes fitopatógenos más perjudiciales, con impactos históricos como la hambruna en Irlanda en 1840, por el tizón de la papa, causado por *Phytophthora infestans*, y la hambruna de Bengala en 1943, debido al tizón del arroz provocado por *Cochliobolus miyabeanus* (Muñoz *et al.*, 2020).

Cercospora spp. es un hongo patógeno policíclico, el proceso de infección en plantas se inicia cuando los conidios y/o micelio, sobrevivientes en semillas o en rastrojos infectados, germinan y generan uno o varios tubos germinativos, el 50% de los conidios germinan a las 2 horas de incubación. El tubo germinativo penetra en la superficie del folíolo del hospedante, a través de los estomas, desarrollándose las hifas primarias y secundarias que colonizan el mesófilo. Después de tres a cinco días de la infección se forman los conidióforos, en los cuales, a partir de la célula conidiógena, se produce una nueva generación de conidios libres que se propagan principalmente por viento para iniciar un nuevo ciclo biológico y por ende desarrollo de la enfermedad (Lavilla *et al*, 2019).

Los síntomas de *Cercospora* spp. pueden presentarse en tallos, pecíolos, hojas y vainas. La infección foliar se presenta en períodos reproductivos y se manifiesta con lesiones rojo violáceas angulares o irregulares sobre ambas caras de las hojas. En las vainas, tallos y pecíolos se observa un manchado generalizado de color morado. Se manifiesta con mayor intensidad en el tercio superior y medio de la planta, y es producto de la acción de un pigmento tóxico fotoactivo denominado Cercosporina. Bajo severas infecciones pueden causar defoliación o senescencia prematura, como consecuencia hay una disminución del área fotosintética activa total, que

afecta al llenado de granos y al peso de estos, por lo que hay una reducción del rendimiento (Italiano, 2020).

Aislar y preservar microorganismos fitopatógenos facilita estudiar sus características, requisitos, condiciones de crecimiento y mecanismos de patogenicidad. Se estima que solo entre el 0,001% y el 10% de estos microorganismos son cultivables, mientras que el 90% no se desarrolla con técnicas tradicionales de laboratorio o los medios de cultivo no tienen los componentes que favorezcan su crecimiento. Obtener cultivos puros es esencial para investigar estrategias preventivas y de control para las enfermedades que causan (Muñoz *et al.*, 2020).

La clasificación de los hongos cercosporoides (*Cercospora* y géneros afines) ha sido históricamente complicada debido a que se basa en rasgos morfológicos difíciles de interpretar de forma uniforme, lo que provocó numerosos cambios taxonómicos. Con la incorporación de técnicas moleculares, especialmente la secuenciación genética, ha sido posible establecer una clasificación más precisa y estable, incluyendo la reestructuración de géneros como *Mycosphaerella*. Estos hongos están ampliamente distribuidos y causan manchas foliares en diversas plantas, representando una amenaza significativa para la agricultura y la silvicultura (Braun *et al.*, 2015).

Trichoderma harzianum es un hongo común en la mayoría de los suelos y pertenece a la clase Sordariomycetes, orden Hypocreales, familia Hypocreaceae. Sus principales mecanismos de acción incluyen micoparasitismo, antibiosis, competencia, promoción del crecimiento vegetal e inducción de resistencia. Entre ellos, el micoparasitismo es el más relevante, ya que *Trichoderma* invade y degrada al hongo patógeno, afectando su pared celular, desorganizando el citoplasma e inhibiendo la germinación y el desarrollo de sus esporas (Chavarría, 2016).

A consecuencia de los efectos negativos hacia la salud humana y ambiental, causados por el uso inmoderado de productos químicos en la agricultura para el control de enfermedades, emerge la urgencia de encontrar alternativas de agentes de control biológico. Por tanto, el objetivo de esta investigación es evaluar la capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* sobre *Cercospora* spp como alternativa de control biológico en laboratorio.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la capacidad antagónica de *Trichoderma harzianum* sobre *Cercospora* spp. como alternativa de control biológico.

2.2. Objetivos específicos

Caracterización morfológica de *Cercospora* spp. a partir de tejido infectado con *Cercospora* spp.

Determinar el ritmo de crecimiento radial de *T. harzianum* como agente de control biológico de *Cercospora* spp. en cultivo dual.

Cuantificar el porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *Cercospora* spp. en función del tiempo de exposición a *T. harzianum*.

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1. Descripción del hongo *Cercospora* spp

Paredes *et al.*,(2021) mencionan que el género *Cercospora*, perteneciente a la familia *Mycosphaerellaceae*, es uno de los géneros más grandes y sus especies se consideran patógenos importantes de una amplia variedad de plantas. Se reconocen 659 especies en el género *Cercospora* y 281 especies morfológicamente idénticas que se incluyen en el complejo *Cercospora apii*. La mayoría de las especies de este género no tienen una etapa sexual conocida y en las pocas especies que tienen una etapa sexual, el teleomorfo pertenece al género *Mycosphaerella*.

Durante las primeras etapas de la infección, el hongo posee un estilo de vida biotrófico. Sin embargo, cambian su estilo de vida a uno necrotrófico en el que se produce la muerte de la célula huésped para completar su ciclo de vida (Paredes *et al.*, 2021).

Según Agrios (1991) menciona que:

Muchas especies de *Cercospora* originan enfermedades en varias plantas hospedantes. Este hongo produce conidios largos delgados, multicelulares, de incoloros a oscuros. Los conidióforos del hongo, agrupados en racimos, sobresalen de la superficie de la planta a través de los estomas y forman conidios una y otra vez sobre los nuevos ápices en proceso de crecimiento de la planta.

Los conidios se desprenden con gran facilidad y a menudo son llevados a grandes distancias por el viento. El hongo es favorecido por las altas temperaturas, de ahí que sea más destructivo en los meses del verano y en los climas más cálidos. La mayoría de las especies de *Cercospora* producen la toxina no específica cercosporina, que funciona como agente fotosensibilizante en las células vegetales, es decir, mata a las células del hospedante sólo en presencia de luz.

Dicha toxina induce la producción de oxígeno atómico en las células del hospedante, lo cual hace que estas últimas pierden electrolitos y se rompa su membrana celular. Aun

cuando las esporas de *Cercospora* necesitan del agua para germinar y penetrar en sus hospedantes, el rocío abundante al parecer es suficiente para que produzca numerosas infecciones. El hongo inverna en las semillas y en hojas afectadas ya maduras en forma de diminutos estromas negros.

Entre las plantas que con mayor frecuencia afecta se encuentran la remolacha azucarera, zanahoria, apio, berenjena, chícharo, cacahuete, tomate, arroz, maíz, la caña de azúcar y la mayoría de los demás cereales y pastos, azalea, hiedra de Boston, dalia, geranio, tabaco y muchos árboles, así como a otros cultivos de las zonas templadas y tropicales.

Las enfermedades por *Cercospora* se controlan mediante el uso de semillas libres de enfermedad o de una edad de por lo menos 3 años (lapso en el que el hongo de esas semillas ya ha muerto), mediante rotación de cultivos con plantas que no son afectadas por dicho género fitoparásito o por alguna de sus especies y mediante la aspersión de las plantas, tanto en los almácigos como en el campo, con fungicidas como el benomyl, dyrene, clorotalonil, caldo bordelés, maneb, dodine y muchos otros.

3.2. Impacto económico

Pilozo *et al.*, (2022) mencionan que durante la etapa de almácigo las hojas atacadas por el hongo caen prematuramente, disminuyendo el vigor de las plántulas y ocasionando la muerte de ellas cuando es muy alta la intensidad del ataque. En plántulas de 6 meses de edad que crecen en suelos pobres en nutrientes con escasa materia orgánica), los niveles de defoliación pueden llegar hasta el 90% con reducción en el tamaño. Cuando los almácigos se levantan bajo condiciones de umbráculo la defoliación se reduce en cerca de un 20%.

El efecto económico de la enfermedad en frutos está relacionado con la edad de éstos cuando son atacados. Entre más tempranas las infecciones, mayores son las pérdidas ocasionadas; la enfermedad en frutos produce lo que comúnmente se conoce como café “Pasilla” o “Guayaba”. La calidad del café puede deteriorarse por efecto de la enfermedad y las pérdidas pueden llegar al 30% del valor de la cosecha dependiendo de las condiciones del cultivo, especialmente su estado de nutrición.

La Mancha negra (*Cercospora purpura*) es uno de los hongos que mayor impacto tiene en el cultivo de aguacate porque su daño reduce los rendimientos. La razón es que ataca las hojas y produce lesiones pequeñas de color marrón oscuro. Cuando el ataque es severo causa su caída quedando los árboles defoliados. En fruto produce pequeñas lesiones oscuras con bordes irregulares y cáscara agrietada. El daño a las hojas y frutos ayuda a que entren otros organismos como la antracnosis (Contreras, 2021).

3.3. Estrategias de manejo empleadas en *Cercospora* spp

Moreira-Morrillo *et al.*, (2023) afirman:

Que la resistencia contra enfermedades como Cercosporiosis es una de las principales estrategias para tener en cuenta. Otro de los métodos usados para manejar la Cercosporiosis es el cultural, entre estas el riego, y la fertilización orgánica e inorgánica. El riego es una práctica que modifica el microclima del cultivo, interfiere en la luminosidad, temperatura y humedad relativa del aire, y la intensidad de la enfermedad en los cafetos. De hecho, plantas irrigadas presentan 30% menos de incidencia de Cercosporiosis que las no irrigadas.

Una fertilización con dosis altas de nitrógeno (N), potasio (K) y fósforo (P) reducen considerablemente la Cercosporiosis en hojas, y mantienen un mayor número de hojas y el balance nutricional en plantas de café. El uso de abonos verdes intercalados con plantas de café también reduce la incidencia y el número de lesiones de Cercosporiosis en hojas, y la incidencia de pudrición en frutos, ambas enfermedades causadas por *C. coffeicola*, siendo su eficiencia similar a la mostrada con la aplicación de urea.

Otras prácticas culturales que podrían reducir considerablemente la enfermedad en cafetos comerciales es seleccionar semillas de alta calidad, trasplantar las plántulas a poca profundidad, seleccionar densidades poblacionales razonables, eliminar arvenses, restos de cultivos y tejidos o plantas infectadas, y proporcionar entre 35% y 65% de sombra.

En el control biológico se han reportado algunos biocontroladores potenciales contra Cercosporiosis en café. Se encontró que aislados de *B. megaterium*, *B. badius* aplicados en plántulas de café en condiciones de invernadero reducen la enfermedad en más del 50%. Hongos también han sido reportados como potenciales biocontroladores de la Cercosporiosis, por ejemplo, *Trichoderma*.

3.4. Importancia del control biológico para enfermedades

Para muchas enfermedades de las plantas los métodos tradicionales de control químico no son siempre económicos o efectivos e implican riesgos para la salud humana, animal y la seguridad medio ambiental. Surge entonces el control biológico como una alternativa natural que involucra el uso de microorganismos benéficos tales como hongos, bacterias, nematodos y virus, que por diferentes mecanismos atacan y regulan los patógenos de las plantas y las enfermedades que ellos causan. El control biológico ofrece una alternativa amigable para el medio ambiente, la cual puede ser incorporada junto con métodos de control cultural y el uso limitado de químicos en un sistema de manejo integrado de enfermedades (Cristancho, 2003).

Durante las últimas décadas a nivel mundial, la restricción en la aplicación de agroquímicos se plantea como una necesidad para reducir el impacto negativo que causan al medio ambiente y reducir los residuos en los productos cosechados. Al mismo tiempo, la resistencia generada por los patógenos a muchos plaguicidas impide un control efectivo e induce a los agricultores a su sobreutilización, lo que estimula la búsqueda e implementación de alternativas de control amigables con la salud humana y con el medio ambiente, como es el caso del control biológico (Viera-Arroyo *et al.*, 2020).

3.5. Descripción del hongo *Trichoderma harzianum*

El género *Trichoderma* se caracteriza por presentar coloración blanca-verde-amarillosa en el medio de cultivo, sin embargo, en el anverso presenta una coloración amarilla, ámbar o amarilla-verdosa. Entre sus características microscópicas se observan tres tipos de propágulos denominados hifas, clamidosporas y conidios hialinos no verticilados. Las clamidosporas tienden a ser globosas a subglobosas, terminales a intercalares de tono verde y menores a 15 μm

de diámetro, los conidios tienen de 2 a 3 μm de diámetro en promedio son redondos o de forma ovoide, lisos y se observan hialinos o de color verde brillante al microscopio (Martínez-Padrón *et al.*, 2017).

Las propiedades antagonistas de *Trichoderma* se fundamentan en la activación de diversos mecanismos. Las cepas de *Trichoderma* funcionan como agentes de biocontrol contra fitopatógenos fúngicos, tanto de manera directa como indirecta. El mecanismo indirecto incluye la competencia por nutrientes y espacio, la alteración de las condiciones ambientales, la antibiosis e inducción de defensas en la planta, mientras que el mecanismo directo se refiere al micoparasitismo. Aunque algunos agentes de biocontrol emplean sólo una de estas estrategias, los más efectivos, como *Trichoderma*, recurren a varias de ellas (Gajera *et al.*, 2013).

T. harzianum (Rifai), se le puede encontrar en diferentes materiales orgánicos y suelos, están adaptados a diferentes condiciones ambientales lo que facilita su amplia distribución. Algunas especies prefieren localidades secas y templadas y otras templadas y frías. Estos hongos son ampliamente conocidos por su producción de toxinas y antibióticos. Se encuentran diferentes especies y cepas de *T. harzianum* (Rifai), en el cultivo de hongos comestibles, algunas son inofensivas y otras muy dañinas, por lo que su relación antagónica con los hongos cultivados todavía no está completamente conocida y varía entre especies y cepas (Romero-Arenas *et al.*, 2009).

El ciclo de vida de *T. harzianum* (Rifai), inicia cuando el organismo crece y se ramifica como una hifa fúngica típica que mide de 5-10 μm de diámetro. La esporulación asexual ocurre cuando las esporas de 3-5 μm de diámetro son liberadas en un gran número. También se forman clamidospora intercaladas, de forma individual, aunque a veces dos o más clamidosporas se pueden fusionar (Romero-Arenas *et al.*, 2009).

3.6. Mecanismos de acción de *Trichoderma harzianum*

3.6.1. Efecto antagónico

Todo organismo que se opone de alguna manera a la acción, presencia o supervivencia de otro, se considera como un antagonista. *Trichoderma* es uno de los antagonistas más utilizados en

campo debido a que posee diferentes mecanismos de acción para el control de fitopatógenos, además de proporcionar a la resistencia sistémica de la planta hospedera (Martínez-Padrón *et al.*, 2017).

Se han demostrado los efectos positivos de *Trichoderma* sobre plantas, debido a que induce la resistencia sistémica o localizada debido a la producción de una rica mezcla de enzimas antifúngicas como quitinasas y β -1, 3 glucanasas, relacionadas a la lisis de la pared celular fúngica, las cuales actúan de forma sinérgica con otras enzimas para potenciar los efectos perjudiciales sobre los hongos fitopatógenos. Estos hongos colonizan la epidermis de la raíz y capas externas corticales, liberando compuestos volátiles como etileno, alcoholes, aldehídos, cetonas, y compuestos no volátiles como péptidos, destacando la molécula λ -aminoácido-oxidasa, de la cual se ha comprobado que inhibe el crecimiento del micelio de *Rhizoctonia solani* (Martínez-Padrón *et al.*, 2017).

3.6.2. Antibiosis

La antibiosis es la acción directa de metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a éstos. Muchas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos, los cuales son moléculas orgánicas e inorgánicas que se generan durante las reacciones bioquímicas en el metabolismo celular. En el género *Trichoderma* se han reportado metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico. Tales sustancias inhibidoras son consideradas “antibióticos”. *Trichoderma* produce compuestos como gliotoxina, viridina, trichodermina, suzukacilina, alameticina, dermadina, trichotecenos y trichorzianina (Martínez-Padrón *et al.*, 2017).

3.6.3. Micoparasitismo e inducción de resistencia en plantas

El micoparasitismo es la acción de un microorganismo parasitando a otro y puede ser definido como una simbiosis antagónica entre organismos, donde el antagonista utiliza como alimento al fitopatógeno. El micoparasitismo puede ocurrir mediante la penetración, engrosamiento de las hifas, producción de haustorios y desorganización del contenido celular. Generalmente, están

implicadas enzimas líticas extracelulares tales como β -1-3-glucanasa, quitinasa, proteasa y celulasa, las cuales son el paso clave para la degradación de la pared celular del patógeno durante el micoparasitismo. Por tal motivo, *Trichoderma* se ha reportado como mico parásito de un gran número de hongos fitopatógenos al atacar y producir la lisis de micelio y también de esclerocios de hongos (Martínez-Padrón *et al.*, 2017).

La inducción de resistencia sistémica en el hospedero es uno de los mecanismos indirectos de *Trichoderma* de mayor interés en el campo; dicho proceso involucra cambios celulares en el hospedero, tales como el aumento de depósitos de calosa en el interior de la pared celular y aumento en la actividad de peroxidasa y quitinasas. Otros procesos relacionados con la inducción sistémica contra patógenos del suelo, tal como *F. oxysporum* f. sp. lycopersici son el confinamiento, la inhibición del patógeno y los cambios histológicos en el hospedero. Se ha demostrado que algunas especies de *Trichoderma* inducen el desarrollo de la planta y propician en ellas mecanismos de defensa contra patógenos y además tiene la capacidad de estimular el desarrollo de tejidos meristemáticos primarios, los cuales están relacionados a la germinación, altura, peso de la planta y raíz, reflejándose en la planta como aumento a la tolerancia por estrés (Martínez-Padrón *et al.*, 2017).

3.7. Métodos para el aislamiento de microorganismos

Muñoz *et al.*, (2020) describen que las técnicas más utilizadas para el aislamiento de microorganismos son:

Cultivo directo: Mediante la observación de la muestra en un estereomicroscopio, se examina detalladamente la presencia de posibles estructuras del patógeno. Empleando una aguja estéril, se aíslan las estructuras identificadas y se transfieren de forma directa a medios de cultivo específicos. Estos medios pueden incorporar, o no, antibióticos destinados a inhibir el desarrollo de microorganismos contaminantes.

Cámara húmeda: Esta metodología busca generar un ambiente controlado de humedad y temperatura que favorezca la activación, desarrollo y manifestación de los

microorganismos presentes en las muestras, facilitando así su aislamiento, caracterización y, posteriormente, su preservación e identificación.

Se pueden emplear placas Petri, cajas plásticas o bandejas previamente desinfectadas con alcohol al 70%. En el fondo se coloca papel absorbente y, sobre este, una malla plástica que impide el contacto directo de las muestras con el papel. Posteriormente, el papel se humedece con agua destilada (sin requerir esterilidad) y las muestras se distribuyen sobre la malla, procurando que no estén en contacto entre sí.

La bandeja se cubre con una bolsa plástica para generar un ambiente con alta humedad, permitiendo a la vez una ligera entrada de aire para evitar condiciones anaeróbicas. Luego, las muestras se incuban a 24 °C o a temperatura ambiente por un periodo máximo de 5 días o hasta la aparición de signos.

Es indispensable revisar diariamente las muestras, ya que la cámara húmeda también favorece el desarrollo de microorganismos saprófitos, los cuales, debido a su rápido crecimiento y elevada producción de esporas, pueden interferir en el aislamiento del patógeno al colonizar rápidamente el material vegetal.

Siembra de tejido vegetal en medio de cultivo: Este procedimiento consiste en cortar fragmentos pequeños de tejido (3–5 mm) ubicados en la zona de avance de la lesión o de los síntomas, para posteriormente sembrarlos en medios de cultivo. Cuando se requiere aislar patógenos localizados debajo de la epidermis o provenientes de tejido con alta carga contaminante, es indispensable realizar una desinfección superficial del material antes de la siembra.

Los métodos de desinfección más utilizados son: a) sujetar los fragmentos de tejido con una pinza, pasarlos brevemente por la llama de un mechero y colocarlos directamente en un medio de cultivo para su incubación a 24 °C; b) sumergir los fragmentos en alcohol al 70% durante 30 segundos, luego en una solución de hipoclorito de sodio al 1% por 1–3 minutos, nuevamente en alcohol al 70% por 30 segundos y, finalmente, realizar tres enjuagues con agua destilada estéril durante 1 minuto cada uno. Después, se secan los

fragmentos sobre papel absorbente estéril y se siembran en el medio de cultivo para su incubación.

Cultivo de raíces en agua: Esta metodología se emplea principalmente para el aislamiento de oomicetos y otros hongos presentes en el suelo que afectan las raíces y la base del tallo, causando necrosis y desprendimiento del tejido cortical. Las raíces se lavan cuidadosamente con agua potable para eliminar cualquier resto de tierra u otras impurezas. Luego, se seleccionan y recortan segmentos de las áreas que presentan síntomas y se colocan en una placa Petri, cubriéndolos con agua destilada estéril. Las placas se incuban a temperatura ambiente y se examinan periódicamente bajo un estereomicroscopio para evaluar la formación y desarrollo de las estructuras del patógeno.

Obtención de cultivos puros de los patógenos: Posterior al proceso de aislamiento, es fundamental verificar la presencia del patógeno en la placa, extraer sus estructuras y transferirlas nuevamente a medios de cultivo hasta obtener una colonia pura. Estos cultivos puros permiten determinar su identidad taxonómica (género y especie), garantizar su conservación a largo plazo y servir como fuente de inóculo para ensayos de patogenicidad.

Mediante observación microscópica, se identifican las estructuras del patógeno presentes en el cultivo. Luego, se seleccionan aquellas colonias que crecen de forma aislada o suficientemente separadas tanto de la masa principal de micelio como de posibles contaminantes.

En el caso de hongos, se debe localizar el margen activo de crecimiento de la colonia. Posteriormente, dentro de un gabinete de bioseguridad o bajo la llama de un mechero, se esteriliza una aguja, se abre parcialmente la placa y se extrae un pequeño fragmento de agar que contenga micelio del hongo, el cual se transfiere a un medio de cultivo fresco. Si el patógeno produce estructuras de reproducción (cuerpos fructíferos o esporas), también es posible aislar directamente dichas estructuras desde el crecimiento aéreo y sembrarlas en una placa con medio nuevo.

Identificación de los microorganismos patógenos: Una vez obtenidos los cultivos microbianos puros, se procede a la identificación del microorganismo aislado para determinar si corresponde al patógeno de interés o a un organismo saprófito. En el caso de hongos, se evalúan características morfológicas como el aspecto del micelio, la presencia y tipo de estructuras fructíferas, así como la forma y disposición de esporas o conidias, empleando tanto lupa estereoscópica como microscopio óptico. Con base en estas observaciones, la identificación del hongo se realiza apoyándose en literatura especializada y claves taxonómicas.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación del estudio

El estudio se realizó del mes de junio de 2025 al mes de septiembre de 2025, en el Laboratorio de Hongos Entomopatógenos de la Universidad Nacional Agraria (UNA), ubicada en el km 12.5 de carretera norte en el departamento de Managua, municipio de Managua con coordenadas geográficas 12°08'52" latitud norte y 86°09'41" longitud oeste.



Figura 1. Ubicación geográfica del laboratorio donde se realizó el ensayo

4.2. Diseño metodológico

La investigación se enmarca en un enfoque cuantitativo experimental, mediante la implementación de un diseño completo aleatorizado (DCA), orientada a evaluar el efecto de cuatro concentraciones de *T. harzianum*, con un total de 20 réplicas por concentración para garantizar la validez de los resultados.

Se utilizó un diseño de medición repetida, ya que el crecimiento radial del patógeno y antagonista se registró cada 24 horas durante cuatro días. Esto permitió analizar la dinámica del efecto de cada concentración de *T. harzianum* sobre el desarrollo del patógeno en condiciones controladas.

4.3. Diseño experimental

La investigación se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo y experimental. El método de investigación se basó en ensayos de laboratorio, aplicando la técnica de cultivo dual para evaluar el antagonismo. El factor de estudio fue la aplicación de *T. harzianum* con cuatro niveles correspondientes a diferentes concentraciones (1×10^8 , 1×10^{10} , 1×10^{12} y 1×10^{14}) y un testigo (*Cercospora* spp.), en un lapso de 12, 24, 48, 72 y 96 horas, cada una con 20 repeticiones, para un total de 100 unidades experimentales.

4.4. Descripción de los tratamientos

Cuadro 1. Concentraciones de los tratamientos evaluados

Tratamientos	Concentraciones de esporas de <i>T. harzianum</i> y <i>Cercospora</i> spp	Número de tratamientos
<i>Trichoderma harzianum</i>	1×10^8	T1
<i>Trichoderma harzianum</i>	1×10^{10}	T2
<i>Trichoderma harzianum</i>	1×10^{12}	T3
<i>Trichoderma harzianum</i>	1×10^{14}	T4
Testigo (<i>Cercospora</i> spp.)	1×10^4	T5

4.5. Manejo del ensayo

4.5.1. Recolección y procesamiento de las muestras

Las muestras se tomaron en el cultivo de frijol establecido en el área del REGEN perteneciente a la Universidad Nacional Agraria en el municipio de Managua, departamento de Managua, se realizó un muestreo visual por conveniencia dirigida en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) que presentaran sintomatología correspondiente a *Cercospora* spp., seguidamente se recolectaron 25 hojas infectadas y se depositaron en bolsas parafinadas y fueron trasladadas al laboratorio en donde se establecieron en cámaras húmedas para su posterior análisis y aislamiento.

4.5.2. Aislamiento de *Cercospora* spp

Se utilizó la metodología empleada por Paredes *et al.*, (2021) la cual consistió en:

La desinfección del material vegetativo mediante un lavado con agua procurando eliminar cualquier suciedad o impureza sobre este, seguidamente se hicieron pequeños cortes de aproximadamente 1 cm² en las áreas donde se presenten focos de infección de la enfermedad y en un recipiente con alcohol al 70% se sumergieron por un minuto. Posteriormente se introdujeron en hipoclorito de sodio al 1% por un minuto y luego se lavaron con agua destilada.

Posterior al proceso de desinfección del material vegetal, éste fue depositado en placas Petri con un diámetro de 100 mm conteniendo medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) suplementado con amoxicilina a una concentración de 80 mg·L⁻¹, con el propósito de inhibir el crecimiento bacteriano. Las muestras fueron incubadas a temperatura ambiente (20–25 °C) durante un periodo aproximado de 10 días, permitiendo el desarrollo micelial bajo condiciones controladas.

4.5.3. Identificación de *Cercospora* spp

La identificación se realizó mediante la observación de características morfológicas en cultivo y estructuras reproductivas utilizando las claves taxonómicas descritas por Barnett y Hunter (1999) y Agrios (1991). Se consideraron aspectos como el tipo de micelio, la forma y disposición de los conidios (forma, septación y coloración), lo cual permitió asignar los aislados al género *Cercospora* spp.

4.5.4. Purificación de *Cercospora* spp

La obtención de cultivos puros completamente libres de otros contaminantes que no sean el hongo de interés, se considera un paso indispensable para garantizar la precisión en su identificación y en los análisis posteriores. Con este propósito, se aplicó la metodología descrita por Domínguez *et al.* (2013) la cual consistió en:

Los inóculos generados fueron seleccionados y transferidos a placas petri que contenían el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA). Una vez realizada la siembra, las placas se incubaron durante cinco días a 20 °C.

4.5.5. Preparación de diluciones seriadas

La metodología aplicada para la preparación de las diluciones en serie se basó en los lineamientos descritos en el manual *Producción y uso de hongos entomopatógenos* de la Universidad Nacional Agraria (2021), se colocaron granos de arroz previamente colonizados por *Trichoderma harzianum* en un tubo de ensayo con 10 ml de agua destilada estéril al cual se le adiciono 0.01 % de Tween 80. La mezcla se agitó en un vórtex durante un minuto para favorecer el desprendimiento de las conidias, obteniéndose así una suspensión concentrada del inóculo, denominada solución madre.

A partir de esta solución, se realizaron diluciones decimales seriadas, transfiriendo 1 ml de la dilución a un tubo con nueve ml de agua destilada estéril con 0.01 % de Tween 80, agitando entre cada paso. Para la siembra del hongo se utilizaron las diluciones finales (10^1 a 10^8), con el objetivo de minimizar la contaminación por otros microorganismos.

4.5.6. Recuento de conidios

El conteo de conidias se efectuó mediante el uso de un hemocitómetro (cámara de Neubauer). Tras la preparación de las diluciones correspondientes, se tomó una alícuota de cada suspensión utilizando una micropipeta y se depositó cuidadosamente en el hemocitómetro. Posteriormente, se observó la muestra bajo el microscopio óptico para llevar a cabo el conteo de conidias, se utilizaron los cuadros principales, este paso se repitió varias veces hasta obtener una concentración promedio representativo.

Para calcular la concentración de conidias se utilizó la fórmula planteada en el manual *Producción y uso de hongos entomopatógenos* de la Universidad Nacional Agraria (2021):

$$\text{No. de Conidias/g} = \text{No. de Conidias en el cuadro} \times \text{Factor de cámara} \times \text{Factor Dilución}$$

4.5.7. Prueba de antagonismo *in vitro* de *T. harzianum* sobre *Cercospora* spp

La prueba de antagonismo se realizó siguiendo la metodología de enfrentamiento dual descrita por Suárez Meza *et al.* (2008), adaptada en este estudio mediante la sustitución de discos de micelio por alícuotas de suspensión conidial. Esta adaptación permitió estandarizar la

concentración inicial del inóculo, asegurar uniformidad en los puntos de inoculación y mejorar el control sobre la cantidad de propágulos fúngicos, manteniendo el principio biológico del enfrentamiento dual sin alterar el diseño experimental original.

Para ello, se aplicaron alícuotas de 5 μ L de suspensión conidial activa de *T. harzianum* en cuatro concentraciones: 1×10^8 , 1×10^{10} , 1×10^{12} y 1×10^{14} conidios/mL, depositándolas con micropipeta en un extremo de las placas Petri con medio PDA. En el extremo opuesto se inoculó una alícuota de 5 μ L de suspensión conidial de *Cercospora* spp. a una concentración de 1×10^4 conidios/mL.

Se incluyó un testigo constituido únicamente por la alícuota de *Cercospora* spp., con el fin de evaluar su crecimiento en ausencia del antagonista.

Las placas se incubaron a 20 °C durante 96 horas (cuatro días), permitiendo la interacción directa entre los hongos y la evaluación del efecto inhibitorio correspondiente a cada concentración de *T. harzianum*.

4.6. Variables evaluadas

Ritmo de crecimiento radial

El Ritmo de Crecimiento Radial de *Cercospora* spp. y *Trichoderma harzianum* se determinó en milímetros (mm) siguiendo la metodología de Garrido y Vilela (2019), con adaptaciones para el presente ensayo sustituyendo los discos de micelio por alícuotas, como se describe a continuación.

Se registró el avance del crecimiento radial del micelio a las 12 horas y después cada 24 horas durante un período de incubación de cuatro días (96 horas).

La medición se inició desde el punto central de inoculación (la alícuota de 5 μ L de suspensión conidial depositada en el medio PDA).

En cada toma de datos, se le realizó lo siguiente:

Se trazó o marcó la circunferencia exterior alcanzada por el margen del micelio de cada hongo en el envés de la placa de Petri utilizando un marcador.

Se midió la distancia desde el punto central de inoculación hasta el margen de la colonia recién marcado. Para garantizar la precisión y capturar posibles crecimientos irregulares, esta medición se realizó en cuatro direcciones diferentes, simulando un patrón en forma de cruz (arriba, abajo, izquierda, derecha)

A partir de estas cuatro mediciones diarias por placa, se calculó el promedio del crecimiento radial para cada tratamiento, unidad experimental y hongo, bajo condiciones de cultivo controladas (20 °C).

Tasa de crecimiento radial

Para el cálculo de la tasa de crecimiento radial se utilizaron los promedios del hongo patógeno y antagonista por cada tratamiento, se calculó mediante la fórmula propuesta por Guigón *et al.*, (2010):

$$TC = (\text{Crecimiento radial final} - \text{Crecimiento radial inicial}) / \text{tiempo de incubación}$$

Porcentaje de inhibición de crecimiento radial

El porcentaje de inhibición de crecimiento radial se calculó con la fórmula sugerida por Samaniego *et al.* (1989) citado por Mejía y Alvarado (2016):

$$PICR = (R1 - R2) / R1 \times 100$$

Donde:

PICR: Es el porcentaje de inhibición del crecimiento radial

R1: Es el radio del patógeno testigo

R2: Es el radio del patógeno en enfrentamiento

4.7. Recolección de datos

La recolección de datos para el ensayo de antagonismo se centró en registrar el avance del crecimiento micelial de *Cercospora* spp. y *T. harzianum* en el tiempo. La primera medición se tomó a las 12 horas después de la inoculación para documentar la fase inicial de adaptación, y las recolecciones siguientes se realizaron con un intervalo constante de 24 horas hasta completar el periodo de 96 horas. En cada levantamiento de datos, se midieron cuatro radios del diámetro de la colonia de ambos hongos (patógeno y antagonista), tomando la distancia desde el punto central de la alícuota de inoculación hasta el margen del micelio. Para garantizar la precisión y la reproducibilidad de los datos, las mediciones se realizaron en cuatro direcciones distintas por placa.

4.8. Análisis de datos

Los datos recolectados fueron organizados por variables en una hoja de cálculo de Microsoft Excel. Posteriormente, se verificaron los supuestos estadísticos mediante la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y la prueba de Levene para evaluar la homogeneidad de varianzas. Para cumplir con los criterios del análisis de varianza (ANDEVA), se aplicó transformación logarítmica en base 10 [$\log(x)$] únicamente a la variable de crecimiento radial promedio. Se realizaron comparaciones entre tratamientos y separación de medias mediante la prueba de Tukey ($p = \leq 0.05$), utilizando el software estadístico InfoStat (versión 2020). Las variables ritmo de crecimiento, tasa de crecimiento y porcentaje de inhibición, fueron analizadas de forma descriptiva.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Identificación de *Cercospora* spp

Mediante el aislamiento del tejido foliar de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) recolectado en campo se lograron observar signos de *Cercospora* spp. Los fragmentos de tejido vegetal que se sembraron en el medio de cultivo PDA presentaron el crecimiento micelial del hongo.

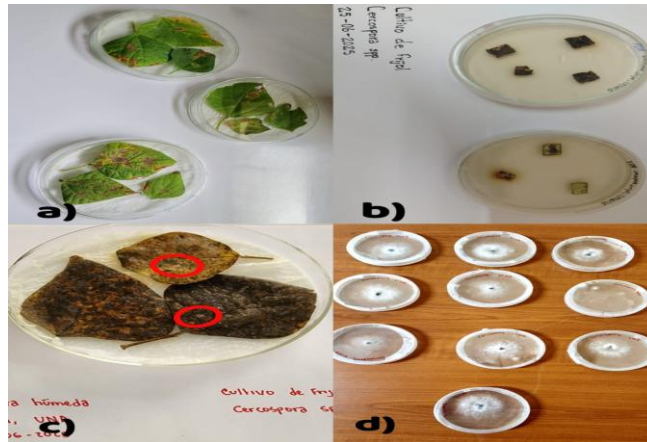


Figura 2. Aislamiento y purificación de *Cercospora* spp. a) cámara húmeda con tejido foliar con afectación del patógeno. b) Cámara húmeda con crecimiento micelial. c) Fragmentos de tejido vegetal sembrado en medio (PDA). d) Aislado puro de *Cercospora*.

En la identificación del hongo *Cercospora* spp., se encontraron las estructuras producidas por el hongo patógeno, como los conidios. Los cuales presentaron formas y características propias del género *Cercospora* spp., como conidios alargados y segmentados. También se tomaron en cuenta el color, tipo de micelio y el patrón de crecimiento.

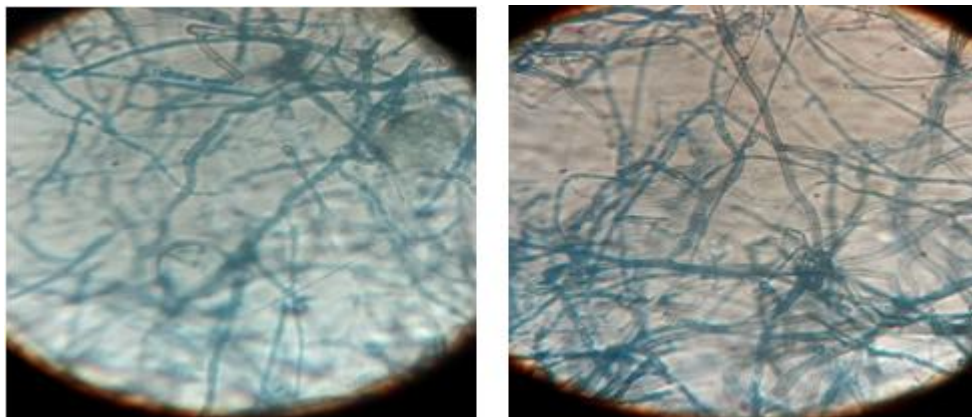


Figura 3. Identificación bajo microscopio de *Cercospora* spp.

5.2. Ritmo de crecimiento radial de *Trichoderma harzianum* en cultivos duales

El crecimiento radial de *T. harzianum* en cultivo dual con *Cercospora* spp. Mostró un patrón dinámico característico de hongos antagonistas bajo condiciones de competencia directa (Figura 4). Durante las primeras 12 h, los valores registrados (4.80-5.64 mm) evidencian una fase inicial de adaptación fisiológica del micelio, posiblemente asociada a la percepción temprana de señales químicas emitidas por el fitopatógeno. Según Harman *et al.* (2004) y Benítez *et al.* (2004), *Trichoderma* es capaz de detectar metabolitos excretados por otros hongos, desencadenando respuestas de defensa y regulación del crecimiento incluso antes del contacto físico.

Por tanto, el crecimiento reducido en esta etapa es concordante con lo descrito para escenarios de estrés biótico, donde *T. harzianum* modula temporalmente su expansión para activar rutas metabólicas relacionadas con reconocimiento del oponente y preparación para el micoparasitismo.

Entre las 24 y las 48 h ocurrió la fase de mayor aceleración del crecimiento radial, pasando de valores entre 10.83-12.50 mm a 15.09-16.98 mm. Este incremento concuerda con la fase de colonización competitiva acelerada descrita por Howell (2003), donde *T. harzianum* despliega su capacidad competitiva en la superficie del medio con la finalidad de alcanzar rodear al patógeno.

A las 72 h el crecimiento alcanzó valores entre 17.30 mm-20.24 mm, y a las 96 h fluctuó entre 17.64-21.01 mm, indicando una clara desaceleración de la expansión radial. Esta reducción es característica en la transición de una fase de crecimiento activo a una fase de actividad antagonista especializada.

De acuerdo con Harman (2006), una vez que *Trichoderma* establece contacto directo o proximidad con el patógeno, su metabolismo cambia; disminuye la energía destinada a la expansión del micelio y aumenta la inversión en secreción de quitinasas, glucanasas y proteasas, así como en mecanismos de enrollamiento y penetración, propios del micoparasitismo. Por ende,

la casi ausencia de incremento entre las 72 y 96 h coincide con lo reportado en cultivos duales contra *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. y *Sclerotinia* spp., donde la fase estacionaria refleja el inicio de la confrontación física y bioquímica.

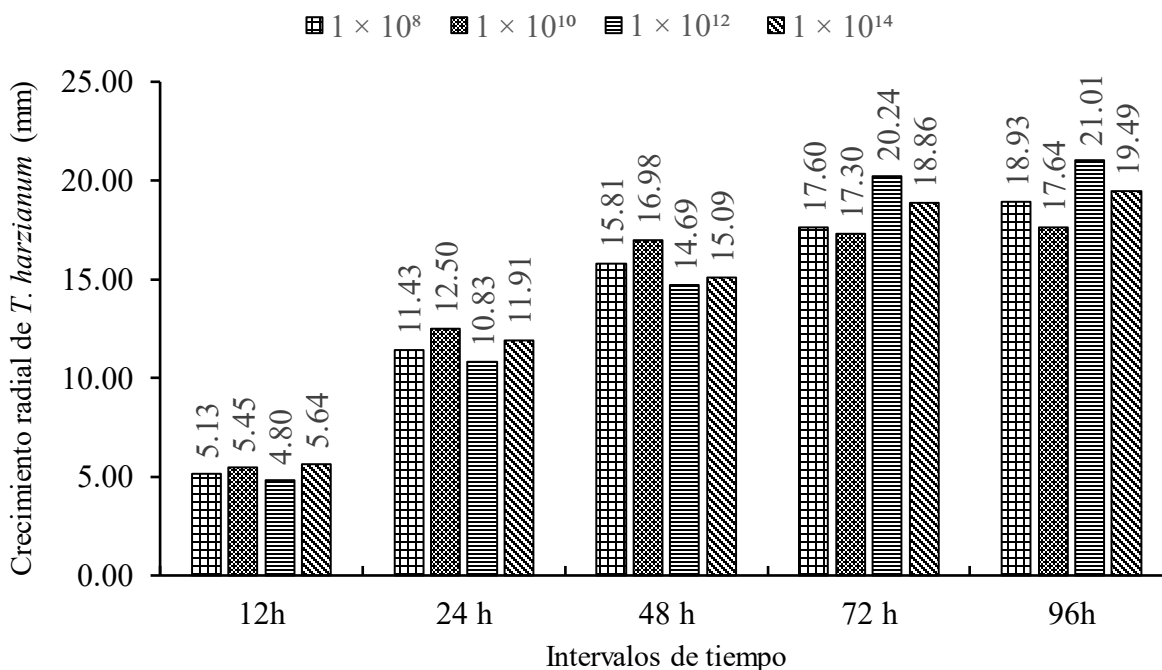


Figura 4. Crecimiento radial de *T. harzianum* en cultivo dual a través de los diferentes intervalos de tiempo evaluados

5.3. Ritmo de crecimiento radial de *Cercospora* spp en cultivos duales

Se observa el ritmo de crecimiento radial de *Cercospora* spp. bajo condiciones de antagonismo con *T. harzianum* en cultivo dual (Figura 5). Inicialmente, el hongo patógeno logra una rápida expansión, pasando de 3.14 mm a 7.50 mm entre las 12 y 24 horas. Sin embargo, este crecimiento acelerado no se mantiene, lo cual evidencia el efecto biocontrolador ejercido por *T. harzianum*.

A partir de las 24 horas, la curva muestra una marcada y progresiva desaceleración de la tasa de crecimiento, lo que indica que *T. harzianum* ha comenzado a ejercer su función inhibitoria, ya sea por competencia de nutrientes o por liberación de metabolitos antifúngicos. Benítez (2004)

La eficacia del antagonismo se sostiene por la meseta final observada en el crecimiento del patógeno, entre las 72 y 96 h, el crecimiento radial se reduce a sólo 0.76 mm. Este mínimo crecimiento finaliza con un diámetro de 12.58 mm, por tanto, el patrón de la curva es una prueba directa de que *T. harzianum* limitó exitosamente la capacidad de proliferación de *Cercospora* spp. en el medio de cultivo.

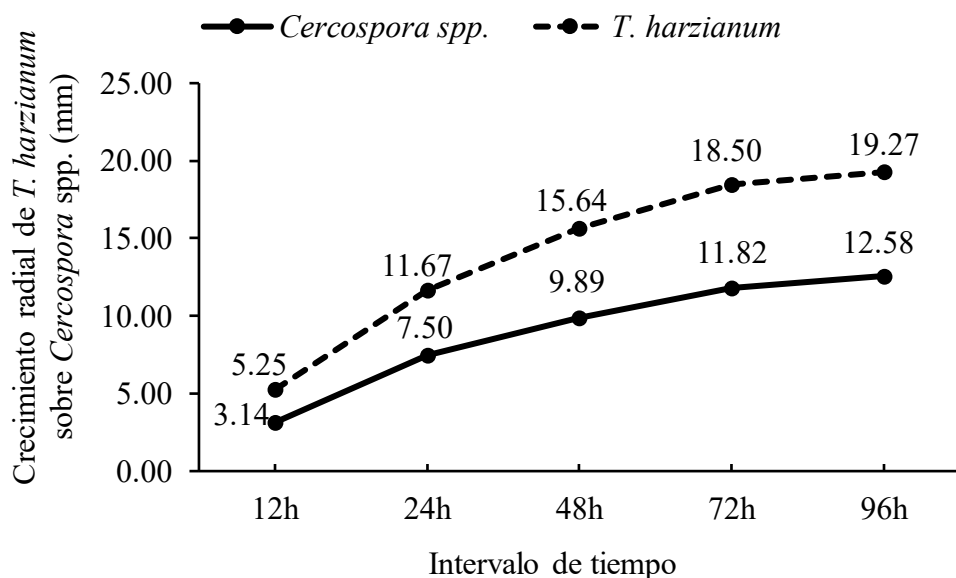


Figura 5. Crecimiento radial de *Cercospora* spp. en cultivo dual a través de los diferentes intervalos de tiempo

5.4. Crecimiento radial

El crecimiento radial correspondiente a las cuatro concentraciones de *T. harzianum* y al testigo (*Cercospora* spp.), según el análisis de varianza (ANDEVA) (Cuadro 2) presentaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.0001$), el testigo presentó la mayor media de crecimiento radial (1.34 mm), el cual se diferenció significativamente de todos los tratamientos. El tratamiento cuatro (1×10^{14}) registró una media de 1.02 mm, diferenciándose estadísticamente del testigo y de los tratamientos tres (1×10^{12}) y dos (1×10^{10}).

El tratamiento uno (1×10^8) (0.99 mm) se diferenció estadísticamente del testigo, pero no presentó diferencias significativas en comparación con las otras concentraciones. Por otra parte,

los tratamientos en concentraciones de 1×10^{12} y 1×10^{10} mostraron las menores medias (0.96 mm), no se diferenciaron estadísticamente entre sí, pero sí en comparación con el testigo y la concentración 1×10^{14} .

Cuadro 2. Descripción de las medias de crecimiento radial para cuatro concentraciones de *Trichoderma harzianum* y el testigo

Tratamiento	Crecimiento radial	Categorías (Tukey)
Testigo	1.34	a
1×10^{14}	1.02	b
1×10^8	0.99	bc
1×10^{12}	0.96	c
1×10^{10}	0.96	c

5.5. Tasa de crecimiento radial de *Trichoderma harzianum*

Se determinó la tasa de crecimiento radial de *T. harzianum* para las cuatro concentraciones evaluadas (Cuadro 3). Los valores obtenidos son de 0.18-0.22 mm h⁻¹ indicando que, pese a las diferencias en la cantidad de conidios, el hongo mantiene una estabilidad fisiológica notable, ya que la variación del crecimiento radial es mínima. Lo cual sugiere que *T. harzianum* alcanza rápidamente su fase de crecimiento activo, independientemente de la densidad de inóculo. El valor promedio de 0.20 mm h⁻¹ respalda esta estabilidad, indicando que el crecimiento no depende fuertemente de la concentración inicial utilizada en estas condiciones *in vitro*.

El ligero incremento observado en 1×10^{12} (0.22 mm h⁻¹) se puede atribuir a una mayor disponibilidad inicial de propágulos viables, lo que favorece un establecimiento más rápido en la fase temprana; sin embargo, la diferencia no es lo suficientemente marcada como para considerarse biológicamente significativa. En general el patrón confirma que *T. harzianum* muestra un crecimiento radial constante bajo condiciones controladas, lo cual coincide con su eficiencia como agente de biocontrol.

Cuadro 3. Tasa de crecimiento radial de las concentraciones de *Trichoderma harzianum*

Concentración	Crecimiento radial (mm- h)
1×10^8	0.20
1×10^{10}	0.18
1×10^{12}	0.22
1×10^{14}	0.20

La tasa de crecimiento radial promedio obtenida para *Cercospora* fue de 0.13 mm-h^{-1} lo que nos demuestra un desarrollo micelial lento en condiciones *in vitro*. Este valor es característico de especies del género, las cuales presentan un crecimiento progresivo, esto puede estar influenciado por la fisiología del hongo. Al comparar este valor con el testigo, se evidencia que *T. harzianum* influye en la dinámica de crecimiento del patógeno.

El testigo presentó que por sí solo *Cercospora* spp. tiene una tasa de crecimiento relativamente más rápida; sin embargo, bajo la presencia de *T. harzianum* se observó una reducción significativa en su capacidad de expansión radial. Esto nos indica que *T. harzianum* ejerció un efecto inhibitor sobre el patógeno, lo cual es coherente con los mecanismos de antagonismo descritos como lo son la competencia de espacio y nutrientes, micoparasitismo y producción de metabolitos antifúngicos.

Cuadro 4. Tasa de crecimiento radial de *Cercospora* spp.

<i>Cercospora</i> spp.	Crecimiento (mm- h)
1×10^8	0.13
1×10^{10}	0.11
1×10^{12}	0.14
1×10^{14}	0.14
Promedio	0.13

5.6. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial

Los porcentajes de inhibición del crecimiento radial obtenidos en el presente estudio (67.3-75.6 %) evidencian la fuerte acción antagonista ejercida por *T. harzianum* frente a *Cercospora* spp. en condiciones de cultivo dual. Estos valores concuerdan con el comportamiento descrito para *T. harzianum* en la literatura, donde la especie ha demostrado una notable capacidad para interferir con el desarrollo de hongos fitopatógenos mediante mecanismos directos e indirectos, tales como competencia por nutrientes y espacio, producción de metabolitos antifúngicos y micoparasitismo activo (Howell, 2003). La magnitud de la inhibición observada sugiere que el antagonista respondió eficientemente desde las primeras fases de interacción, limitando de forma significativa la expansión del patógeno.

El tratamiento dos (1×10^{10}) presentó el mayor porcentaje de inhibición (75.6 %), lo cual se relaciona con una expresión óptima de los mecanismos de antagonismo. Según Benítez *et al.* (2004), cantidades moderadas de inóculo permiten un equilibrio fisiológico favorable entre crecimiento micelial, exploración del sustrato y síntesis de enzimas hidrolíticas, lo que favorece la eficacia del control biológico. Asimismo, este comportamiento es consistente con lo señalado por Zeilinger y Omann (2007), quienes explican que la percepción de señales químicas emitidas por el patógeno activa rutas de señalización que regulan la expresión de genes asociados con la producción de metabolitos antifúngicos y la formación de estructuras de ataque, incrementando la capacidad micoparasítica.

Finalmente, aunque el tratamiento tres (1×10^{12}) presentó el valor más bajo de inhibición (67.3 %), todos los tratamientos mantuvieron niveles superiores al 67 %, lo cual confirma la robustez del antagonismo ejercido por *T. harzianum*. La consistencia del comportamiento entre tratamientos es congruente con estudios que demuestran que *T. harzianum* mantiene una actividad antagonista estable en amplios rangos fisiológicos, siendo la interacción metabólica y la competencia espacio-temporal factores más determinantes.

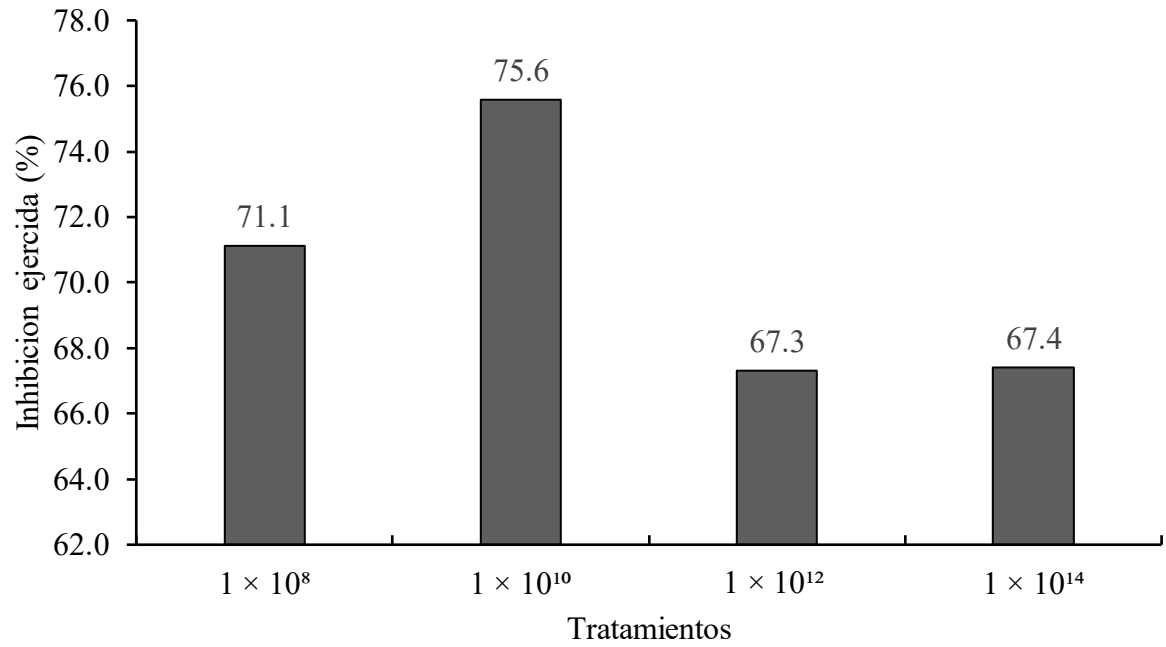


Figura 6. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de *T. harzianum* sobre *Cercospora* spp.

VI. CONCLUSIONES

Mediante la evaluación microscópica del tejido foliar con signos de *Cercospora* spp. se confirmaron estructuras típicas del género, como conidios septados.

T. harzianum mostró un crecimiento radial estable (0.18 mm-0.22 mm h) y un patrón dinámico característico de hongos antagonistas, con una fase inicial de adaptación seguida de aceleración y posterior desaceleración asociada al inicio del micoparasitismo.

El antagonista inhibió significativamente el crecimiento del patógeno (67.3 – 75.6 %), reduciendo su expansión radial desde las 24 h y limitando su desarrollo casi por completo entre 72 y 96 h. La concentración 1×10^{10} mostró la mayor eficacia, confirmando la capacidad constante de *T. harzianum* como agente de biocontrol.

VII. RECOMENDACIONES

Promover el uso de hongos antagonistas en cultivos de Nicaragua y fomentar la adopción de biocontroladores como *Trichoderma* spp., reduciendo el uso de fungicidas químicos, menor impacto ambiental, mejora de la salud del suelo y mayor sostenibilidad productiva.

Implementar el uso de *T. harzianum* para el manejo de *Cercospora* spp, considerando la concentración de 1×10^{10} .

Validar la eficacia de los tratamientos replicando el ensayo en invernadero y campo para confirmar la capacidad de *T. harzianum* para reducir la incidencia del patógeno en escenarios agrícolas reales.

Realizar identificación molecular y complementar la caracterización morfológica con técnicas basadas en PCR (ITS, TEF1- α , β -tubulina) para lograr una identificación más precisa de *Cercospora* spp. a nivel de especie.

VIII. LITERATURA CITADA

- Agrios, G. (1991). *Fitopatología, 2da ed.* (G. Noriega, Ed.)
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1999). *Illustrated genera of imperfect fungi* (4th ed.). APS Press.
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7(4), 249–260. <https://scielo.isciii.es/pdf/im/v7n4/Benitez.pdf>
- Braun, U., Crous, P.W. & Nakashima, C. Cercosporoid fungi (Mycosphaerellaceae) 3. Species on monocots (Poaceae, true grasses). *IMA Fungus* 6, 25–98 (2015). <https://doi.org/10.5598/ima fungus.2015.06.01.03>
- Chavarría, M. (2016). *Evaluación de aislados nativos de Trichoderma spp para el manejo de hongos causantes de mal de talluelo en tomate (Solanum lycopersicom L).* <https://repositorio.una.edu.ni/3496/1/tnh20ch512e.pdf>
- Contreras, K. (2021). *Identificación de los síntomas de la Mancha negra (Cercospora purpura) en cultivo de aguacate (Persea americana) y su método de control.* Universidad Técnica de Babahoyo: <https://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/9340/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000310.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cristancho, M. (2003). *Control biológico de enfermedades. Enfermedades del café en Colombia.* Cenicafé: <https://biblioteca.cenicafe.org/handle/10778/4367>
- Domínguez Romero, D., Vázquez Rivera, H., Reyes Reyes, B., Arzaluz Reyes, J., y Martínez Campos, A. R. (2013). Aislamiento y purificación del hongo ectomicorrízico *Helvella lacunosa* en diferentes medios de cultivo. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 16(1), 51-59.
- Gajera, H., Domadiya, R., Patel, S., Kapopara, M., & Golakiya, B. (2013). Molecular mechanism of *Trichoderma* as bio-control agents against phytopathogen system-a review. *Current Research in Microbiology and Biotechnology*. 1(4). https://www.researchgate.net/publication/267571641_Molecular_mechanism_of_Trichoderma_as_bio-control_agents_against_phytopathogen_system_-_a_review
- Garrido, M., & Vilela, N. (2019). Capacidad antagonica de *Trichoderma harzianum* frente a *Rhizoctonia*, *Nakatea sigmoidea* y *Sclerotium rolfsii* y su efecto en cepas nativas de *Trichoderma* aisladas de cultivos de arroz. *Scientia Agropecuaria*, 10(2), 199-206. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.05>
- Guigón-López, C., Guerrero-Prieto, V., Vargas-Albores, F., Carvajal-Millán, E., Ávila-Quezada, G. D., Bravo-Luna, L., Ruocco, M., Lanzuise, S., Woo, S., & Lorito, M. (2010). Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp., su tasa de crecimiento *in vitro* y antagonismo contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de*

Fitopatología, 28(2), 87-96.
https://www.researchgate.net/publication/236577083_Identificacion_Molecular_de_Cepas_Nativas_de_Trichoderma_spp_su_Tasa_de_Crecimiento_in_vitro_y_Antagonismo_contra_Hongos_Fitopatogenos

- Harman, G. E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96(2), 190–194. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190>
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43–56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>
- Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87(1), 4–10. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS.2003.87.1.4>
- Italiano, L. J. (2020). Relevamiento de la mancha púrpura de la semilla y del tizón foliar en soja (*Glycine max* L. Merr), causadas por *Cercospora kikuchii*, en el partido de Junín [Trabajo final de grado, Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires]. Repositorio Institucional UNNOBA. <https://repositorio.unnoba.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/23601/419/TFG%20-%20Lucio%20Italiano%20Ingenier%C3%ADa%20Agronomica.pdf?sequence=2&isAllowed=y&hl=es-US>
- Lavilla, M., Ivancovich, A., & Díaz Paleo, A. (2019, enero). Umbral de daño económico para el tizón foliar por *Cercospora* causado por *Cercospora kikuchii* en soja. Ponencia presentada en el 7° Congreso de la Soja del MERCOSUR (MERCOSOJA 2019), Rosario, Argentina. https://www.researchgate.net/publication/336967206_UMBRALECONOMICO_PARA_EL_TIZON_FOLIAR_POR_CERCOSPORA_CAUSADO_POR_CERCOSPORA_KIKUCHII_EN_SOJA
- Martínez-Padrón, H., Ososrio-Hernández, E., Estrada-Drouaillet, B., López-Santillán, J., Varela-Fuentes, S., & Torres-Castillo, J. (2017). Control Biológico de Fitopatógenos Mediante Aislados de *Trichoderma* spp. *Agroproductividad*, 10(3). https://www.researchgate.net/publication/319250943_CONTROL_BIOLOGICO_DE_FITOPATOGENOS_MEDIANTE_AISLADOS_DE_Trichoderma_spp_BIOLOGICAL_CONTROL_OF PHYTOPATHOGENS THROUGH Trichoderma spp ISOLATES
- Mejía, F., & Alvarado, R. (2016). *Evaluación in vitro de honos nativos antagonistas de Moniliophthora roreri (Cif. & Par., et al.) en el cultivo de cacao (Theobroma cacao L.)* [Tesis de ingeniería, Universidad Nacional Agraria] Repositorio Institucional. <https://repositorio.una.edu.ni/3341/1/tnh20m516.pdf>

- Moreira-Morrillo , A., Vélez-Zambrano, J., Intra, S., & Garcés-Fiallos, F. (2023). Enfermedades que afectan el cultivo de café: Elucidando el ciclo de vida de Roya, Mal de Hilachas y Cercosporiosis. *Scientia Agropecuaria*, 14(3). <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/5494/5628>
- Muñoz, V., Cisterna , V., & France, A. (2020). *Aislamiento de microorganismos fitopatógenos*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA): <https://biblioteca.inia.cl/server/api/core/bitstreams/bab26591-2dc1-493d-b285-9b5f46f528e1/content>
- Paredes, M., Yáñez, J., & Marcial-Coba, M. (2021). Identificación de Cercospora spp. como agente causal de mancha foliar en cultivos de uvilla (*Physalis peruviana* L.) en la Sierra norte del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 42. https://www.researchgate.net/publication/357850591_Identificacion_de_Cercospora_spp_como_agente_causal_de_mancha_foliar_en_cultivos_de_uvilla_Physalis_peruviana_L_en_la_Sierra_norte_del_Ecuador
- Pérez, E., & Sandoval , I. (2017). *Análisis del impacto de la dependencia externa en el sector agropecuario nicaraguense* . Banco Central de Nicaragua : https://www.bcn.gob.ni/system/files_force/documentos/DT-54_Analisi_dependencia_externa_sector_agropecuario_nicaraguense.pdf?download=1
- Pilozo, W., Indacochea, B., Castro , A., Vera , M., & Ortega , J. (2022). Principales enfermedades causantes de la pérdida de rendimientos de los cultivos de café arábigo (*Coffea arabica* L.) en la zona sur de Manabí, Ecuador: Principales enfermedades de Café Arábigo (*Coffea arabica* L.). *UNESUM- Ciencias. Revista científica Multidisciplinaria*, 6(2). <https://revistas.unesum.edu.ec/index.php/unesumciencias/article/view/632>
- Romero-Arenas, O., Huerta, M., Damián, M., Domínguez, F., & Arellano , D. (2009). Características de *Trichoderma harzianum*, como agente lomitante en el cultivo de hongos comestibles. *Revista Colombiana de Biotecnología*. <https://www.redalyc.org/pdf/776/77613172015.pdf>
- Suárez Meza, C., Fernández, R., Valero, N., Gámez, R., & Páez, A. (2008). Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez de la maracuyá. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 10(2), 35-43. <https://www.redalyc.org/pdf/776/77610205.pdf>
- Universidad Nacional Agraria. (2021). Producción y uso de hongos entomopatógenos (C. A. Monzón, Ed.). Fundación para el Desarrollo Tecnológico Agropecuario y Forestal de Nicaragua; Programa CATIE/MIP-AF. <https://repositorio.catie.ac.cr/handle/11554/10698>

- Viera-Arroyo, W., Tello-Torres, C., Martínez-Salinas, A., Navia-Santillán, D., Medina-Rivera, L., Delgado-Parra, A., . . . Jackson, T. (2020). *Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador*. Selva Andina. 8(2): <https://portal.amelica.org/ameli/journal/71/712031011/html/>
- Zeilinger, S., & Omann, M. (2007). Trichoderma biocontrol: Signal transduction pathways involved in host sensing and mycoparasitism. *Gene Regulation and Systems Biology*, 1, 227–234. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2759141/>

IX. ANEXOS

Anexo 1. Formato de instrumento utilizado para la recolección de datos

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Toma: _____

Fecha: _____

No. Plato		Crecimiento Radial (mm)							
		T1		T2		T3		T4	
		C. s	T. h	C. s	T. h	C. s	T. h	C. s	T. h
1	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
2	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
3	R1								
	R2								
	R3								
	R4								

4	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
5	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
6	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
7	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
8	R1								
	R2								

	R3								
	R4								
9	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
10	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
11	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
12	R1								
	R2								
	R3								
	R4								

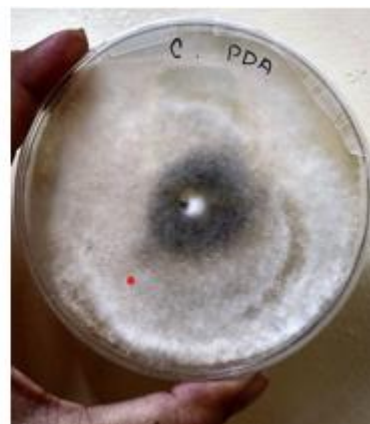
13	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
14	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
15	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
16	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
17	R1								
	R2								

	R3								
	R4								
18	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
19	R1								
	R2								
	R3								
	R4								
20	R1								
	R2								
	R3								
	R4								

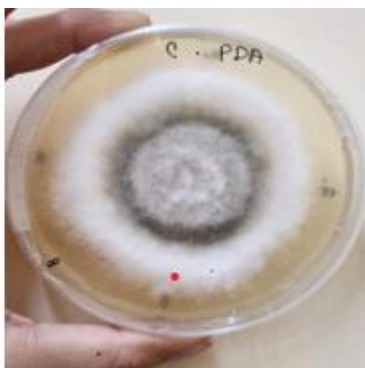
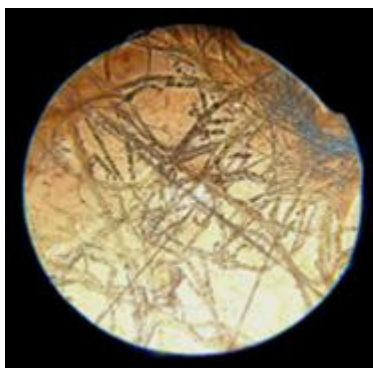
Anexo 2. Procedimiento de recolección de muestras de tejido vegetal afectado por *Cercospora* spp.



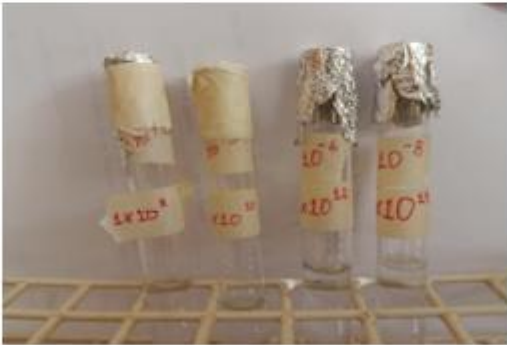
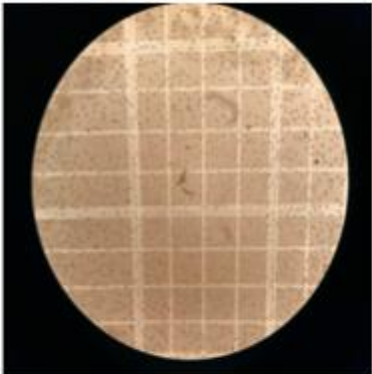
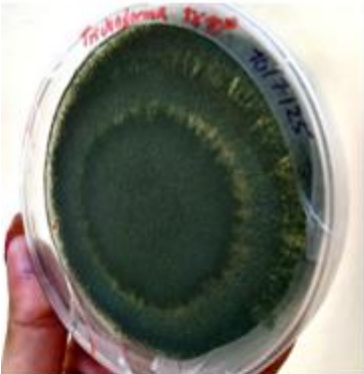
Anexo 3. Aislamiento y purificación de *Cercospora* spp.



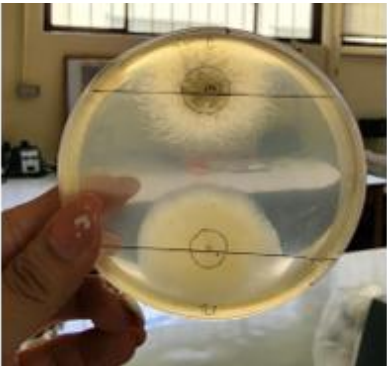
Anexo 4. Identificación de *Cercospora* spp.



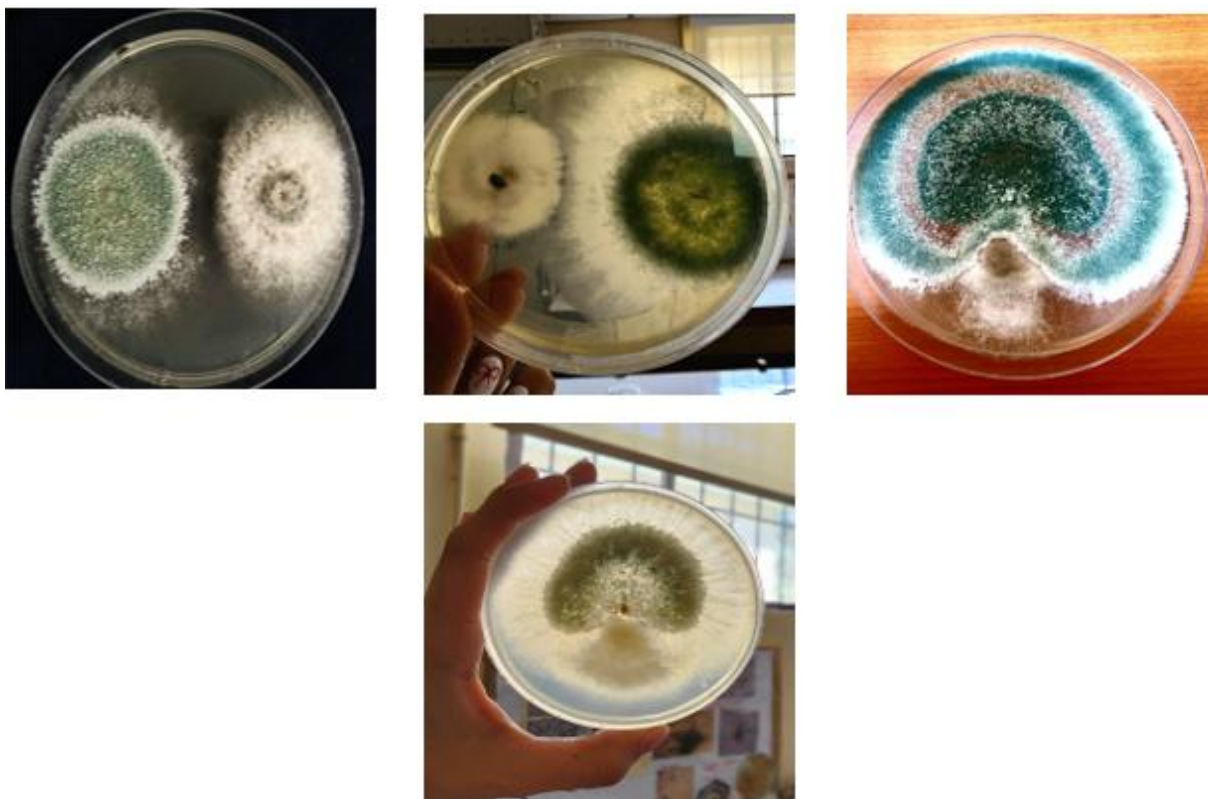
Anexo 5. Preparación de las concentraciones de *T. harzianum*



Anexo 6. Establecimiento del ensayo



Anexo 7. Antagonismo de *T. harzianum* sobre *Cercospora* spp.



Anexo 8. Análisis estadístico

Nueva tabla: 11/19/2025 - 10:43:44 AM - [Versión: 4/30/2020]

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LOG10 Crecimiento (mm)	900	0.79	0.79	14.07

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	69.87	25	2.79	134.89	<0.0001
Hora	46.78	4	11.69	564.43	<0.0001
Tratamiento	12.09	4	3.02	145.84	<0.0001
Hongo	10.05	1	10.05	484.93	<0.0001
Hora*Tratamiento	0.96	16	0.06	2.89	0.0001
Error	18.11	874	0.02		
Total	87.98	899			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.04146

Error: 0.0207 gl: 874

Hora	Medias	n	E.E.
96 h	1.22	180	0.01 A

72 h	1.19	180	0.01	A
48 h	1.12	180	0.01	B
24 h	0.99	180	0.01	C
12 h	0.60	180	0.01	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.04309

Error: 0.0207 gl: 874

Tratamiento	Medias	n	E.E.	
5	1.34	100	0.01	A
4	1.02	200	0.01	B
1	0.99	200	0.01	B C
3	0.96	200	0.01	C
2	0.96	200	0.01	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.12934

Error: 0.0207 gl: 874

Hora	Tratamiento	Medias	n	E.E.	
96 h	5	1.63	20	0.03	A
72 h	5	1.54	20	0.03	A B
48 h	5	1.43	20	0.03	B
24 h	5	1.27	20	0.03	C
96 h	3	1.20	40	0.02	C D
96 h	4	1.20	40	0.02	C D
72 h	4	1.18	40	0.02	C D
72 h	3	1.17	40	0.02	C D
96 h	1	1.16	40	0.02	C D E
72 h	1	1.14	40	0.02	C D E
96 h	2	1.11	40	0.02	D E F
48 h	1	1.10	40	0.02	D E F
72 h	2	1.10	40	0.02	D E F
48 h	2	1.09	40	0.02	D E F G
48 h	4	1.09	40	0.02	D E F G
48 h	3	1.04	40	0.02	E F G H
24 h	4	0.98	40	0.02	F G H I
24 h	1	0.96	40	0.02	G H I J
24 h	2	0.96	40	0.02	H I J
24 h	3	0.90	40	0.02	I J
12 h	5	0.85	20	0.03	J
12 h	4	0.64	40	0.02	K
12 h	1	0.59	40	0.02	K L
12 h	2	0.54	40	0.02	K L
12 h	3	0.49	40	0.02	L

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)