



Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

DIRECCIÓN DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

Trabajo de Tesis

**Antagonismos *in vitro* de aislados endofíticos
de *Trichoderma* spp, en contra *Fusarium
oxysporum* f. sp. *Cubense*, causante del mal
de Panamá en el cultivo de guineo 2025**

Autores

Br. Gerardo Santiago Jiménez Borda
Br. Juan Pablo López López

Asesores

MSc. Markelyn José Rodríguez Zamora
PhD. Alfonso Martínez Guerrero
MSc. Jorge Antonio Gómez Martínez

Presentado a la consideración del honorable comité
evaluador como requisito final para optar al grado de
Ingeniero Agrónomo

Managua, Nicaragua
Marzo, 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 Agrónomo

Miembros del Comité Evaluador

MSc. Andrea Zamora Jarquin
Presidente

MSc. Freddy Rivera Umanzor
Secretario

Rosario Chavarria Sánchez
Vocal

Lugar y fecha: Managua, Nicaragua, 6/Febrero/2025

DEDICATORIA

Primeramente, a Dios por darme la fuerza de culminar con éxito esta etapa de mi vida, a la virgen María por cuidarme siempre y a mis santos de devoción, a mis abuelos (Q.E.P.D) Vilma Escobar, Manuel de Jesús, Socorro Borda Y a Santiago Estrada que aún lo tengo físicamente, porque fuero pilares importantes en mi vida, a mis padres Gerardo Jimenez y Gloria Borda que siempre estuvieron para mi apoyándome en todo momento desde un inicio, porque tuvieron la confianza de que pasaría esto. Y que hoy celebro con ellos la alegría de haber terminado una de tantas etapas.

Br. Gerardo Santiago Jimenez Borda

Primeramente, gracias a nuestro padre celestial por darme la dicha de alcanzar y lograr una de mis metas como es el haber culminado mis estudios, de igual manera por brindarme la sabiduría necesaria para convertirme en un profesional más para la sociedad. A mis abuelos Juan José Vázquez Martínez y María Leoncia López Namoyure, por todo el apoyo que me brindaron, quienes gracias a sus consejos me guiaron por el camino correcto, en especial a mi abuelo por la sabiduría y la experiencia con la cual me crío, no solo es un triunfo para mí, sino, también para ellos, quienes se enorgullecen de que sus sacrificio y desvelos valieron la pena para verme triunfar con éxito mi carrera profesional.

Gracias a mis padres José Manuel López y Silvia de los Santos López Vivas por siempre brindarme su apoyo incondicional, por sus consejos, sus alientos de poder lograr cada meta propuesta y siempre estar orgullosos de mí, a mis hermanos por haberme apoyado durante todo el proceso de mi formación académica, a mis compañeros de quienes aprendí nuevos conocimientos en el transcurso de los 5 años de mi carrera. Quiero dedicar de manera especial a mi sobrino Jonathan Guadalupe García López quien es un testimonio de la grandeza y el amor que Dios nos regala día a día, a quien veo cómo un ejemplo para seguir luchando y continuando con los retos que se presentan en la vida.

Br. Juan Pablo López López

AGRADECIMIENTO

Principalmente a mis padres por su apoyo y su gran esfuerzo para que yo culminara con éxito esta etapa de mi vida. A mis compañeros de clase por cada conocimiento brindado durante los 5 años de la carrera.

A mis docentes, asesores MSc. Markelyn José Rodríguez Zamora, PhD. Alfonso Martínez Guerrero, MSc. Jorge Antonio Gómez Martínez, por su tiempo dedicado, sus enseñanzas y por la confianza que tuvieron en nosotros sus alumnos tesisistas.

Br. Gerardo Santiago Jimenez Borda

Agradezco a Dios padre por ofrecerme el mejor regalo que es la vida y la salud, por permitirme realizar de forma exitosa mi trabajo de tesis, por brindarnos paciencia y la sabiduría necesaria para culminar nuestros estudios académicos. De manera muy especial agradezco a mis abuelos, padres y hermanos por todo su amor y su apoyo, quienes me brindaron palabras de aliento en momentos difíciles de mi vida

A nuestros tutores MSc. Markelyn José Rodríguez Zamora, PhD. Alfonso Martínez Guerrero, MSc. Jorge Antonio Gómez Martínez, quienes nos colaboraron y asesoraron para que se lograra la culminación de nuestro estudio de manera exitosa.

Br. Juan Pablo López López

ÍNDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
ÍNDICE DE CONTENIDO	iii
ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general	3
2.1. Objetivos específicos	3
III. MARCO DE REFERENCIA	4
3.1. Clasificación taxonómica de <i>F. oxysporum</i> y ciclo biológico	4
3.2. Origen de la enfermedad	6
3.3. Importancia económica del mal de panamá	6
3.4. Mecanismo de acción	7
3.5. Características de la enfermedad	7
3.6. Razas de <i>F. oxysporum</i>	7
3.7. Control biológico para <i>F. oxysporum</i> spp	8
3.8. Control fúngico <i>F. oxysporum</i> spp	8
3.9. Control cultural	9
3.10. Control químico para <i>fusarium</i> en plátano o banano	9
3.11. Microorganismos endófitos	9
3.12. <i>Trichoderma</i> spp	10
3.13. Modo de acción de <i>Trichoderma</i> spp	10
3.14. Modo de aplicación <i>Trichoderma</i> spp	11
3.15. Especies de <i>Trichoderma</i>	11
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	12

4.1.	Ubicación del estudio	12
4.2.	Diseño metodológico	12
4.3.	Diseño experimental	12
4.4.	Descripción de los tratamientos	13
4.5.	Aislamientos endofíticos de <i>Trichoderma</i> spp	13
4.6.	Aislados <i>F. oxysporum</i> spp	14
4.7.	Ensayo del ritmo de crecimiento radial de aislados endofíticos del hongo <i>Trichoderma</i> spp	15
4.8.	Prueba de antibiosis por el método cultivo dual	16
4.9.	Prueba de antibiosis por el método papel celofán	17
4.10.	Datos o variables evaluados	18
4.11.	Análisis de datos	18
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
5.1.	Crecimiento radial de <i>Fusarium</i>	19
5.2.	Crecimiento Radial <i>Trichoderma</i> spp en mm/h	21
5.3.	Prueba de antibiosis por el método cultivo dual	22
VI.	CONCLUSIONES	26
VII.	RECOMENDACIONES	27
VIII.	LITERATURA CITADA	28
IX.	ANEXOS	33

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1. Tratamientos evaluados en el bioensayo	13

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1.	Estructura reproductiva microscópica de <i>Trichoderma</i> spp. Conidióforo (a), fiálides (b), conidias (c) visto en microscopio de 40x y placa de confrontación con <i>Trichoderma</i> contra <i>Fusarium</i> .	14
2.	Obtención de los aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> spp	15
3.	Metodología descrita por (French y Hebert, 1980) para medir crecimiento radial de aislados de <i>Trichoderma</i> spp y aislados del patógeno.	16
4.	Crecimiento radial de aislados de <i>Fusarium</i> en mm/h	19
5.	Características fenotípicas (colores) de los aislados de <i>Fusarium</i>	20
6.	Crecimiento de los tratamientos, <i>trichoderma</i> en mm/h	21
7.	Características fenotípicas de aislados evaluados de <i>trichoderma</i> con anillos concéntricos	22
8.	Prueba de inhibición micelial del patógeno y antagonista	2324
9.	Cultivo dual de <i>trichoderma</i> contra <i>Fusarium</i>	24
10.	Prueba de inhibición de metabolitos	25

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO		PÁGINA
1.	Andeva general <i>Fusarium oxysporum</i>	33
2.	Medias de crecimiento radial de aislados de <i>Fusarium oxysporum</i>	33
3.	Andeva general <i>Trichoderma</i> spp	33
4.	Medias de crecimiento radial de <i>Trichoderma</i>	33
5.	Andeva general prueba dual <i>Trichoderma</i> contra <i>Fusarium</i>	34
6.	Comparación de medias por Tukey para prueba dual <i>Trichoderma</i> spp contra <i>Fusarium</i> spp	34
7.	Andeva general prueba celofán	34
8.	Comparación de medias por Tukey en prueba celofán	34
9.	Siembra y clasificación de placa Petri	35
10.	Toma de datos y prueba de membrana celofán	35

RESUMEN

Fusarium oxysporum, es un patógeno ubicuo transmitido por el suelo que causa marchitez vascular en una amplia gama de plantas, incluyendo cultivos de importancia económica como el tomate, los cereales y el banano. Los hongos endofíticos del género *Trichoderma* spp. se presentan como una alternativa viable para el manejo de *Fusarium oxysporum*. El objetivo del presente estudio fue evaluar el uso de aislados de *Trichoderma* spp. para reducir el uso de fungicidas sintéticos en el manejo de *F. oxysporum* f. sp. cubense, causante del mal de Panamá en el cultivo de guineo (*Musa* spp.), proporcionando una alternativa de manejo ante la amenaza de *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense raza tropical 4. Este estudio pretende ser una base para la toma de decisiones y la implementación de programas de manejo. La investigación se llevó a cabo entre enero y noviembre de 2024, utilizando un diseño completamente al azar (DCA) bajo condiciones controladas, con 15 tratamientos y cinco repeticiones. Cada unidad experimental consistió en una placa de Petri que contenía 20 ml de medio de cultivo de papa dextrosa agar (PDA) acidificado con ácido láctico al 50%. Las variables evaluadas fueron: crecimiento radial de *F. oxysporum* (CRP) en la placa control, crecimiento radial del antagonista *Trichoderma* (CRA) y porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *F. oxysporum* mediante el método de membrana de celofán. Las variables se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA). El aislado Th3S inhibió el crecimiento de *Fusarium oxysporum* en un 58% mediante el método de cultivo dual. El aislado de *Trichoderma* spp. codificado como ThJ inhibió de forma significativa el crecimiento de *Fusarium oxysporum* en los ensayos de inhibición por el método de la membrana de celofán.

Palabras clave: *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma*, mal de Panamá, crecimiento radial

ABSTRACT

Fusarium oxysporum is a ubiquitous soil-borne pathogen that causes vascular wilt in a wide range of plants, including economically important crops such as tomatoes, cereals, and bananas. Endophytic fungi of the genus *Trichoderma* spp. present a viable alternative for the management of *Fusarium oxysporum*. The objective of this study was to evaluate the use of *Trichoderma* spp. isolates to reduce the use of synthetic fungicides in the management of *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, the causal agent of Panama disease in banana (*Musa* spp.), providing a management alternative against the threat of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4. This study aims to serve as a basis for decision-making and the implementation of management programs. The research was conducted from January to November 2024, using a completely randomized design (CRD) under controlled conditions, with 15 treatments and five replications. Each experimental unit consisted of a Petri dish containing 20 ml of potato dextrose agar (PDA) medium acidified with 50% lactic acid. The variables evaluated were radial growth of *F. oxysporum* (CRP) in the control plate, radial growth of the antagonist *Trichoderma* (CRA), and percentage of inhibition of radial growth (PICR) of *F. oxysporum* using the cellophane membrane method. The variables were subjected to analysis of variance (ANOVA). The isolate Th3S inhibited the growth of *Fusarium oxysporum* by 58% using the dual culture method. The *Trichoderma* spp. isolate coded as ThJ significantly inhibited the growth of *Fusarium oxysporum* in inhibition assays using the cellophane membrane method.

Key words: *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma*, Panama disease, radial growth.

I. INTRODUCCIÓN

Según el Ministerio Agropecuario (MAG), la producción de plátano genera alrededor de 59,523 unidades por hectárea, mostrando un aumento del cinco por ciento con respecto al año 2021. En Nicaragua, se destinan un total de 27,659 ha al cultivo de este fruto, siendo el departamento de Rivas la principal zona productora, con aproximadamente 8,467 ha dedicadas a este fin. Además de Rivas, otras áreas donde se ha establecido el cultivo de plátano incluyen Granada, Tisma, León y Chinandega. Ministerio Agropecuario [MAG], s.f.).

Entre las principales enfermedades asociadas al cultivo del plátano están: La sigatoka negra, causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis*, el moko bacteriano, causado por *Ralstonia solanacearum* y el Mal de Panamá causado por *Fusarium oxysporum*. (BASF, 2023)

La enfermedad del Mal de Panamá manifiesta un color amarillento en el follaje adulto afectando mayormente desde la parte de los bordes hacia las venas centrales de la hoja, cuando se encuentran afectadas se curvan por la parte de la base permaneciendo apoyada de la planta hasta que se secan y mueren Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura [IICA], 2015).

Las cepas tropicales de *F. oxysporum* están clasificadas comúnmente en 4 razas, conforme a los cultivos que infectan; las musáceas son susceptibles a ser infectadas por la raza tropical 1 y 2 (RT1, RT2); otras razas como la RT3 afecta principalmente algunas especies de heliconias. La raza de *F. oxysporum* RT1 es una de las enfermedades más destructivas en los cultivos de bananos y plátanos a nivel mundial y se caracteriza por una marchitez en los cultivos de plátano y banano.

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2020) existe un interés regional para evitar el ingreso o introducción de la cepa R4T en los países regionales como: Honduras, Panamá, El Salvador, México, República Dominicana, Costa Rica, Nicaragua, Guatemala, Ecuador y Belice han realizado un esfuerzo en realizar simulacros de actuación.

La actividad biocontroladora de hongos y bacterias frente a varios fitopatógenos ha tenido aceptación a escala global. Existen un sinnúmero de organismos microscópicos benéficos que tienen la capacidad de reducir la incidencia del mal de panamá. En los mecanismos que poseen estos organismos incluyen antibiosis, inducción de resistencias a las plantas, competencia por nutrientes y espacio (Smith y Mesa, s.f.).

Estudios con el uso de *trichoderma* evidencian la capacidad antagónica frente a *F. oxysporum* RT1 en vitroplantas de banano (Caballero et al. 2013). Rodríguez et al. (2021) afirma que cepas nativas de *trichoderma* spp demostraron potencial antagónico ante los daños que ocasionados por *F. Oxysporum.*, del mismo modo Guédez et al. (2012), describe que los principales modos de acción que posee el fitopatógeno *T. hazarium*, se basan en la competencia por nutrientes, espacio y parasitismo; esto debido al rápido crecimiento que posee, de manera que supera rápidamente el crecimiento de *R. solani*, *S. rolfsii* y *F. oxysporum*, logrando reducir su crecimiento e inhibición hasta en un 50%.

Unas de la alternativa sustentable para el manejo del mal Panamá es el estudio de cepas de *Trichoderma* spp con efectos positivos en la inhibición y antagonismo, así como productoras de metabolitos secundarios. Este estudio tiene como objetivo evaluar agentes microbianos para el manejo mal de panamá causado por *F. oxysporum* como alternativa sustentable en programas de manejo integrado de plagas.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar aislados de *Trichoderma* spp. para reducir la dependencia de fungicidas sintéticos en el manejo de *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense causante del Mal de Panamá en el cultivo de guineo (*Musa* spp.). Como una alternativa de manejo ante la amenaza de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*.

2.1. Objetivos específicos

- Determinar el efecto antagónico de los aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp., sobre *F. oxysporum* en condiciones in vitro.
- Evaluar el efecto directo de los metabolitos secundarios producidos por aislados de *Trichoderma* sp sobre los aislados de *F. oxysporum*.

III. MARCO DE REFERENCIA

3.1. Clasificación taxonómica de *F. oxysporum* y ciclo biológico

El género *Fusarium* presenta una distribución cosmopolita y es endémico de zonas maiceras de todo el mundo. (Watt, 2015)

Nombre científico: *Fusarium* spp.

Clasificación taxonómica

- Phylum: *Ascomycota*
- Clase: *Sordariomycetes*
- Orden: *Hypocreales*
- Familia: *Nectriaceae*
- Género: *Fusarium*
- Especie: *Fusarium* spp.
- *Fusarium equiseti*
- *Fusarium oxysporum*
- *Fusarium proliferatum*
- *Fusarium reticulatum*
- *Fusarium solani*
- *Fusarium subglutinans*

Las especies de *F. oxysporum* producen esporas asexuales, y su ciclo de vida puede variar según la especie. En general, *F. oxysporum* tiene la capacidad de invernar por varios años, sobreviviendo en residuos vegetales infectados o en el suelo, lo que le permite permanecer indefinidamente en condiciones favorables de humedad y temperatura. El hongo se reproduce por clamidosporas (células del micelio de paredes gruesas) o esporas, las cuales se pueden dispersar fácilmente con ayuda del viento o del agua, hasta llegar a cultivos sanos. (Belchim, 2023).

De acuerdo con Mejía *et al.*, (2016), los fitopatógenos como *Fusarium* spp., son los principales responsables del desfallecimiento vegetal de las plantas al igual que pudrición de la raíz, clorosis y defoliación. No obstante, para controlar o prevenir estos patógenos se recurre constantemente al uso de fungicidas organosintéticos, contaminando el ambiente, los suelos agrícolas y afectando la salud humana, esta especie crea una resistencia a los fungicidas utilizados para su control, reduciendo de esta manera su efectividad, lo que conlleva a que el productor utilice una dosis más alta del producto.

3.2. Origen de la enfermedad

La enfermedad conocida como Mal de Panamá posee una acción fúngica letal. Fue la primera en atacar los cultivares de banano, habitando en los suelos, esta enfermedad tiende a atacar con mayor frecuencia a la familia de las musáceas, propagándose a nivel global durante el transcurso de la primera mitad del siglo XIX (Rodríguez, s.f.)

3.3. Importancia económica del mal de panamá

El Mal de Panamá es una enfermedad de importancia económica en el sector bananero a nivel mundial por el impacto positivo que ha generado en los mercados de exportación de banano, y en la seguridad alimentaria. Las pérdidas ocasionadas por la enfermedad pueden ocasionar daños de hasta el 100% de las plantaciones (Maymon, 2020).

La industria productora de bananos y plátanos se ve amenazada por el mal de panamá por causa de los devastadores daños que ocasiona sobre la variedad Cavendish. Actualmente, la variedad Cavendish es la responsable de abastecer el mercado global siendo América Latina la zona con mayor exportación, cultivando el 28% de la producción mundial. Se destacan 7 países con mayor exportación, Ecuador es quien más por su alta producción, seguido de Costa Rica y Colombia (Martínez y Barrantes, 2022).

En el año 2018 el país de Costa Rica indico por medio del ministerio de agricultura que, en países como Malasia e Indonesia hubo pérdidas estimadas de 75 millones de dólares al año con una representación estimada de 9 millones de plantas destruidas por la raza 4 (Foc R4T) en un periodo de 5 años, no obstante, en el distrito de Lampung en la isla de Sumatra, las pérdidas por rendimientos de pequeños productores se estipularon de 1 a 9 millones de dólares en medio de los años de 1993 y 2002 (Rodríguez *et al.*, 2018).

En el sudeste asiático las pérdidas de plantas se ocasionaron en diferentes sistemas de producción con una estimación de más de 8 millones en sistemas tradicionales, 7 millones en la variedad de banano Cavendish con enfoque comercial, la producción de plátanos y bananos tuvo pérdidas anuales de 75 millones de dólares (N.M.H y A.B.T.R., 2020).

3.4. Mecanismo de acción

Según Martínez et al., (2014), las cepas de *Fusarium* responsables de causar la marchitez exhiben un patrón de infección similar; penetra inicialmente por la raíz de forma asintomática; posteriormente, coloniza tejido vascular que a su vez coloniza el tallo de las plantas desencadenando un marchitamiento generalizado de las partes superiores. Sin embargo, en cultivares resistentes o susceptibles la colonización se restringe, debido a la oclusión por los conductos de geles, acumulaciones de calosa y tilosas.

En los cultivares resistentes, la colonización se restringe debido a la oclusión por conductos de geles, acumulación de calosas y tilosas. En Centroamérica, en el cultivar susceptible del banano Gros Michael, los flavonoides del tipo de las catequinas y sus productos de oxidación inactivan las enzimas, confinando la distribución secundaria a los puntos de infección inicial.

3.5. Características de la enfermedad

Debido a que se trata de una enfermedad vascular el síntoma característico es el color amarillento, encorvamiento y secado unilateral de las hojas y de la planta. Otra característica que produce este fitopatógeno es el marchitamiento en los peciolos provocando un crecimiento retardado, pudrición radicular y luego visualizándose en la parte basal del tallo. al realizarse un corte transversal un anillo con coloración café y rojiza (Hernández *et al.*, 2019).

Considera que además de estos daños, poseen la capacidad de producir metabolitos secundarios como las micotoxinas, quienes se encargan de contaminar los alimentos de los animales como la de los humanos, la mayor parte de las cepas de *Fusarium* generan diversos efectos de naturaleza proteica la cual beneficia al patógeno, de manera que puede anular las defensas de las plantas, logrando su penetración.

3.6. Razas de *F. oxysporum*

Como afirma Ferrucho, (2020), la enfermedad del Mal de Panamá ocasionada por *F. oxysporum* es una de las más destructivas para los cultivos de plátano y banano en el mundo. Existen 4 razas

del hongo, clasificadas así según las variedades de banano o plátano que afectan: la raza 1 afecta muchos cultivares de banano, uno de ellos fue la variedad “Gros Michel”, siendo sustituida en Costa Rica durante la década de 1950, por el cultivar “Cavendish”, que poseía características resistentes. La raza 2, tiene mayores afectaciones en plátano, especialmente a los cultivares de fruto “cuadrado”. La raza 3 afecta a heliconias (especies tropicales), plantas de carácter ornamental y la raza 4, afecta todos los cultivares de banano, aún no se han desarrollado variedades resistentes que ayuden a amortiguar su impacto. La raza 4 se subdivide en: raza 4 subtropical (R4ST) y raza 4 tropical (R4T), dependiendo de las condiciones climáticas en las que se encuentre. Su llegada a Colombia fue confirmada en 2019. (Montero, 2020).

3.7. Control biológico para *F. oxysporum* spp

Como afirma Hernández et al., (2021). Las bacterias del género *Streptomyces* poseen características antagónicas gracias a la producción de metabolitos secundarios con acción fúngica, junto con enzimas extracelulares del género de quitinasas y pectinasas.

Blanco, (s.f.) expresa que el uso de hongos endofíticos biocontroladores han sido analizados en numerosas investigaciones con distintos cultivos, obteniéndose como resultado que *T. harzianum* disminuyó la frecuencia de *F. oxysporum* spp.

La investigación consistió en seleccionar aislamientos endofíticos de *T. spp*, como biocontrol para *F. oxysporum* f. spp. cúbense raza 1. Con ayuda de la técnica de cocultivo, en donde se realizaron veinte aislados de *T. spp*; consiguiendo como resultado, un 53.46% de la inhibición del crecimiento radial de FOC (Hernández et al., 2013).

3.8. Control fúngico *F. oxysporum* spp

Los fungicidas extraídos por medio de los extractos de ciertas plantas medicinales, como pimienta común (*Piper betle* L.) y neem (*Azadirachta indica* A. Juss.), tienen actividad antifúngica sobre *F. oxysporum* f. sp. cúbense, al igual que el aceite de clavos de olor (*Syzygium aromaticum*), el uso de canela (*Cinnamomum verum*), de hojas de cebolla y ajo (*Allium cepa* L.

x *Allium sativum* L.), poseen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial y germinación de conidios, incluyendo a la raza 4. Zapata y Castaño, (2019).

3.9. Control cultural

Se eliminan las plantas que presentan los síntomas del Mal de Panamá, fumigando en el suelo, utilizando nitrógeno nítrico, ya que el nítrico posee la capacidad de inhibir el crecimiento del hongo, los tratamientos solares del suelo por un largo periodo son otra opción viable, al igual que el establecimiento de cebollín o maíz, quienes ayudan a disminuir los propágulos de la enfermedad (Florencio, 2015)

3.10. Control químico para *Fusarium* en plátano o banano

Para la prevención o manejo de este fitopatógeno existen diferentes tipos de desinfectantes. A continuación, se describen los diferentes desinfectantes utilizados: elementos oxidantes como el NaOCl, H₂O₂ y O₃ inactivan al fitopatógeno, por medio de la ruptura de los ácidos nucleicos; como los alcoholes y las sales cuaternarias de amonio causan desnaturalización de proteínas y ruptura de las membranas celulares; el formaldehído mata los macro conidios del hongo. Zapata y Ramírez (2017).

3.11. Microorganismos endófitos

El significado de endófito hace referencia a “dentro de la planta” (endon: dentro, phyton: planta). La terminología endófito hace referencia a cualquier organismo capaz de colonizar el interior de los tejidos de las plantas. No obstante, este término se vio restringido únicamente a los microorganismos que no provocan daño aparente a la planta hospedera, tales como: bacterias y hongos. Actualmente, el término hace referencias no solo a bacterias y hongos, sino, también a insectos y algas, siendo los hongos los microorganismos más estudiados y aislados que mayor ocurrencia tienen como endófitos Sánchez et al, 2013).

3.12. *Trichoderma spp*

Melchor. D. J et al. (2019) Manifiestan que *Trichoderma* es un hongo cosmopolita cuya influencia se basa en su capacidad para adaptarse y producir metabolitos, como enzimas, fitohormonas, compuestos volátiles, entre otros. *T. spp* tiene diversas ventajas como agente de control biológico, posee un rápido crecimiento y desarrollo.

Hernán et al. (2015) señalan, que *T. spp* tiene la capacidad de generar una gran cantidad de enzimas, inducidas por la presencia del hongo fitopatógeno, que se desarrollan en una variedad extensa de sustratos, representando una ventaja para su producción masiva y uso en la agricultura.

La mayoría de las colonias de *Trichoderma* son de color blanco en su inicio y se tornan de un color verde oscuro o amarillento, con esporulación densa. El micelio es fino, sus conidióforos son ramificados, representándose como penachos compactados con un sistema de ramas irregulares de manera piramidal, formadas por las fiálides, donde se da la formación de las esporas asexuales o conidios. El hongo tiene la capacidad de producir estructuras resistentes denominadas clamidosporas, permitiéndole sobrevivir y perdurar a través del tiempo bajo condiciones adversas. MUSA (2019).

3.13. Modo de acción de *Trichoderma spp*

Por competencia: se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes) por espacio y/o nutrientes. Este modo de acción ha sido considerado uno de los mecanismos clásicos de biocontrol de este género según Intagri (s.f.), el rápido crecimiento de *Trichoderma* le permite ser un fuerte competidor por espacio para colonizar la rizosfera. Por otra parte, tiene una capacidad superior para movilizarse y tomar los nutrientes del suelo, utilizando sustratos como fuente de carbono y nitrógeno, permitiendo colonizar un medio rápidamente y evitando la proliferación de otros microorganismos en el mismo hábitat.

Las cepas de *Trichoderma*, en comparación con las capacidades de otros hongos poseen una velocidad de crecimiento muy rápida, y una gran capacidad para movilizar y absorber los nutrientes del suelo, dándoles la ventaja de expandirse rápidamente cuando se inoculan en el suelo. Además, tiene resistencia a una gran variedad de compuestos tóxicos como fungicidas, herbicidas, DDT, plaguicidas, y compuestos fenólicos. (Marina *et al.*, 2005).

Infante *et al.* (2009) enfatizan que el micoparasitismo se define como una simbiosis antagónica entre organismos, donde se ven implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas y celulasas, que corresponden con la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados, mediante el proceso de micoparasitismo, el hongo crece quimiotrópicamente hacia el hospedante, adhiriéndose a las hifas de este, enrollándose en ellas provocando la penetración en el hospedero. La degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en los estados tardíos del proceso parasítico, lo que conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógeno.

Antibiosis: El género *Trichoderma* tiene la capacidad de producir compuestos orgánicos volátiles y no volátiles, inhibiendo el crecimiento y desarrollo de microorganismos patógenos. Estas interacciones están involucradas con las enzimas líticas extracelulares, antibióticos y compuestos de bajo peso molecular. La producción de esporas, que ayuda a la colonización de diversos sustratos y del suelo (Intagri, s.f.).

3.14. Modo de aplicación *Trichoderma spp*

Trichoderma se puede inocular al sustrato para semilleros o directamente al suelo en campo abierto. También el tratamiento a la semilla (inoculación), se emplea para el combate de hongos fitopatógenos, siendo un método muy rápido, fácil y económico.

3.15. Especies de *Trichoderma*

De acuerdo con Kopper, (2018), dentro del género *Trichoderma* quien se ha estudiado por décadas y comprende actualmente más de 89 especies, estas se encuentran en una gran variedad de ecosistemas, lo que hace que les ha permitido evolucionar y poseer una fácil adaptación al

introducirse en diferentes tipos de clima. Tienen la capacidad de atacar a otros hongos y utilizar sus nutrientes, conocido como mico parasitismo, por lo que lo convierte en un agente biológico altamente efectivo para la protección de cultivos.

Trichoderma asperellum T34: Esta especie reduce la enfermedad ocasionada por *F. oxysporum*, con una eficacia comparable a la de productos químicos. Además, la cepa T34, inoculado en el sustrato del cultivo o el suelo, induce a la planta a resistencia sistémica, reduciendo la incidencia a enfermedades (Control Biol, s.f.).

Según Khan *et al.* (2017) *T. harzianum* es un potencial antagonista contra *F. oxysporum* f. sp. Cúbense, bajo condiciones controladas. *T. harzianum* produjo hasta un 75,5% de inhibición del crecimiento de colonias del patógeno. En cultivo en maceta, *T. harzianum* redujo considerablemente la gravedad de la enfermedad.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación del estudio

La investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología agrícola de la Universidad Nacional Agraria en los meses de enero 2024 a noviembre 2024, ubicado en la carretera norte de la ciudad de Managua en el km 12 ½, con coordenadas 12°08'52" latitud Norte y 86° 09'41" longitud Oeste

4.2. Diseño metodológico

La investigación es de tipo experimental cuantitativa con enfoque propositivo, con el objetivo de evaluar la capacidad inhibitoria de aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp, sobre *Fusarium oxysporum*.

4.3. Diseño experimental

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar (DCA) con 15 tratamientos y cinco repeticiones para un total de 75 unidades experimentales, en donde cada unidad experimental de los aislados de *Trichoderma* spp se enfrentarán contra los aislados de *F. oxysporum*; cada unidad experimental estará compuesta por una placa Petri. El modelo estadístico para este arreglo de tratamientos se define matemáticamente de la siguiente manera:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + e_k(i) + M_j + TM_{ij} + e_k(ij)$$

Dónde: Y_{ij} = Variable respuesta

μ = promedio general

T_i = efecto del i -ésimo tratamiento

$e_k(i)$ = error debido al tratamiento

M_j = efecto de la medición

TM_{ij} = efecto de la interacción tratamiento

$e_k(ij)$ = error debido a la medición

4.4. Descripción de los tratamientos

Los tratamientos estaban conformados por aislamientos endofíticos de *T. spp* las cuales se confrontaron con aislamientos de *F. oxysporum* aislados de plantas con síntomas de la enfermedad conocida como mal de panamá. (Cuadro 1). Mediante la técnica cultivo dual.

Cuadro 1. Tratamientos evaluados en el bioensayo

Código	Tratamiento	Descripción
Th1J	T1	<i>Trichoderma</i> spp (Juigalpa)/ <i>F. oxysporum</i> 1
Th1J	T2	<i>Trichoderma</i> spp (Juigalpa)/ <i>F. oxysporum</i> 2
Th1J	T3	<i>Trichoderma</i> spp (Juigalpa)/ <i>F. oxysporum</i> 3
Th1J	T4	<i>Trichoderma</i> spp (Juigalpa)/ <i>F. oxysporum</i> 4
Th1J	T5	<i>Trichoderma</i> spp (Juigalpa)/ <i>F. oxysporum</i> 5
Th2A	T6	<i>Trichoderma</i> spp (Agalla)/ <i>F. oxysporum</i> 1
Th2A	T7	<i>Trichoderma</i> spp (Agalla)/ <i>F. oxysporum</i> 2
Th2A	T8	<i>Trichoderma</i> spp (Agalla)/ <i>F. oxysporum</i> 3
Th2A	T9	<i>Trichoderma</i> spp (Agalla)/ <i>F. oxysporum</i> 4
Th2A	T10	<i>Trichoderma</i> spp (Agalla)/ <i>F. oxysporum</i> 5
Th3S	T11	<i>Trichoderma</i> spp (Spp)/ <i>F. oxysporum</i> 1
Th3S	T12	<i>Trichoderma</i> spp (Spp)/ <i>F. oxysporum</i> 2
Th3S	T13	<i>Trichoderma</i> spp (Spp)/ <i>F. oxysporum</i> 3
Th3S	T14	<i>Trichoderma</i> spp (Spp)/ <i>F. oxysporum</i> 4
Th3S	T15	<i>Trichoderma</i> spp (Spp)/ <i>F. oxysporum</i> 5

4.5. Características macro y microscópicas Aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp

Los aislamientos de *Trichoderma* spp. incluyen tres aislados obtenidos a partir de raíces funcionales del cultivo de plátano recolectado en el departamento de Rivas. Estos fueron preservado en tubos inclinados con medio de cultivo papa dextrosa agar y almacenado a una temperatura de 8⁰C. El inóculo fue cultivado en placas Petri con medio papa dextrosa agar e incubado a 30⁰C. Los cultivos puros fueron usados para los ensayos de inhibición micelial.

Las colonias en medio de cultivo papa dextrosa agar presentaron una coloración verde con tonos amarillentos, halos blancos en el borde en la parte frontal y color ámbar en la parte posterior. En base a las claves dicotómicas, las conidias eran de color verdes hialinas. Los conidióforos

observados presentaron características verticiladas, hialinas con aspectos cónicos y ramificaciones rectas (Figura 1).

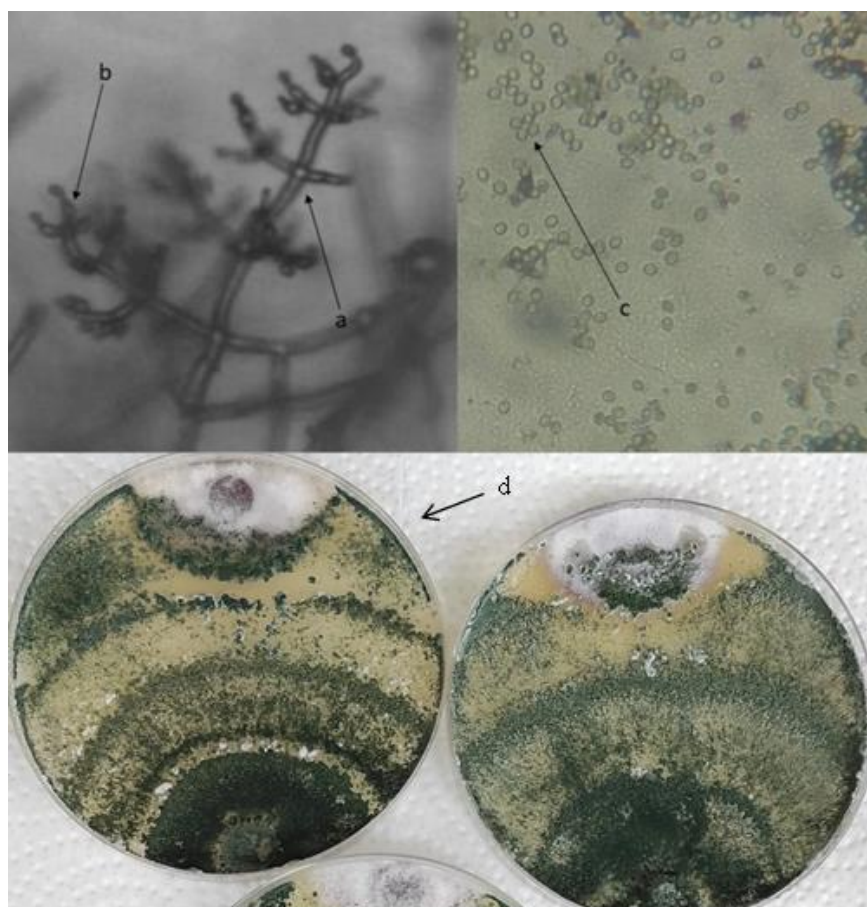


Figura 1. Estructura reproductiva microscópica de *T. spp.* Conidióforo (a), fiálides (b), conidias (c) visto en microscopio de 40x y placa de confrontación con *Trichoderma* contra *Fusarium*.

4.6. Aislados *F. oxysporum* spp

Los aislamientos de *Fusarium oxysporum* incluyen cinco aislados a partir de plantas de guineo con síntomas de la enfermedad, colectados de traspatio del departamento de Rivas. Estos fueron preservado en tubos inclinados con medio de cultivo papa dextrosa agar y almacenado a una temperatura de 8⁰C. El inóculo fue cultivado en placas Petri con medio papa dextrosa agar e incubado a 30 ⁰C. Los cultivos puros fueron usados para los ensayos de inhibición micelial (Figura 2).



Figura 2. Obtención de los aislados de *Fusarium oxysporum* spp

4.7. Ensayo del ritmo de crecimiento radial de aislados endofíticos del hongo *Trichoderma* spp

El ritmo de crecimiento de cada aislado de *Trichoderma* spp. se realizó en una placa Petri con 20 ml de PDA acidificado. En el centro de la placa Petri se colocó el inóculo de *Trichoderma* y se dejó en condiciones asépticas a temperatura ambiente. Las mediciones se realizaron cada 24 horas (Chavarría, 2016).

Las mediciones se realizaron siguiendo la metodología descrita por French y Hébert (1980) (Figura 3.), que consistió en dibujar una cruz en la cara posterior de la placa Petri, indicando cuatro radios de 45 mm, a los cuales se les nombró con letras minúsculas (a, b, c y d). Midiéndose el avance o crecimiento de los hongos a intervalos de tiempo iguales. Se inoculó un disco de cinco mm en el centro de la cruz, luego se incubó hasta observar el avance de crecimiento y a partir de ese momento se procedió a tomar la medición a intervalos de 24 horas. Las mediciones se dejaron de realizar en cada placa, una vez el crecimiento del hongo alcanzó el borde de la placa Petri en al menos uno de los cuatro radios.

La variable que se midió fue el ritmo de crecimiento radial de *Trichoderma* spp. en mm h^{-1} y se calculó dividiendo el crecimiento total en milímetros entre el tiempo transcurrido en horas. Se realizaron cinco repeticiones, considerando cada placa Petri una repetición (Chavarría, 2016).

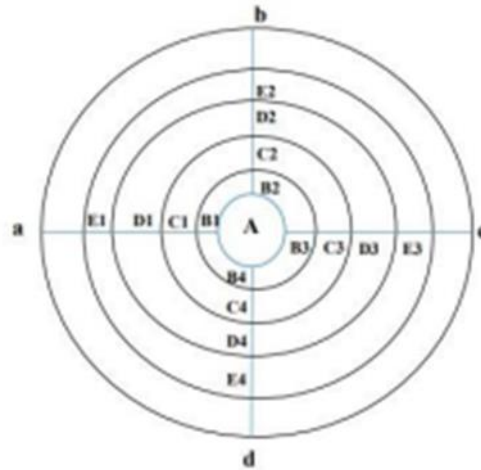


Figura 3. Metodología descrita por (French y Hebert, 1980) para medir crecimiento radial de aislados de *T. spp* y aislados de *F. oxysporum*

4.8. Prueba de antibiosis por el método cultivo dual

Un disco de PDA de 0.5 cm de diámetro, que contenía micelio, microconidios y macroconidios de *Fusarium oxysporum*, con dos semanas de crecimiento, fue colocado en un extremo de la placa Petri que contenía PDA acidificado, bajo condiciones aséptica. En el extremo opuesto, se colocó un disco de PDA de 0.5 cm de diámetro, que contenía micelio y conidias de aislados endófitos de *Trichoderma* spp., con una semana de crecimiento. Cada placa Petri fue sellada con papel Parafilm y almacenado a temperatura ambiente durante 8 días. Se establecieron cinco controles de referencia que correspondieron al cultivo de *Fusarium oxysporum* y se realizaron cinco repeticiones por tratamiento (Caballero, 2011).

Se evaluó la inhibición, en el que se midió el ritmo de crecimiento de las zonas de inhibición de cada uno de los aislados a las 24, 48, 72, 96 horas según la metodología propuesta por Matroudi, que consiste en evaluar el crecimiento radial del patógeno en presencia del antagonista, en

relación con el crecimiento del patógeno en la placa control (testigo), el cual se calculó mediante la fórmula propuesta por Matroudi (2009).

$$\text{PICR}(\%) = \frac{C - T}{C} \times 100$$

PICR: Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del micelio del patógeno

C: Crecimiento radial del patógeno en placa de control

T: Crecimiento radial del patógeno en presencia de *Trichoderma* spp

4.9. Prueba de antibiosis por el método papel celofán

En una placa Petri conteniendo medio de cultivo PDA acidificado se colocó sobre el medio una membrana de papel celofán, seguido un disco de 0.5 cm de diámetro conteniendo esporas de *T. spp* sobre el papel celofán el cual se dejó por un periodo de 24 horas, permitiendo el paso a las moléculas segregadas del hongo al medio de cultivo, después de las 24 horas, se procedió a extraer el papel celofán, seguidamente se colocó un disco 0.5 cm conteniendo esporas, micelio, macroconidios y microconidias de la cepa de *F. oxysporum* bajo condiciones asépticas. Se realizaron cinco réplicas por cada tratamiento. Cada placa Petri es una réplica

Se evaluó la capacidad de inhibición, en el que se midió el ritmo de crecimiento de las zonas de inhibición de cada uno de los aislados a las 24, 48, 72, 96 horas según la metodología propuesta por Matroudi el cual consiste en evaluar el crecimiento radial del patógeno en presencia del antagonista, en relación con el crecimiento del patógeno en placa control (testigo), el cual se calculó mediante la fórmula propuesta por (Matroudi, 2009).

$$\text{PICR}(\%) = \frac{C - T}{C} \times 100$$

PICR: Porcentaje de inhibición del crecimiento radial del micelio del patógeno

C: Crecimiento radial del patógeno en placa de control

T: Crecimiento radial del patógeno en presencia de *T. spp*

4.10. Datos o variables evaluados

- Crecimiento radial de *Fusarium oxysporum* spp (CRP) en placa control mm/h
- Crecimiento radial (CRA) del antagonista *Trichoderma spp.* mm/h
- Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Fusarium spp.* mm/h

4.11. Análisis de datos

Se comprobó estadísticamente el ajuste de las variables a los supuestos de normalidad y de homogeneidad de varianzas del modelo, mediante la prueba de normalidad, con el estadístico de Shapiro-Wilks y la prueba de Levene a las variables Crecimiento radial de *Fusarium oxysporum* spp. (CRP) en placa control mm/h, Crecimiento radial (CRA) del antagonista *Trichoderma spp.* mm/h y Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *Fusarium spp.* mm/h

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Crecimiento radial de *Fusarium*

Se determinó que existe diferencia significativa en los tratamientos ($P=0.0020$). Los aislados que mostraron un mayor crecimiento radial fueron los aislados F1 y F3. El aislado que registró un menor crecimiento radial fue el F1 a las 96 horas. El análisis de varianza también determinó que existen diferencias significativas con respecto al tiempo de crecimiento ($P=0.0001$). Siendo a las 48 horas donde hubo el mayor crecimiento en el aislado F1 (Figura 2).

La Figura 4 muestra que a las 48 horas transcurridas todos los tratamientos mostraron mayor crecimiento radial; sin embargo, el tratamiento F1 registró un mejor crecimiento en comparación a los demás tratamientos. El menor tiempo de crecimiento se presentó a las 96 horas para todos los tratamientos evaluados.

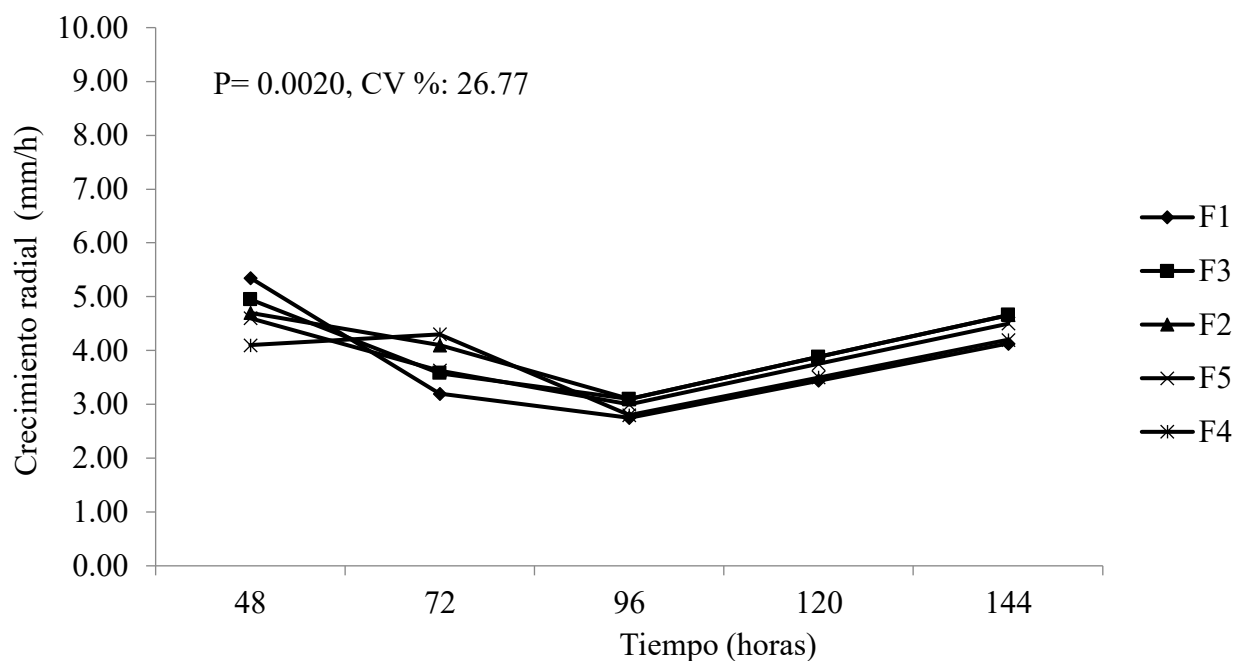


Figura 4. Crecimiento radial de aislados de *Fusarium* en mm/h

Se observó que el aislado F1 exhibió el mayor crecimiento a las 48 horas, lo que refleja las características fisiológicas de cada uno de los aislados en el medio de cultivo PDA.

Investigaciones previas indican que las cepas de *Fusarium* spp. muestran un desarrollo acelerado en fibras solubles extraídas de raíces, específicamente inulina al 1%, con tasas de crecimiento de 0.016 h^{-1} y 0.017 h^{-1} . Esto evidencia la capacidad de este organismo para colonizar el medio de cultivo, tal como se documentó en el estudio de Mendoza y Leyte (2021). Además, se concluyó que el medio utilizado no representa un obstáculo para el crecimiento, ya que se observó un desarrollo abundante micelio, alcanzando su punto máximo de crecimiento a las 144 horas.

Los resultados obtenidos en este estudio se atribuyen a las condiciones favorables que permiten al patógeno crecer y sobrevivir en elementos como el nitrógeno, la sacarosa, un pH que oscila entre 5.5 y 7.5, y temperaturas de $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ a $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$, lo que favorece su ritmo de crecimiento a lo largo del tiempo. Según Tapia y Amaro (2014), uno de los medios que facilita el crecimiento radial del patógeno es el agar papa dextrosa (PDA), el cual, debido a sus características, permite la visualización de sus propiedades fenotípicas de cada organismo (Figura 5). Las conclusiones de estos autores son consistentes con los resultados obtenidos en el presente estudio, en el que los aislados mostraron ritmos de crecimiento variables. (Figura 4).

Macías de cerda et al. (2016), argumenta que el mayor crecimiento se registró a los 0.0358 y 0.035 mm/h a través de glucosa a una dosis de 0.25 g/l y una dosis de pectina a 0.75 g/l . Sin embargo, los autores indican que existe poca información sobre el crecimiento micelial de *Fusarium*.



Figura 5. Características fenotípicas (Colores) de los aislados de *Fusarium*

5.2.Crecimiento Radial *Trichoderma spp* en mm/h

El análisis de varianza mostró que no existe diferencias significativas en el crecimiento radial de los aislados evaluados, esta variable mostró un crecimiento similar en todas las especies control. El menor ritmo de crecimiento se observó a las 24 horas en el aislado ThA con 7.80 mm/h y el mayor fue a las 48 horas en el aislado ThJ con 18.95 mm/h.

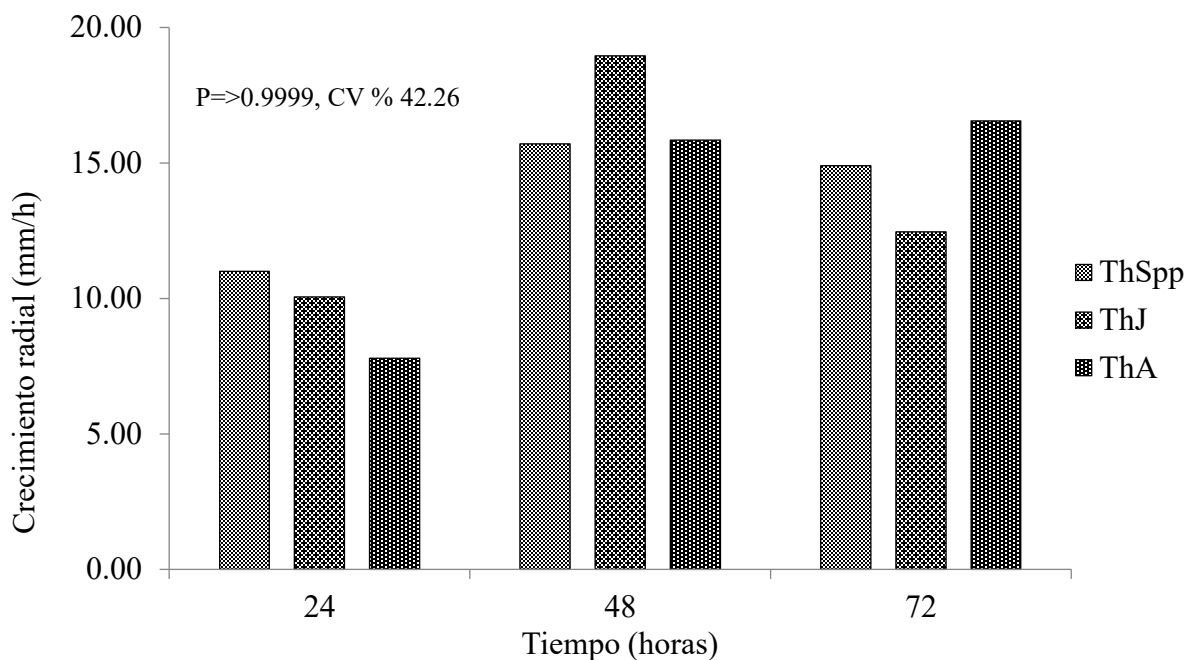


Figura 6. Crecimiento de los tratamientos, *trichoderma spp.* en mm/h

Muestran un ritmo de crecimiento y propiedades de antagonismo que son características distintivas del género *Trichoderma*. Según González *et al.* (2019), el crecimiento de las cepas de *Trichoderma* se atribuye a la secreción de metabolitos de diversa naturaleza, lo cual constituye una característica fundamental para la colonización de un nicho ecológico. Además, una propiedad notable que contribuye a su abundancia y facilidad de estudio en medios de cultivo como el agar papa dextrosa (PDA) es su capacidad para adaptarse a condiciones de pH ácido, que varían entre 4 y 7. Estas características son comparables a las observadas en los aislados evaluados, los cuales también exhibieron propiedades de antagonismo y secreción de metabolitos secundarios en medio PDA.

En un estudio realizado por Acurio y España (2016). Encontraron que *Trichoderma*, presentan un rápido crecimiento y antagonismo con diferentes características fenotípicas, con tonalidad verde y anillos concéntricos, característico de la especie. Siendo similar en los aislados evaluados presentando las características descritas (Figura 7).



Figura 7. Características fenotípicas de aislados evaluados de *Trichoderma* con anillos concéntricos.

5.3. Prueba de antibiosis por el cultivo dual

El análisis de varianza demostró que existe diferencia significativa entre los tiempos evaluados para la prueba dual ($P < 0.0001$). Siendo a las 120 horas en donde se registró el mayor porcentaje de inhibición y el menor fue registrado a las 24 horas después de la siembra en medio PDA.

El mayor porcentaje de inhibición lo presentó el aislado T11 con 51.76, seguido de T14 con 42.76, siendo similar el porcentaje de inhibición de los aislados T5, T1, T2, T7, T12, T9, T13, T6, T15, T3, T10, T8, siendo menor el T4 con 17.32. (Cuadro 1) y (Figura 8).

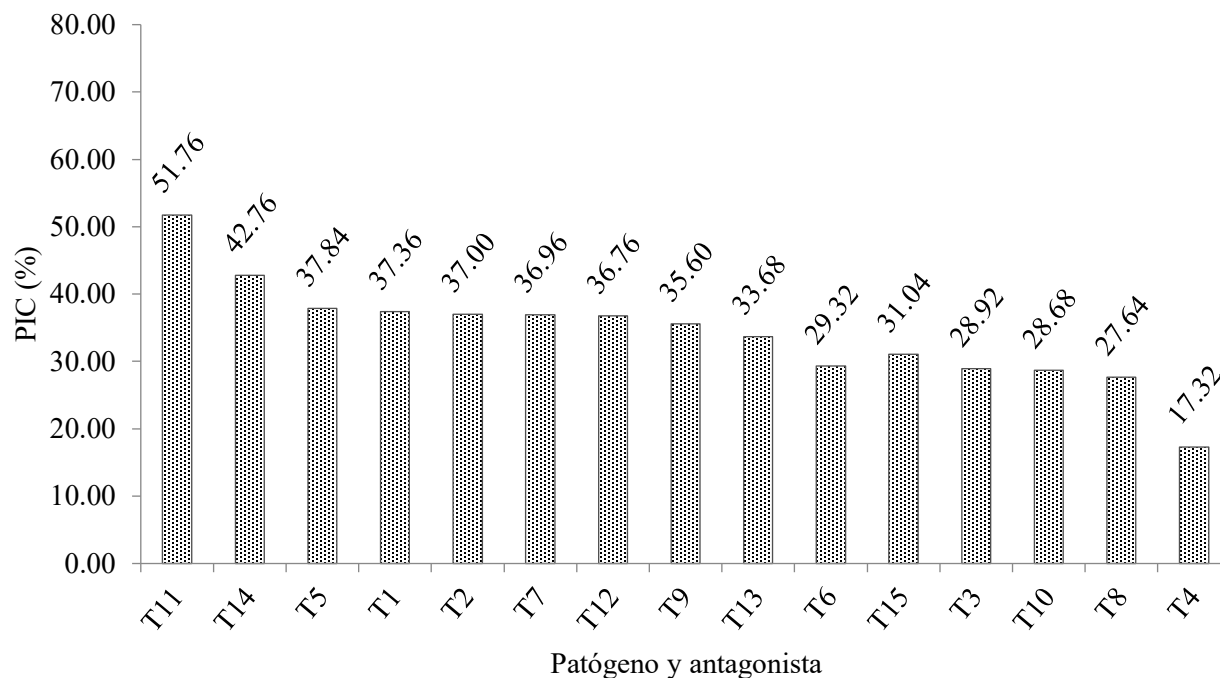


Figura 8. Prueba de inhibición micelial del patógeno y antagonista

Es importante destacar que el porcentaje de inhibición del aislado ThS (T11) supero a los demás aislados, siendo notable la capacidad antagónica que presentan algunos los aislados donde se demostró la capacidad de colonizar y promover metabolitos secundarios sobre *Fusarium* disminuyendo el crecimiento. Siendo similar al estudio realizado por Manayay *et al.* (2016), donde demuestra que los géneros *Trichoderma* presentan acción inhibitoria, también producen metabolitos secundarios que tienen acción en las paredes celulares.

Otro estudio realizado por Rodríguez y Wang (2019), lograron obtener una acción antagónica inhibiendo el crecimiento radial de *Fusarium*. En este estudio se destaca la capacidad que posee *Trichoderma spp* en inhibir a *Fusarium spp* en condiciones in vitro donde compite por nutriente y espacio características referidas por Michel *et al.* (2020), donde refiere una mejor capacidad para adaptarse a las condiciones in vitro, concluyendo con la colonización de *Fusarium* en poco tiempo.

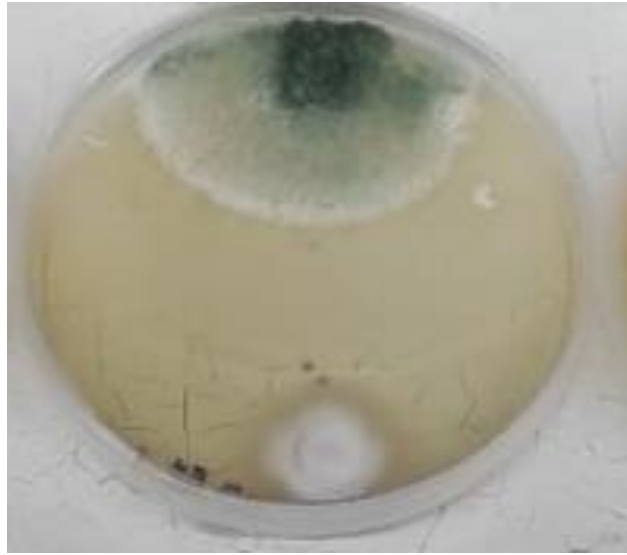


Figura 9. Cultivo dual de *Trichoderma* contra *Fusarium oxysporum*

5.4. Prueba de antibiosis por el papel celofán

El análisis de varianza, mostró diferencia significativa en la variable tiempo ($P=0.003$). Siendo a las 48 y 72 horas en donde se registró un mayor crecimiento. El menor crecimiento se registró a las 24 horas.

El análisis de varianza realizado para la prueba de metabolitos mostró diferencias significativas con $P=0.0280$ entre aislados de *Trichoderma* el mayor fue T2 siendo similar el porcentaje de inhibición de los aislado T12, T7, T14, T4, T10, T3, T8, T11, T9, T1, T13, T1, T5 siendo menor el T15 con 5.27. (Cuadro 1) y (Figura 10).

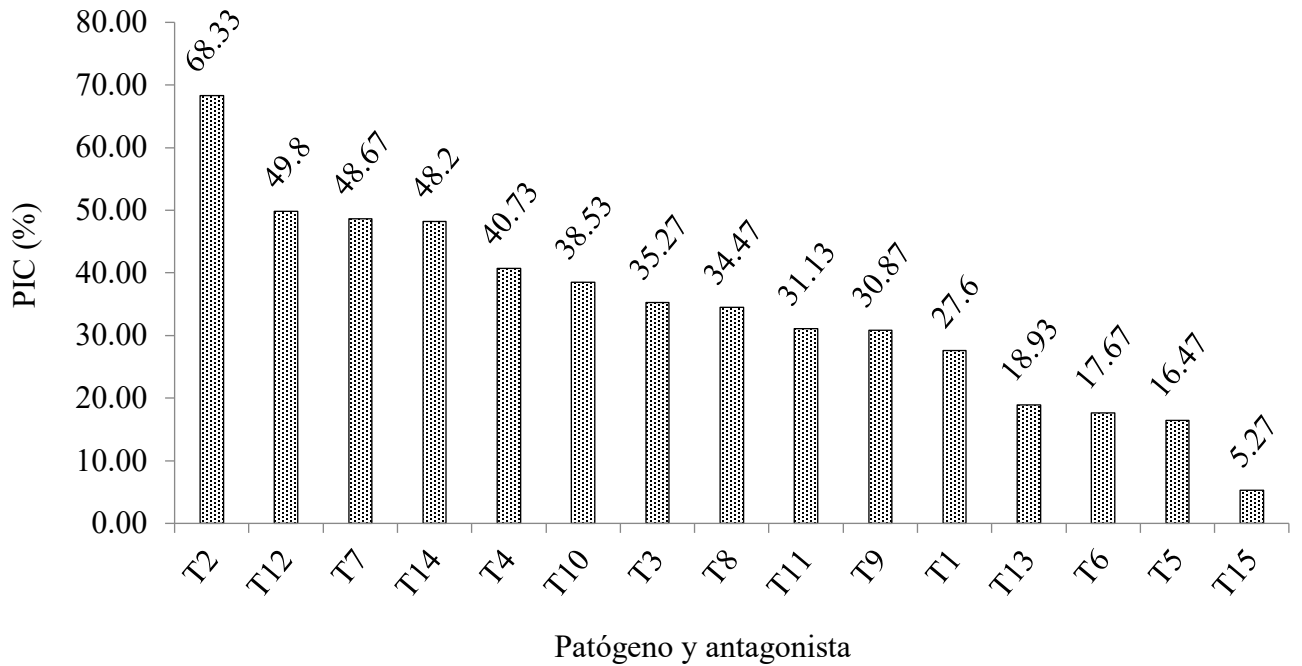


Figura 10. Prueba de inhibición de metabolitos

Cabe destacar que el porcentaje de inhibición del aislado *ThJ* supero a los demás aislados, donde presento una mayor característica de inhibición directa y mayor creación de metabolitos secundarios donde inhibió el crecimiento micelial del patógeno.

Florencio *et al.* (2022), determinó que los aislados de *Trichoderma* spp inhibieron entre 54 y 61%, siendo similar al aislado *Trichoderma* Juigalpa donde se obtuvo un 68 % característica potencial para ser usado en programa de manejo de patógeno amigable con el medio ambiente.

Hernández *et al.* (2021), encontró resultados similares al presente estudio donde la producción de enzimas hidrolíticas, como glucanasa y quitinasas, son las responsables de afectar la membrana celular afectando el crecimiento de los organismos, siendo el aislado *Trichoderma* Juigalpa la que presento similitud.

VI. CONCLUSIONES

En la prueba de antibiosis por el cultivo dual el aislado Th3S (T11) presentó el mayor efecto de inhibición sobre *F. oxysporum* en comparación a los demás aislados que fueron puestos bajo estudio.

En la prueba de antibiosis por el celofán el aislado ThJ demostró el mayor efecto de inhibición demostrando su gran potencial para el control sobre *F. oxysporum*.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar estudios para la identificación de los metabolitos secundarios y los aislados, con el fin de utilizarlos en programas de manejo integrado de plagas.

Se aconseja emplear el aislado de *Trichoderma* Juigalpa para su multiplicación y evaluación en campo.

VIII. LITERATURA CITADA

- Acurio Vásconez, R. D., España Imbaquingo, C. K. (2016). Aislamiento, caracterización y evaluación de *Trichoderma* spp. Como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). *La Granja Revista de Ciencias de la Vida*, 25(1), 53-61.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>
- BASF. (2023). *Malezas, plagas y enfermedades en el cultivo de banano: conozca las principales*. <https://agriculture.basf.com/co/es/contenidos-de-agricultura/plagas-enfermedades-banano.html>
- Blanco Blanco, W, J. (s.f.). *Uso de aislamientos de Trichoderma spp., para el control biológico de la enfermedad Marchitez por Fusarium (Fusarium oxysporum f.sp. cubense) raza 1 en vitroplantas de banano del cultivar Gros Michael (AAA) y FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero*.
<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/6419/1/226920.pdf>
- Caballero Hernández, A. J., Pocasangre Enamorado, L. E., Casanoves, F., Avelino, J., Tapia Fernández, A. C., Y Ortiz, J. L. (2013). *Uso de aislamientos endofíticos de Trichoderma spp., para el biocontrol del Fusarium oxysporum f. sp. Cubense (Mal de Panamá) raza 1 en vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) en condiciones de invernadero*.
<https://revistas.unanleon.edu.ni/index.php/revistauniversita/article/view/696/1058>
- Caballero Hernández, A. J. (2011). *Uso de hongos endofíticos de Trichoderma spp. Para el biocontrol del mal de Panamá (Fusarium oxysporum f. sp. cubense) raza tropical 1 en vitroplantas del cultivar gros michel (AAA)*.
https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/5623/Use_of_endophytic_fungus_of_Trichoderma_spp.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Caballero Hernández, A. J., Pocasangre Enamorado, L. E., Casanoves, F., Avelin, J., Tapia Fernández, A. C., y Ortiz, J. L. (2013). *Uso de aislamientos endofíticos de Trichoderma spp., para el biocontrol del Fusarium oxysporum f. sp. Cubense (Mal de Panamá) raza 1 en vitroplantas de banano del cultivar Gros Michel (AAA) en condiciones de invernadero*.
<https://camjol.info/index.php/UNIVERSITAS/article/view/1676>
- Cangrejo Martínez, M., y Barrantes, M. (2022, Noviembre 25). *La Red de musáceas del IICA realiza actividades para promover acciones frente a Fusarium oxysporum (Foc R4T)*.
<https://blog.iica.int/blog/red-musaceas-del-iica-realiza-actividades-para-promover-acciones-frente-fusarium-oxysporum-foc>
- Certis Belchim. (2023). *Fusarium sp: control de infecciones en cultivos de hoja*.
<https://certisbelchim.es/fusarium-sp-control-de-infecciones-en-cultivos-de-hoja/>
- Companioni González, B., Domínguez Arizmendi, G., y García Velasco, R. (2019). *Trichoderma: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura*. Biotecnología

Vegetal. *Revista Scielo*, 19(4), 237-248. [Trichoderma: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura \(sld.cu\)](#)

Control Biol. (s,f). *TRICHODERMA ASPERELLUM*. Extraído de <https://controlbio.es/es/446-trichoderma-asperellum#:~:text=Trichoderma%20asperellum%20T34%20es%20un,la%20de%20productos%20fungicidas%20qu%C3%ADmicos>.

Dita Rodríguez, M. A., Echegoyen Ramos, E. P., y Pérez Vicente, L. F. (2018). *Plan de contingencia ante un brote de la raza tropical 4 de fusarium oxysporum f. sp. Cubense*. OIRSA.

https://www.oirsa.org/contenido/2018/Sanidad_Vegetal/Manuales%20OIRSA%202015-2018/Plan_conting_FOC_R4T_2017-V2-Final-FEB18-2017.pdf

Ferrucho, R. L. (2020). Estado actual, biología, epidemiología y manejo de *Fusarium oxysporum* f.sp. Cúbense Raza 4 Tropical. *Memorias Seminario Científico Cenicafe*, 71(1), 71-118. <https://doi.org/10.38141/10795/71118>

Florencio Anastasio, J. G. (2015). *Plan de acción para la vigilancia y aplicación de medidas de control contra fusarium oxysporum f. Sp. Cúbense raza 4 (mal de panamá) en México*.

https://www.fao.org/fileadmin/templates/banana/documents/Docs_Resources_2015/TR4/Plandeaccionvigilanciaycontrol-maldePanam%C3%A1enM%C3%A9xico.pdf

Florencio Anastasio, J. G., Alarcón, A., García Ávila, C. J., Ferrera Cerrato, R., Quezada Salinas, A., Almaraz Suarez, J. J., Espinoza Mendoza, M., Bocanegra Flores, D. A., Y Hernández Ramos, L. (2022). Inhibición in vitro de bacterias contra *Fusarium oxysporum* f. sp. Cúbense raza 2. *Revista Scielo* 41(1), 126-142.

<https://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v41n1/2007-8080-rmfi-41-01-126-es.pdf>

Guédez, C., Cañizales, L., Castillo, C., Y 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 Scielo* 44-29.

http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562012000100009

Hernán Chiriboga, P., Gómez, G., y Garcés, E. (2015). *Protocolos para formulación y aplicación del bioinsumo: trichoderma spp. Para el control biológico de enfermedades*. Repositorio IICA.

<https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2647/BVE17038725e.pdf;jsessionid=F81052E5404F3E1BB193EE993041046C?sequence=1>

Hernández, D., Vázquez, M., Cruz, P., Orduño, C., Domínguez, P., y Vázquez, C. (2021). Efecto de Quitosan y Metabolitos de *Trichoderma parareesei* en el crecimiento de *Fusarium oxysporum*. *Biociencias*.

<file:///C:/Users/Public/Pictures/Sample%20Pictures/867-9988-2-PB.pdf>

Infante, D, Martínez, B, Gonzales, N, Reyes, Y, (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista Scielo* 24(1), 14-21.

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002

- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, (11 de septiembre de 2015). *Informe especial: Raza 4 Tropical del Mal de Panamá*. GOV.CO. <https://www.ica.gov.co/noticias/agricola/2015/informe-especial-raza-4-tropical-del-mal-de-panama>
- Intagri (s.f.). *Trichoderma Control de Hongos Fitopatógenos*. <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/trichoderma-control-de-hongos-fitopatogenos>
- João, LN., y Mauricio, A. (2016). *Un procedimiento básico para el aislamiento de esporas individuales de Fusarium verticillioides y Fusarium subglutinans*. Revista internacional de investigación en biología ambiental. [file:///C:/Users/Public/Pictures/Sample%20Pictures/Thangavelu2019 Article FirstDetectionOfFusariumOxyspo.pdf](file:///C:/Users/Public/Pictures/Sample%20Pictures/Thangavelu2019%20Article%20FirstDetectionOfFusariumOxyspo.pdf)
- Khan, B., Akashi, Z., Asad, S., Jared, N., Reputa, N., Jambar, A., Dan, W. y Atufa, R. (2017). Potencial antagonista de trichoderma harzianum contra fusarium oxysporum f. Sp. Cúbense asociado con marcha del plátano de panamá. *Revista de Fitopatología de Pakistán*, 29 (1), 111-116. <https://doi.org/10.33866/phytopathol.029.01.0299>
- Kopper, (2018). Por qué utilizar especies de *Trichoderma* es una excelente idea para proteger las raíces de tus cultivos. *Kopper*. <https://www.koppert.mx/noticias-item/por-que-utilizar-especies-de-trichoderma-es-una-excelente-idea-para-protger-las-raices-de-tus-cultivos/>
- Macías, G., Vean, F., Contreras, E., Noé, C., y Herrera, R. (2016). Cinética de crecimiento de *Fusarium oxysporum* cultivado en diferentes niveles de glucosa y pectina. Universidad Autónoma de Aguascalientes Aguascalientes, México, 24(67), 33-37. <https://www.redalyc.org/pdf/674/67446178005.pdf>
- Manayay Guevara, C. A., Cordova Rojas, L. M., García López, J. W., y Vásquez Vásquez, J. M. (2016). Efecto antagónico de una cepa de *Trichoderma* sp sobre *Fusarium* sp. En planta de tomate Río Grande (*Solanum lycopersicum*). *Revista de Investigación y Cultura*, 5(1), 64-68. [Efecto antagónico de una cepa de Trichoderma sp sobre Fusarium sp. En planta de tomate Río Grande \(Solanum lycopersicum\) \(redalyc.org\)](https://www.redalyc.org/pdf/674/67446178005.pdf)
- Matroudi, S., Zamani, MR., y Motallebi, M. (2009). Antagonistic effects of three species of *Trichoderma* sp. on *Sclerotinia sclerotiorum*, the causal agent of canola stem rot. *Vol. 11*, 37-44 <https://www.ajol.info/index.php/ejb/article/download/56560/44985>
- Maymon. (2020). *Fusarium oxysporum* f. sp. Cubense Raza 4 Tropical. <https://prod.senasica.gob.mx/SIRVEF/ContenidoPublico/Fichas%20tecnicas/Ficha%20T%C3%A9cnica%20Fusariosis%20de%20las%20mus%C3%A1ceas.pdf>
- Mejía Bautista., Cristóbal Alejo, J., Tun Suarez, J. M., Reyes Ramírez, A. (2016). Actividad *in vitro* de *Bacillus* spp. En la inhibición de crecimiento micelial de *Fusarium equiseti* Y *Fusarium solani* aislado de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Revista Scielo*, 50(8), 1107-1121. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952016000801123

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612021000200158

- Rodríguez, M. (s.f.). El mayor enemigo de las musáceas parece haber llegado al continente americano. *CropLife*. <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/el-mayor-enemigo-de-las-musaceas-parece-haber-llegado-al-continente-americano>
- Sánchez Fernández, R. E., Sánchez Ortiz, B. L., Sandoval Espinoza, Y. K., Ulloa Benítez, A., y Armendáris Guillén, B. (2013). Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16(2):132-146, <https://www.elsevier.es/es-revista-tip-revista-especializada-ciencias-quimico-biologicas-93-pdf-S1405888X13720849>
- Santamarina, M. P., y García Breijo, J. (2005). *Trichoderma*: mecanismos de control. *La Revista*, 172 (27). <https://www.phytoma.com/la-revista/phytohemeroteca/172-octubre-2005/trichoderma-mecanismos-de-control>
- Smith, A., y Mesa, P. (s.f.). *3 métodos de control de Fusarium*. https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/19405/45008_60759.pdf?sequence=1
- Tapia, C., Amaro, J. (2014). *Genero Fusarium*. Retrato Microbiológico. [art12.pdf \(scielo.cl\)](#)
- Vásquez Ramírez, J., y Castaño Zapata, L. M. (2017). Manejo integrado de la marchitez vascular del tomate [*Fusarium oxysporum* f. Sp. *Lycopersici* (sacc.) W.C. Snyder & h.n. Hansen]: una revisión. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262017000200014
- Villa Martínez, A., Pérez Leal, R., Morales Morales, H. A., Basurto Sotelo, M., Soto Parra, J. M., y Martínez Escudero, E. (2014). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. Y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Revista Scielo*. <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v64n2/v64n2a11.pdf>
- Villareal Delgado, M. F., Villa Rodríguez, E. D., Cira Chávez, L. A., Estrada Alvarado, M. I., Parra Cota, F. I., y Santos Villalobos, S. S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Scielo*, 36(1), 95-130. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092018000100095
- Watt. (2015). *Fusarium spp. (Hypocreales: Nectriaceae) Podredumbre de raíces*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/633031/Fusarium_spp_ma_z_2020.pdf
- Zapata, S., y Castaño, J. (2019). Manejo integrado del mal de Panamá [*Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. sp. *Cubense* (E.F. SM.) W.C. Snyder & H.N. Hansen]. *Revista Scielo*. <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v22n2/0123-4226-rudca-22-02-e1240.pdf>

IX. ANEXOS

Anexo 1. Andeva general *fusarium oxysporum*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	840.56	13	64.66	86.67	<0.0001
Tratamiento	13.01	4	3.25	4.36	0.0020
tiempo	827.87	9	91.99	123.30	<0.0001
Error	176.07	236	0.75		
Total	1016.63	249			
R	0.83	CV	26.77		

Anexo 2. Medias de crecimiento radial de aislados de *fusarium oxysporum*

Patógenos	Medias
F5	3.50 a
F2	3.37 a
F4	3.26 ab
F3	3.20 ab
F1	2.82 b
p-valor	0.0020
CV %	26.77

Anexo 3. Andeva general *trichoderma* spp

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.00	2	0.00	0.00	>0.9999
Tratamiento	0.00	2	0.00	0.00	>0.9999
Error	17280.00	42	411.43		
Total	17280.00	44			
R	0.00	CV	42.26		

Anexo 4. Medias de crecimiento radial de *trichoderma*

Control	Medias
<i>Trichoderma</i> Agalla	48.00 a
<i>Trichoderma</i> Juigalpa	48.00 a
<i>Trichoderma</i> spp	48.00 a
P-valor	>0.9999
CV %	42.26

Anexo 5. Andeva general prueba dual *trichoderma* contra *fusarium*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	352752.85	18	19597.38	31.95	<0.0001
Tiempo	331522.54	4	82880.64	135.14	<0.0001
Tratamientos	21230.30	14	1516.45	2.47	0.0024
Error	218337.54	356	613.31		
Total	571090.38	374			
R	0.62	CV	72.46		

Anexo 6. Comparación de medias por Tukey para prueba dual *trichoderma* spp contra *fusarium oxysporum*.

Tiempo	Medias
120	92.08 a
96	27.97 b
72	24.41 b
48	18.41 bc
24	8.00 c
p-valor	<0.0001
CV %	72.46

Anexo 7. Andeva general prueba celofán

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	88034.60	16	5502.16	2.71	0.0006
Tiempo	34058.14	2	17029.07	8.39	0.0003
Aislado	53976.46	14	3855.46	1.90	0.0280
Error	422364.66	208	2030.60		
Total	510399.26	224			
R	0.17	CV	132.04		

Anexo 8. Comparación de medias por Tukey en prueba celofán

Tiempo	Medias
48	45.09 a
72	40.35 a
24	16.95 b
P-valor	0.003
CV %	132.04

Anexo 9. Siembra y clasificación de placas Petri



Anexo 10. Toma de datos de prueba de membrana celofán

