



Artículo Científico

Producción de conidiosporas de *Trichoderma* spp. y su aplicación con *Streptomyces* spp. para el manejo de *Mycosphaerella fijiensis* en banano

Wilberth Chan Cupul*, Osvaldo Villegas Guerrero, Juan C. Sánchez Rangel, Laboratorio de Control Biológico III-Fitopatología, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima; Gilberto Manzo Sánchez, Marco T. Buenrostro Nava, Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Colima, Km. 40 autopista Colima-Manzanillo, Tecomán, Colima CP 28934, México.

*Autor de correspondencia:
Wilberth Chan-Cupul
wchan@ucol.mx

Sección:
Número Especial

Recibido:
15 Noviembre, 2024

Aceptado:
29 Enero, 2025

Publicado:
13 Febrero, 2025

Cita:
Chan-Cupul W, Villegas-Guerrero O, Sánchez-Rangel JC, Manzo-Sánchez G y Buenrostro-Nava MT. 2025. Producción de conidiosporas de *Trichoderma* spp. y su aplicación con *Streptomyces* spp. para el manejo de *Mycosphaerella fijiensis* en banano. Revista Mexicana de Fitopatología 43(4): 53. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2024-05>

RESUMEN

Antecedentes/objetivo. La Sigatoka negra (SN) es una de las principales fitopatologías que reduce la producción de banano en México. Desarrollar productos biológicos a base de antagonistas es una actividad preponderante de estudio. Se evaluó la producción de conidiosporas de *Trichoderma* spp. en fermentación sólida sobre granos de arroz y maíz, y se estudió el efecto *in situ* de conidiosporas y *Streptomyces* sp. en la epidemiología de la SN en banano cv. Gran enano.

Materiales y métodos. En fermentación sólida se evaluó el rendimiento de cuatro cepas de *Trichoderma* spp. (T-82, T-85, T-94 y T-99) en arroz entero (AE) y maíz quebrado (MQ); se empleó un diseño factorial A×B (A=cepas y B=sustrato). Las dos cepas con mejor rendimiento (T-99 y T-85) y un producto a base de *Streptomyces* spp. se aplicaron en campo para evaluar la epidemiología de la SN a través de la severidad, promedio ponderado de infección (PPI) y área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE), a través de un diseño de bloques al azar.

Resultados. El MQ incrementó el rendimiento de *Trichoderma* spp. en 71%, las cepas T-94 (1.41×10^8 conidiosporas g⁻¹) y T-85 (1.20×10^8 conidiosporas g⁻¹) presentaron los mayores rendimientos. La cepa T-85 redujo la severidad, PPI y ABCPE de la SN comparado con las aplicaciones del control químico “Mancozeb”.

Conclusión. El MQ fue el mejor sustrato para obtener mayor rendimiento en las cepas T-94 y T-85 de *Trichoderma* spp. La aplicación foliar semanal de conidiosporas de *Trichoderma* T-85 redujo la severidad, PPI y ABCPE de la SN en banano cv. Gran enano.



Palabras clave: epidemiología, esporulación, fermentación, rendimiento, severidad, Mancozeb.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, uno de los cultivos con más importancia en la agricultura es el banano (*Musa* spp.), ocupa el segundo lugar en producción dentro de las frutas tropicales en México, tan solo en Michoacán en el 2023 se sembraron 5,803 ha con producción de 177,760.46 t y un rendimiento de 31.64 t ha⁻¹ (SIAP, 2024). El banano tiene un elevado valor nutritivo en carbohidratos, fibra, proteína, minerales y vitaminas, por ello, es considerado como una de las frutas básicas en la alimentación humana (Fernández *et al.*, 2021).

El cultivar cv. Gran enano tiene más de 30 años de presencia en la frontera entre los estados de Michoacán y Colima (Álvarez *et al.*, 2011), este es afectado por diversas enfermedades, la más importante es Sigatoka negra (SN) causada por el hongo *Mycosphaerella fijiensis* (anamorfo = *Pseudocercospora fijiensis*, Cruz *et al.*, 2020). *P. fijiensis* se multiplica y se dispersa mediante ascosporas y conidios, como inóculo inicial (Churchill, 2011); presenta los dos estados de reproducción sexual y asexual; en el caso de la fase asexual se caracteriza por desarrollar las primeras lesiones, presentándose estrías en el envés ocasionadas por esporas asexuales (conidiosporas), mientras que el estado sexual posee ascosporas que se encuentran en las ascas; estas se producen en el interior de los pseudotecios, los cuales se manifiestan en las hojas infectadas como puntos negros o manchas cenizadas en la etapa final de la enfermedad (Muimba, 2018). Las hojas con síntomas de SN manifiestan un retraso en el proceso de la fotosíntesis, provocando pérdidas económicas del 33 hasta un 69 % en la producción (Kablan *et al.*, 2012).

El control químico con fungicidas es la estrategia de control más frecuentada por los productores de banano, especialmente, en México, el Mancozeb (etilenbisditiocarbamato) es el fungicida más utilizado para el control de la SN (Mena y Couoh, 2015), debido a su espectro biológico y bajo costo. Sin embargo, se ha evidenciado que la etilentiourea, un metabolito que se forma al disociarse el en el agua en presencia de oxígeno y que posee alta movilidad en suelos, debido a su elevada solubilidad en agua, es la responsable de su toxicidad a largo plazo en humanos y en el ambiente (Alza *et al.*, 2016). Por esta razón, el control biológico de la SN es una opción viable por su convivencia amigable con el ambiente. El género *Trichoderma* posee un amplio rango de control sobre fitopatógenos (Kumar *et al.*, 2023), debido a sus mecanismos como la competencia, antibiosis, parasitismo y endofitismo (Saeed, 2022), estas cualidades hacen que *Trichoderma* sea una opción para el control de agentes fitopatógenos, cualidad que no poseen los fungicidas químicos (Acosta *et al.*, 2013).

También, *Trichoderma* spp. posee ventajas para su producción masiva, puesto que se puede producir a través de fermentación líquida, sólida y bifásica. La fermentación en estado sólido (FES) para la producción de conidiosporas de *Trichoderma* spp. se realiza en granos, cereales o con residuos agroindustriales (López *et al.*, 2022). Los granos de arroz entero y quebrado han sido uno de los sustratos más empleados; sin embargo, resulta costoso por su alto valor económico si se compara con el maíz (Rini *et al.*, 2018; Hernández *et al.*, 2019).

Por otra parte, en el control biológico *in vitro* de *P. fijiensis* se han empleado bacterias (Chávez *et al.*, 2020) y actinobacterias (Moreno *et al.*, 2016), una de ellas es *Streptomyces galilaeus*, la cual es efectiva para inhibir el crecimiento *in vitro* de *P. fijiensis* (Castillo *et al.*, 2007; Moreno *et al.*, 2016). Sin embargo, estudios *in situ* para la evaluación de *Streptomyces* contra la epidemiología de la SN no se han realizado. Por lo tanto, el objetivo fue evaluar el rendimiento de cepas de *Trichoderma* spp. producidas en sustratos sólidos y determinar la epidemiología de la SN a través de aplicaciones de conidiosporas de *Trichoderma* sp. y *Streptomyces* sp. (Blítefree®) en el cultivo de banano cv. Gran enano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Producción masiva de conidiosporas de *Trichoderma* spp.

Aislamiento e identificación de cepas de *Trichoderma* spp. Las cepas se aislaron de suelo rizosférico de plantas de banano (*Musa* spp.), ubicadas en un huerto orgánico en Tecmán, Colima, México (18°50'16.8" N, 103°50'06.4" O) con antecedentes de no aplicación de productos biológicos a base de *Trichoderma*. El muestreo se realizó en cuatro hectáreas en un rancho de 40 ha, las muestras se colectaron entre 15 a 20 cm de profundidad, se preparó una muestra compuesta (2 kg) por ha, a partir de cinco submuestras (0.4 kg), el suelo se depositó en bolsas ziplock y se transportó y conservó en nevera y refrigerador (5 °C) para su procesamiento antes de las 24 h después del muestreo. El aislamiento se realizó mediante el lavado de las partículas de suelo, que consistió en lavar 1 g de suelo con 3 L de agua destilada estéril utilizando tres tamices (Alcon®, México) de tamaño de malla decreciente, uno sobre otro, de 500, 250 y 150 µm, respectivamente. Las partículas lavadas (150 µm) se depositaron en discos de papel filtro estéril durante 5 h para eliminar el exceso de humedad. Diez partículas se sembraron en agar papa dextrosa (PDA) + cloranfenicol (150 ppm, Sigma- Aldrich®, EUA) (Bills *et al.*, 2004). Se incubaron cinco placas de Petri a 25±3 °C, 75±5 % de humedad relativa (HR) y 12 h luz: oscuridad. Las colonias con características distintivas al género *Trichoderma* se purificaron mediante reaislamiento en PDA.

Los aislamientos de *Trichoderma* spp. fueron identificados a nivel género con las claves taxonómicas propuestas por Rifai (1969), Barnett y Hunter (1972) y Bissett *et al.* (2015). Las principales características morfológicas macroscópicas tomadas en cuenta fueron: color de micelio, textura de micelio y formación de anillos concéntricos. Mientras que las características microscópicas determinadas bajo un microscopio invertido (Axio vert A1, Zeiss®, Alemania) fueron: forma de conidios, fiálides y presencia de clamidosporas. Los aislamientos se depositaron en el cepario de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Colima. Para los experimentos se seleccionaron cuatro cepas nativas de *Trichoderma* spp. (T-82, T-85, T-94 y T-99), las cuales fueron mantenidos en tubos con PDA inclinado (25 ± 3 °C, 75 ± 5 % HR y 12 h luz: oscuridad), se emplearon colonias en los tubos de 10 días de edad para la producción masiva de conidiosporas en fermentación en estado sólido (FES).

Preparación del inóculo. Se utilizaron dos tubos inclinados con colonias de 10 días de edad por cada cepa de *Trichoderma* spp. para preparar 500 mL de suspensión de esporas por cepa. A cada tubo se le adición 10 mL de agua destilada estéril con Tween 80 (0.05%), la superficie de la colonia se raspó con un asa bacteriológica estéril y se transfirió a un matraz con 480 mL de agua destilada estéril con Tween 80 (0.05%), se emplearon dos tubos con colonias de *Trichoderma* por cada cepa, cuando la suspensión no alcanzó los 500 mL se aforó con agua destilada estéril. La concentración de la suspensión de esporas se cuantificó en cámara de Neubauer por cuatuplicado y se ajustó a 1.0×10^7 conidiosporas mL⁻¹.

Preparación de los sustratos para la FES. Para el experimento en FES se estudiaron dos sustratos: arroz entero (AE) y maíz amarillo quebrado (MQ). El AE se lavó con agua potable tres veces hasta remover el polvo; posteriormente, se colocó en charolas para su secado al sol hasta obtener menos de 15 % de humedad. Después, el AE secó, se embolsaron 120 g en bolsas de polietileno de alta densidad de 2 kg y se esterilizaron en la autoclave a 120 °C (1.5 psi), durante 20 minutos. Cada bolsa fue inoculada con 5 mL de inóculo (1.2×10^7 conidiósporas mL⁻¹), posteriormente se incubó durante 18 días a 24.7-29.6 °C con 12 horas luz: oscuridad.

Los granos de maíz amarillo se quebraron en un molino de grano seco (Molino del Rey 0.5 HP, México), después se tamizó para eliminar el polvo. Los granos quebrados se lavaron en cuatro ocasiones, la primera se realizó con agua potable, retirando la cáscara de maíz y granos vanos; en la segunda, se lavó con una solución de Fullgrow® (Agroscience, México) 1.5 mL L⁻¹ de agua; en la tercera, se lavó con agua caliente (80 °C) durante 10 min y, por último, se le añadió agua a temperatura ambiente como enjuague. Después el MQ se secó hasta obtener una humedad menor al 15%. El MQ se embolsó (120 g) en bolsas de polietileno de alta densidad

de 2 kg y se esterilizó como se describió anteriormente. Cada bolsa fue inoculada con 5 mL de la suspensión de conidiosporas (1.2×10^7 conidiosporas mL^{-1}), posteriormente se incubó ($24.7\text{-}29.6$ °C, 75 ± 5 % HR y 12 horas luz: oscuridad) durante 18 días. La incubación consistió en 12 días para la colonización del sustrato, crecimiento micelial y esporulación, en los seis días restantes, las bolsas se abrieron en el cuarto de incubación y se les colocó un deshumificador (Delonghi®, USA) por 8 horas al día, con el fin de eliminar la humedad del sustrato.

Variable respuesta. El rendimiento se determinó (conidiosporas g^{-1} de sustrato colonizado) a los 18 días después de la inoculación e incubación de los sustratos. Se tomaron 4 g de sustrato colonizado (MQ o AE) y se depositaron en 36 mL de agua destilada estéril + Tween 80 0.05% en tubo cónico (50 mL). La mezcla se agitó en vórtex durante 1 min. La concentración de conidiosporas se contabilizó en una cámara de Neubauer en microscopio (Axio vert A1, Zeiss®, Alemania) a $40\times$. Se emplearon diluciones seriadas para cuando las esporas sobrepasaban las 250 conidiosporas por campo de conteo en la cámara de Neubauer.

Diseño experimental y análisis de datos. Se empleó un diseño completamente al azar con arreglo factorial $A \times B$. El factor A consistió en la cepa de *Trichoderma* spp. (T-82, T-85, T-94 y T-99) y el factor B el sustrato (MQ y AE), resultaron ocho tratamientos (interacciones), cada uno con 10 repeticiones. Una repetición constó de una bolsa de 2 kg con 120 g de sustrato inoculado. Los datos se analizaron a través de un análisis de varianza bifactorial con una probabilidad del 95% ($\alpha=0.05$). Posteriormente, se realizó una comparación de rango múltiple empleando la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Los análisis se realizaron con Statgraphics Plus® para Windows®.

Epidemiología de la Sigatoka negra en campo

Sitio experimental. El estudio se realizó de enero a abril del 2019 en un huerto de banano cv. Gran enano de 30 años ($18^{\circ}67'57.73''$ N y $103^{\circ}67'12.89''$ O, Google Earth, 2018), en Coahuayana de Hidalgo, municipio de Coahuayana, Michoacán, con superficie de dos hectáreas y densidad de 1900 planta ha^{-1} , con tipo de suelo fluvisol (INEGI, 2025) a una altura de 30 msnm. El clima predominante en la región es cálido subhúmedo A(w) con temperatura promedio de $26\text{-}30$ °C y una precipitación de 1558 mm anuales.

Establecimiento del experimento *in situ*. El experimento consistió en cuatro tratamientos, dos cepas de *Trichoderma* spp. (T84 y T94), seleccionadas por haber sido las cepas con mayor producción de conidiosporas en el experimento en FES, además, de un producto biorracional Blitefree® (extracto de *Streptomyces* sp. de

Altus Biopharm S. A. de C. V., dosis 1.5 L ha⁻¹) y un químico (Mancozeb®, dosis 2 kg ha⁻¹), ambos adquiridos en Proveedor Agrícola de Tecomán, Colima. En el experimento *in situ*, se utilizaron bloques (500 m²) al azar de 20 m de ancho por 25 m de largo; las aplicaciones de los tratamientos se realizaron cada semana durante tres meses y se tomaron datos de muestreo cada semana después de la primera aplicación. La parcela experimental presentaba presencia de SN con pequeñas lesiones o puntos de color blanco-amarillento a marrón, de 1 mm de longitud, denominadas pizcas, apenas visibles en el envés de las hojas (Torrado y Zapata, 2008).

Aplicación de los tratamientos. La aplicación de los tratamientos se realizó con un aspersor de motor con capacidad de 15 L marca STIHL® (México). Para el caso de *Trichoderma* sp. y Blitefree® se empleó aceite de soya (1 mL L⁻¹) como adherente natural; para el Mancozeb se utilizó Innex® (1 mL L⁻¹) como adherente, con un gasto para cada tratamiento y control químico de 100 L ha⁻¹. La dosis del Blitefree® y Mancozeb fue de 2.5 g y 2.5 mL L⁻¹, respectivamente. Para las aplicaciones de las cepas de *Trichoderma* spp. en campo se empleó una concentración de 1×10⁷ conidiosporas mL⁻¹ (2×10¹² conidiosporas ha⁻¹). Las aplicaciones de los tratamientos se realizaron semanalmente en horario de 16:00 a 20:00 horas en invierno (enero, 2018) – primavera (abril, 2019).

Variables de respuesta epidemiológicas

La severidad de la SN. Se evaluó en intervalos de siete días en todas las hojas de las plantas seleccionadas. Se utilizó la escala de Stover (1970) de seis categorías, donde: 1) hojas sin síntomas de la enfermedad y aquellas con hasta 10 manchas; 2) hojas con área foliar lesionada <5%; 3) hojas con 6-15% de área foliar lesionada; 4) hojas con 16-33% de área foliar lesionada; 5) hojas con 34-50% de área foliar lesionada y 6) hojas con un área foliar lesionada >50%.

Promedio ponderado de infección (PPI). Se evaluó dividiendo la hoja en dos partes iguales. La hoja que presentó la mitad del limbo foliar lesionada recibió la nota 5 (34-50%) y si presentó lesiones en la otra mitad de la hoja, recibió la nota 6 (>50%). Para obtener las notas 3 y 4, se dividió cada una de las mitades del limbo foliar en dos partes iguales, es decir ¼ de la hoja. Si la hoja presentó hasta la mitad de ¼ de limbo foliar lesionada recibió la nota 3 (6-15%) y si la hoja presentó más de ¼, de limbo foliar lesionada asumió la nota 4 (16-33%). Para la obtención de la nota 2 se dividió ¼ del limbo foliar en dos partes iguales. Si la hoja presentó hasta la mitad de ¼ del limbo foliar lesionada tomó la nota 2 (<5%). La nota 1 se asignó cuando la hoja presente hasta 10 manchas. Este procedimiento se repitió en cada una de las unidades experimentales (Martins *et al.*, 2007). El PPI se calculó con la fórmula $PPI = (\text{suma de \% hojas en cada grado} \times \text{grado respectivo}) / 100$.

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). Es un resumen cuantitativo útil de la intensidad de la enfermedad en el tiempo, ubicaciones o estrategias de manejo. El ABCPE en cada tratamiento se calculó utilizando la ecuación descrita por Shaner y Finney (1977).

$$ABCPE = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{Y_{i+1} + Y_i}{2} * (t_{i+1} - t_i)$$

Donde: Y_i : intensidad de la enfermedad y t : periodo de evaluación en días.

Diseño experimental y análisis de datos. El experimento se estableció con un diseño de bloques al azar con cuatro tratamientos y tres repeticiones, dos tratamientos con cepas de *Trichoderma* spp. (T-94 y T-85), Blitefree® y el control químico (Mancozeb) como testigo. Los datos de la severidad, PPI y ABCPE se analizaron mediante un análisis de varianza y una prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$). Los análisis se realizaron con el software StatGraphics Plus para Windows®.

RESULTADOS

Rendimiento de cepas de *Trichoderma* spp. en fermentación sólida. *Trichoderma* T-94 (1.41×10^8 conidiosporas g^{-1}) significativamente ($p=0.0050$) produjo más conidiosporas que *Trichoderma* T-99 (7.13×10^7 conidiosporas g^{-1}) y T-82 (8.25×10^7 conidiosporas g^{-1}), pero estadísticamente produjo la misma cantidad de conidiosporas que *Trichoderma* T-85 (1.20×10^8 conidiosporas g^{-1}) (Cuadro 1). El MQ fue el mejor sustrato ($p=0.0060$) para las cepas de *Trichoderma* spp. (Cuadro 1), produjo 71% más conidiosporas (1.31×10^8 conidiosporas g^{-1}) que el AE (7.66×10^7 conidiosporas g^{-1}). Las interacciones *Trichoderma* T-94 – Maíz (1.55×10^8 conidiosporas g^{-1}) y *Trichoderma* T-85 – Maíz (1.49×10^8 conidiosporas g^{-1}) presentaron mayor esporulación ($p=0.0015$) comparado con las interacciones *Trichoderma* T-99 – Arroz (4.17×10^7 conidiosporas g^{-1}) y *Trichoderma* T-82 – Arroz (4.57×10^7 conidiosporas g^{-1}); sin embargo, resultaron estadísticamente iguales al resto de las interacciones (Cuadro 1).

Epidemiología de la sigatoka negra en campo

Severidad. En los muestreos a 7 ($p=0.587$), 14 ($p=0.150$) y 21 ($p=0.440$) días no existieron diferencias significativas entre los tratamientos. A los 28 días, con Blitefree® se presentó mayor severidad (1.43) ($p=0.026$), mientras que con las cepas de

Cuadro 1. Rendimiento de cepas de *Trichoderma* spp. en sustratos sólidos.

Factor Cepa	Esporulación Conidiosporas/g colonizado
<i>Trichoderma</i> T-85	1.20×10 ⁸ ± 1.7×10 ⁷ ab
<i>Trichoderma</i> T-94	1.41×10 ⁸ ± 2.2×10 ⁷ a
<i>Trichoderma</i> T-99	7.13×10 ⁷ ± 1.2×10 ⁷ b
<i>Trichoderma</i> T-82	8.25×10 ⁷ ± 1.3×10 ⁷ b
Sustrato	Conidiosporas /g colonizado
Arroz entero	7.66×10 ⁷ ± 1.0×10 ⁷ b
Maíz quebrado	1.31×10 ⁸ ± 1.3×10 ⁷ a
Interacción	Conidiosporas /g colonizado
<i>Trichoderma</i> T-85 - Arroz	9.20×10 ⁷ ± 1.9×10 ⁷ ab
<i>Trichoderma</i> T-85 - Maíz	1.49×10 ⁸ ± 2.4×10 ⁷ a
<i>Trichoderma</i> T-94 - Arroz	1.32×10 ⁸ ± 1.6×10 ⁷ ab
<i>Trichoderma</i> T-94 - Maíz	1.55×10 ⁸ ± 4.1×10 ⁷ a
<i>Trichoderma</i> T-99 - Arroz	4.17×10 ⁷ ± 5.3×10 ⁶ b
<i>Trichoderma</i> T-99 - Maíz	1.02×10 ⁸ ± 1.1×10 ⁷ ab
<i>Trichoderma</i> T-82 - Arroz	4.57×10 ⁷ ± 3.1×10 ⁶ b
<i>Trichoderma</i> T-82 - Maíz	1.20×10 ⁸ ± 1.1×10 ⁷ ab
Significancia	<i>p</i> -valor
Cepas	**
Sustrato	**
Interacciones	**

Medias (± error estándar) entre filas con diferente letra son significativamente diferentes entre sí, de acuerdo con la prueba múltiple de rango Tukey $p=0.05$.

Trichoderma T-85 y *Trichoderma* T-94 la severidad fue de 1.10 y 1.12, respectivamente. En el muestreo a 35 ($F=5.89$, $P=0.0014$) días, Blitefree® y Mancozeb® permitieron las severidades mayores con 1.45 y 1.39, respectivamente; mientras que las cepas T-85 y T-94 mostraron los valores menores con 1.03 y 1.28, respectivamente (Cuadro 2). En los muestreos a 42 ($F=8.68$, $p=0.0001$), 49 ($F=16.55$, $p=0.00001$) y 56 ($F=15.31$, $p=0.00001$) días, Mancozeb obtuvo la mayor severidad con valores de 1.48, 1.61 y 1.58, respectivamente, mientras que *Trichoderma* T-85 obtuvo los menores valores de severidad con 1.09, 0.87 y 0.93, respectivamente (Cuadro 2).

Trichoderma sp. T-94 en el monitoreo a los 63 días después de la aplicación (dda) ($F=3.36$, $p=0.0248$) obtuvo el mayor promedio de severidad con 1.58, Blitefree® (1.53) y Mancozeb (1.54) mostraron mayor severidad comparado con *Trichoderma* T-85 (1.31). En los muestreos a 70 ($F=5.01$, $p=0.0038$), 77 ($F=4.97$, $p=0.0040$) y 84 ($F=4.69$, $p=0.0054$) días, *Trichoderma* sp. T-85 permitió registrar la menor severidad en comparación con los otros tratamientos; por el contrario, Blitefree® y *Trichoderma* T-94 que permitieron los valores más altos de severidad en esos muestreos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Severidad de la Sigatoka negra en banano cv. Gran enano a través de aplicaciones de *Trichoderma* spp.

Tratamiento	Días de muestreo											
	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
<i>Trichoderma</i> T-94	0.93	1.03	1.02	1.12 b	1.28 b	1.24 c	1.37 b	1.23 c	1.58 a	1.80 a	1.72 a	1.70 a
<i>Trichoderma</i> T-85	1.10	1.15	1.18	1.10 c	1.03 c	1.09 d	0.87 d	0.93 d	1.31 c	1.39 c	1.34 c	1.35 c
Blitefree®	1.12	1.26	1.18	1.43 a	1.45 a	1.45 b	1.32 c	1.45 b	1.53 b	1.72 a	1.74 a	1.72 a
Mancozeb	0.98	1.01	1.17	1.23 b	1.39 a	1.48 a	1.61 a	1.58 a	1.54 b	1.60 b	1.44 b	1.53 b
<i>p</i> =	ns	ns	ns	*	**	**	**	**	*	**	**	**

Medias entre filas con diferente letra son significativamente diferentes entre sí (Tukey, $p=0.05$). ns=no significativo, *=significativo, **= altamente significativo.

Promedio ponderado de infección (PPI). El Cuadro 3 describe los PPI. En los muestreos a 35 y 42 días, Blitefree® y Mancozeb presentaron el mayor PPI ($F=6.08$, $p=0.0185$, $F=5.40$, $p=0.0252$) con valores de 0.65 y 0.62, respectivamente, por el contrario, *Trichoderma* T-85 presentó los valores de PPI más bajos con 0.45 (35 días) y 0.49 (42 días). En los dos subsecuentes muestreos a los 49 (0.38) y 56 (0.37) días, *Trichoderma* T-85 presentó los menores PPI comparado con los otros tratamientos Blitefree y Mancozeb con valores que oscilaron entre 0.53 y 0.60. Para el resto de los muestreos (63, 70, 77 y 84 días) no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$, Cuadro 3).

Área bajo la curva del progreso de la enfermedad. La Figura 1 presenta la suma general del ABCPE de la Sigatoka negra en banano cv. Gran enano, durante los 12 muestreos (84 días). *Trichoderma* T-85 estadísticamente ($F=153.01$, $p=0.0001$) obtuvo la menor ABCPE con 11.76, en comparación con los otros tratamientos, los cuales presentaron valores de 13.32 (Blitefree®), 13.03 (Mancozeb®) y 20.49 (*Trichoderma* T-94). La Figura 2 reafirma los resultados; se puede observar que

Cuadro 3. Promedio ponderado de infección (PPI) de la Sigatoka negra en banano cv. Gran enano a través de aplicaciones de *Trichoderma* spp.

Tratamiento	Días de muestreo											
	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84
<i>Trichoderma</i> T-94	0.49	0.53	0.49	0.52	0.57 b	0.53 b	0.53 a	0.43 b	0.54	0.61	0.56	0.52
<i>Trichoderma</i> T-85	0.57	0.57	0.54	0.52	0.45 c	0.49 c	0.38 b	0.37 b	0.52	0.53	0.49	0.47
Blitefree®	0.54	0.60	0.54	0.64	0.65 a	0.62 a	0.53 a	0.59 a	0.54	0.59	0.56	0.49
Mancozeb	0.46	0.44	0.53	0.52	0.61 b	0.61 b	0.60 a	0.56 a	0.55	0.54	0.47	0.54
<i>p</i> =	ns	ns	ns	ns	*	*	**	**	ns	ns	ns	ns

Medias entre filas con diferente literal son significativamente diferentes entre sí (Tukey, $p=0.05$). ns=no significativo, *=significativo, **= altamente significativo.

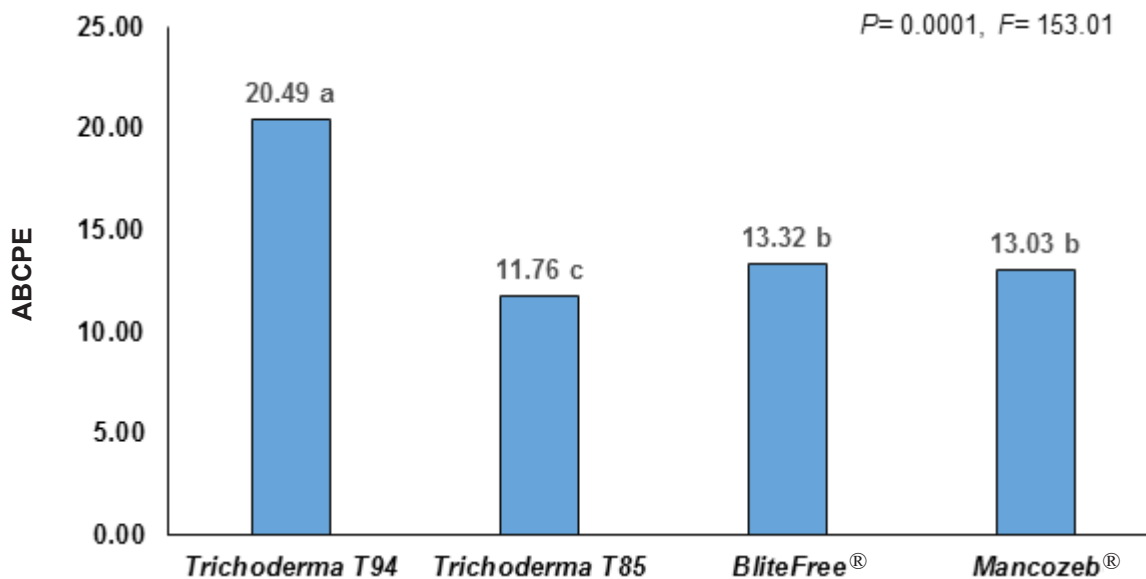


Figura 1. Suma general del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) de la Sigatoka negra en banano cv. Gran enano a través de las aplicaciones de *Trichoderma* spp.

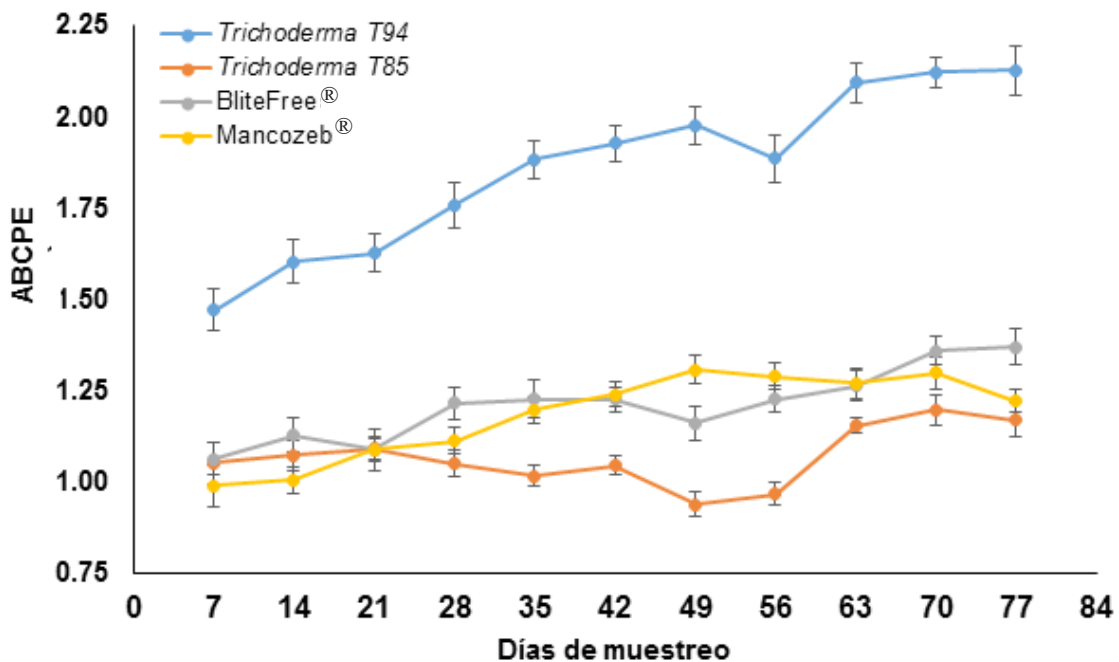


Figura 2. Comportamiento del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) de la Sigatoka negra en banano cv. Gran enano a través de aplicaciones de *Trichoderma* spp.

Trichoderma T85. a partir del quinto muestreo (35 días), presentó el menor AB-CPE, muy por debajo del tratamiento químico. El tratamiento de *Trichoderma* sp. T-94 obtuvo la mayor ABCPE distinguiéndose desde el primer monitoreo (7 días) ante los demás tratamientos. Mancozeb® presentó valores más bajos de ABCPE ($F=153.01$, $P=0.0001$) comparado con Blitefree® en los muestreos a 14, 28, 49 y 77 días.

DISCUSIÓN

Trichoderma spp. posee una amplia aceptación como agente de control biológico de hongos fitopatógenos por sus múltiples mecanismos de acción, de este modo, la producción a gran escala de *Trichoderma* spp. tiene potencial para uso comercial, a pesar de la existencia de productos formulados en el mercado, es idóneo explorar nuevas cepas dirigidos a fitopatógenos causantes de enfermedades específicas. Los micropropágulos de *Trichoderma* spp. en forma de conidiosporas son preferidos sobre clamidosporas y biomasa micelial debido a la viabilidad y estabilidad en la aplicación de campo (Cavalcante *et al.*, 2008). En México, el sustrato más utilizado para la producción de conidiosporas de *Trichoderma* sp. son los granos de arroz entero y quebrado, cuyos costos actuales son de \$30.0 y \$18.0 pesos MXN, respectivamente, según el Sistema Nacional de Información e integración de Mercados (SNIIM, 2024). El presente trabajo demuestra que, en fermentación sólida, los granos de maíz quebrado son un mejor sustrato para la producción de conidiosporas de *Trichoderma* spp., y puede sustituir a los granos de arroz por su mejor rendimiento (71 % más) y menor precio (\$9.0 M/N por kg según el SNIIM, 2024).

El rendimiento de *Trichoderma* en FES depende de factores bióticos y abióticos. Los bióticos corresponden a las especies y cepas de *Trichoderma*. Mientras que los abióticos corresponden a las características del sustrato como tipo, humedad, tamaño de partícula, lecho y volumen de fermentación y a las condiciones de incubación como luz, temperatura, humedad y tiempo de fermentación (Kumar *et al.*, 2023). Algunos reportes describen rendimientos más altos que *Trichoderma* T-85 y T-94 cultivados en MQ, estos resultados podrían atribuirse a la temperatura y humedad de los sustratos, Arévalo *et al.* (2017) reportaron rendimientos de 3.63×10^9 y 1.45×10^9 conidiosporas g^{-1} en arroz entero y quebrado, respectivamente. Cavalcante *et al.* (2008) también reportaron altos rendimientos de *Trichoderma* spp. tanto en arroz entero (1.45 a $5.8 \times 3.63 \times 10^8$ conidiosporas g^{-1}) como en maíz quebrado (0.18 a 7.45×10^8 conidiosporas g^{-1}) con *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. koningii* y *T. polysporum*. Por el contrario, otros reportes sugieren que *Trichoderma* spp. posee bajos rendimientos al emplear arroz entero o maíz quebrado, López *et al.* (2022) reportaron rendimientos en los rangos 0.33 a 9.20×10^7 conidiosporas g^{-1}

y 0.14 a 3.70×10^7 conidiosporas g^{-1} en arroz entero y MQ, respectivamente para *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* y *Trichoderma* sp. Asimismo, Gorotiza *et al.* (2023) reportaron rendimientos de 5.4×10^5 a 1.2×10^7 conidiosporas g^{-1} de *Trichoderma* spp. al combinar diferentes proporciones de arroz y MQ.

El contenido nutricional del maíz puede ser la clave en la mejora del rendimiento de *Trichoderma*, el maíz posee mayor contenido de almidón que el arroz (Mex *et al.*, 2016), el almidón está compuesto por dos polisacáridos, amilosa y amilopectina, ambos polímeros lineales de unidades de glucosa. *Trichoderma* sp. como micromiceto filamentoso prefiere crecer en medios o sustratos con alto contenido de carbono, puesto que es uno de sus principales nutrientes (Colina *et al.*, 2009).

En cuanto a la epidemiología de la SN, *Trichoderma* T-85 fue la cepa con mayor control sobre la severidad y ABCPE. *Trichoderma* podría estar interactuando con la SN a través de sus mecanismos de acción como micoparasitismo y antibiosis. En estudios previos, Sagratzki *et al.* (2015) evaluaron el índice de severidad de la SN al utilizar cuatro cepas de *Trichoderma* y un fungicida químico (Azoxystrobin), los resultados indicaron que el Azoxystrobin redujo en mayor medida la severidad de la SN al 82%, seguido por *Trichoderma viride* con 66%. Este comportamiento no se encontró con Mancozeb, al permitir mayor severidad, PPI y ABCPE, si se compara con *Trichoderma* T-85. *P. fijiensis* como agente causal de la SN pudiera poseer resistencia, al respecto, Aguilar *et al.* (2014) reportaron que Mancozeb posee un valor alto de CL_{50} (entre 49.21 y 112.25 $mg L^{-1}$) respecto a otros fungicidas como Azoxystrobin (entre 13.25 y 51.8) y Propiconazole (entre 1.22 y 10.01), sugiriendo que *P. fijiensis* posee resistencia al Mancozeb, incluyendo poblaciones aisladas del estado de Colima.

En otro estudio, Arzate (2006) evaluó el PPI de *P. fijiensis* en banano, utilizó cepas de *Trichoderma* sp. para control *in situ* de la SN, dos cepas de *Trichoderma* sp. fueron las mejores al obtener el menor PPI en el monitoreo a los 42 días después de la aplicación (dda); estos resultados concuerdan con el presente estudio, debido a que en los monitoreos a 35, 42 y 49 dda, *Trichoderma* sp. T-85 mostró el menor PPI, incluso comparado con el Mancozeb. Por el contrario, Agamez *et al.* (2012) estudiaron una cepa nativa de *Trichoderma* sp., un bioformulado a base de *Trichoderma* y Propiconazole como control químico para el control de SN en banano cv. Hartón, midieron el PPI y no encontraron diferencias significativas en el control de la SN entre los tratamientos. Asimismo, es posible que después de tres o cuatro aplicaciones de *Trichoderma* sp. en plantas con SN, sea un tratamiento adecuado para bajar el PPI y severidad, y que los resultados se observen en los 35 a 49 días; la efectividad de los productos biológicos requiere tiempo para establecerse y controlar el fitopatógeno o enfermedad. Además, es fundamental considerar las condiciones ambientales, ya que las épocas de aplicación (lluvias o sequía) son cruciales para lograr una efectividad positiva en el manejo de la SN en campo (Becker *et al.*, 2021).

Por otra parte, el Blitefree® (*Streptomyces* spp.) permitió severidades y áreas bajo la curva del progreso de la enfermedad similares al Mancozeb, este producto contiene el extracto del actinomiceto, podría ser una de las razones por la cual no resultó más efectivo que *Trichoderma* sp., puesto que las conidiosporas aplicadas, podrían estar interactuando con mucha más facilidad con *M. fijiensis* a través del micoparasitismo, a comparación del extracto de *Streptomyces*; el cual podría ser efectivo a dosis más altas, siendo un objetivo de estudio a futuro bajo condiciones *in situ*, ya que estudios *in vitro*, indican que algunas especies como *Streptomyces galilaeus* CFFSUR-B12 poseen antagonismo contra *M. fijiensis* a través de la antibiosis, como resultado de la producción de quitinasas (Moreno *et al.*, 2016).

CONCLUSIONES

El maíz quebrado es mejor sustrato para obtener conidiosporas de *Trichoderma* spp. con 71 % más de rendimiento. Las cepas con mayor producción de conidiosporas fueron *Trichoderma* T-94 y *Trichoderma* T-85 y en la aplicación foliar semanal *in situ* solo *Trichoderma* T-85 redujo la severidad, PPI y ABCPE de la Sigatoka negra en banano cv. Gran enano, a partir de los 28 días después de las aplicaciones, Mancozeb y Blitefree® fueron menos efectivos.

REFERENCIAS

- Acosta SM, Pichardo T, Roque B, Cruz MM, Mena E, Leiva MM y Alvarado CY. 2013. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rífaí contra *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Biotecnología Vegetal 13:231-235. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/124>
- Agamez REY, Campo AR y Barrera VJL. 2012. Evaluación de cepas nativas de *Trichoderma* spp., en el control de la sigatoka negra en plátano Hartón. Fitopatología Colombiana 36:47-51. <https://www.redalyc.org/pdf/3190/319028005005.pdf>
- Aguilar BAA, García TO, Odriozola CG, Macedo RT, Manzo SG, James AC, Islas FI and Beltrán GM. 2014. Chemical management in fungicide sensitivity of *Mycosphaerella fijiensis* collected from banana fields in Mexico. Brazilian Journal of Microbiology 45:359-364. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822014000100051>
- Álvarez HJC, Venegas FS y Chávez VS. 2011. Caracterización agronómica del plátano cv “Gran enano” bajo manejo convencional en Apatzingán, Michoacán, México. CienciaAgro 2:253-260. <http://revistasbolivianas.umsa.bo/pdf/rca/v2n2/v2n2a01.pdf>
- Alza CWR, García CJM y Chaparro ASP. 2016. Estimación del riesgo de contaminación de fuentes hídricas de pesticidas (Mancozeb y Carbofuran) en Ventaquemada, Boyacá - Colombia. Acta Agronómica 65:368-374. <https://doi.org/10.15446/acag.v65n4.50325>
- Arévalo E, Cayotopa J, Olivera D, Gárate M, Trigos E, Costa B y Leon B. 2017. Optimización de sustratos para la producción de conidias de *Trichoderma harzianum* por fermentación sólida en la región de San Martín, Perú. Revista de Investigación Altoandina 19:135-144. <http://dx.doi.org/10.18271/ria.2017.272>
- Arzate VJ, Michel AAC, Domínguez MVM y Santos EOA. 2006. Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de la Sigatoka negra del plátano (*Musa* sp.) *in vitro* e invernadero. Revista Mexicana de Fitopatología 24:98-104. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61224203.pdf>

- Barnett H and Hunter B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. EE. UU. Burgess Publ. Co. 241p.
- Becker P, Esker P y Umaña G. 2021. Incorporation of microorganisms to reduce chemical fungicide usage in black sigatoka control programs in Costa Rica by use of biological fungicides. *Crop Protection* 146:105657. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105657>
- Bills GF, Christensen M and Thorm G. 2004. Saprobic soil fungi. Pp:271-301. *In*: Muller GM, Bills G and Foster MS (eds.). Biodiversity of fungi: Inventory and monitoring methods. Elsevier, Academic Press, California, USA. 777p. <https://doi.org/10.1016/B978-012509551-8/50016-7>
- Bissett JW, Gams W and Jaklitsch GJ. 2015. *Trichoderma* names in the year 2015. *IMA Fungus* 6: 263-295. <https://doi.org/10.5598/imafungus.2015.06.02.02>.
- Castillo UF, Browne L, Strobel G, Hess WM, Ezra S, Pacheco G and Ezra D. 2007. Biologically active endophytic *Streptomyces* from *Nothofagus* spp. and other plants in Patagonia. *Microbial Ecology* 53:12-19. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9129-6>
- Cavalcante RS, Lima HLS, Pinto GAS, Gava CAT and Rodrigues S. 2008. Effect of moisture on *Trichoderma* conidia production on corn and wheat bran by solid state fermentation. *Food Bioprocess Technology* 1:100-104. <https://dx.doi.org/10.1007/s11947-007-0034-xR>
- Chávez AKT, Guato MJF, Rodríguez AJL, Cedeño MAV, Romero MRF y Canchignia MHF. 2020. Rizobacterias con potencial antagonista *in vitro* a *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Ciencias Agrarias* 13:9-16. <https://doi.org/10.18779/cyt.v13i2.387>
- Churchill ACL. 2011. *Mycosphaerella fijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. *Molecular Plant Pathology* 2:307-28. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00672.x>
- Colina A, Ferrer A y Urribarrí L. 2009. Producción de celulasas por *Trichoderma reesei* Rut C-30 en diferentes sustratos celulósicos. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería de Universidad de Zulia* 32:152-159. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/tecnica/article/view/6662>
- Cruz OLA, Flores MM, Escobar VKR y Moreno CB. 2020. Aislamiento de bacterias antagonistas de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet y promotores de crecimiento en banano (*Musa AAA*). *IBCiencias* 3:32-36. <http://biociencias.unach.mx/ibciencias/doc/vol3art5.pdf>
- Fernández CE, López PB, Santurino C y Gómez CC. 2021. Composición nutricional y declaraciones nutricionales del plátano de Canarias. *Nutrición Hospitalaria* 38:1248-1256. <https://dx.doi.org/10.20960/nh.03614>
- Gorotiza MHC, Jaramillo AEE y Rivera ILM. 2023. Efecto de sustratos orgánicos y porcentajes de humedad en la producción de conidios de *Trichoderma* spp. *Polo del Conocimiento* 8:306-319. <http://dx.doi.org/10.23857/pc.v8i11.6210>
- Hernández MDJ, Ferrera CR y Alarcón A. 2019. *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean Journal of Agricultural and Animal Sciences* 35:98-112. <https://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>
- INEGI, Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2025. Geografía y medio ambiente. <https://www.inegi.org.mx/temas/edafo-logia/> (Consulta, enero 2025).
- Kablan L, Lagauche A, Delvaux B y Legrve AV. 2012. Silicon reduces black sigatoka development in banana. *Plant Disease* 96:273-278. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-11-0274>
- Kumar V, Koul B, Taak P, Yadav D y Song M. 2023. Journey of *Trichoderma* from pilot scale to mass production: A review. *Agriculture* 13:1-37 <https://doi.org/10.3390/agriculture13102022>
- López MTA, Páramo ALA y Delgado SHD. 2022. Reproducción masiva de hongos *Trichodermas* previamente identificados de suelos Nicaragüenses en diferentes sustratos orgánicos. *Nexo Revista Científica* 35:700-712. <https://doi.org/10.5377/nexo.v35i03.15000>
- Martins MB, Valente JP, Kobayasti L, y Gasparatto L. 2007. Progresso da sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijiensis*) em bananeiras após a emissão do cacho no Município de Cáceres, Mato Grosso-Brasil. *Summa Phytopathologica* 33:309-312. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052007000300020>
- Mena EX y Couoh UY. 2015. Efectos de los plaguicidas utilizados para el control de la sigatoka negra en plantaciones bananeras en México, así como su efecto en el ambiente y la salud pública. *TecnoCiencia Chihuahua* 9:115-122. <https://doi.org/10.54167/tch.v9i2.594>

- Mex ARMJ, Garma QPM, Bolívar FNJ y Guillén MMM. 2016. Análisis proximal y fitoquímico de cinco variedades de maíz del estado de Campeche (México). *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales* 12:74-80. <https://revista.itson.edu.mx/index.php/rln/article/view/254>
- Moreno CBM, Dunn MF, Navarro KG, Holguín MF, Hernández OM, Encarnación GS and Huerta PG. 2016. Antifungal performance of extracellular chitinases and culture supernatants of *Streptomyces galilaeus* CFFSUR-B12 against *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 32:1-12. <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1993-0>
- Muimba KA. 2018. Fruit Production. Pp:275-312. In: Muimba KA. (eds.). *Food crop production by smallholder farmers in Southern Africa*. Academic Press, USA. 368p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814383-4.00012-8>
- Rifai MA. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycology Papers* 116:1-56. <https://doi.org/10.1139/b91-298>.
- Rini CR, Ramya J, Jyakumar G and Shajan VR. 2018. Low cost carrier material for mass production of *Trichoderma* inoculants. *Journal of Tropical Agriculture* 56:63-68. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20203084652>
- Saeed AA. 2022. Mechanisms of action and biocontrol potential of *Trichoderma* against fungal plant diseases - A review. *Ecological Complexity* 49:100978 <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2021.100978>.
- Sagratzki PA, Eiji R, Gasparatto L, Coelho RA and de Souza JT. 2015. Biological control of banana black Sigatoka disease with *Trichoderma*. *Ciencia Rural* 45:951-957. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20140436>
- Shaner G and Finney RA. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology* 6:1051-1056. <https://doi.org/10.1094/Phyto-67-1051>
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2024. Acciones y programas - producción mensual agrícola. https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/ (Consulta, mayo 2024).
- SNIIM, Sistema Nacional de Información e Integración de Mercados. 2024. Comparativo de precios al mayoreo semanales de granos básicos. Centros mayoristas de la CDMX, Guadalajara y Monterrey, registros del 15-05-2024. <http://www.economia-sniim.gob.mx/nuevo/> (Consulta, mayo 2024).
- Stover RH. 1970. Leaf spot of bananas caused by *Mycosphaerella musicola*. Methods of measuring spotting prevalence and severity. *Tropical Agriculture Trinidad* 47:289-302. <https://journals.sta.uwi.edu/ojs/index.php/ta/article/view/3538>
- Torrado JA y Castaño ZJ. 2008. Incidencia y severidad de las sigatokas negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) y amarilla (*Mycosphaerella musicola* leach et Mulder) del plátano según los estados fenológicos. *Agronomía Colombiana* 26:435-442. <http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v26n3/v26n3a08.pdf>