



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR**

**SISTEMA DE POSGRADO UNIVERSIDAD AGRARIA DEL  
ECUADOR**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN SANIDAD VEGETAL**

**TRABAJO DE TITULACIÓN COMO REQUISITO PREVIO PARA LA  
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:  
MAGÍSTER EN SANIDAD VEGETAL**

***Trichoderma* spp. COMO INDUCTOR DE RESISTENCIA EN  
VITROPLANTAS DE BANANO (*Musa* AAA) CV. GROS  
MICHEL CONTRA *Fusarium oxysporum f. cubense* (Smith)  
Snyder & Hansen.**

**ING. KAREN RAFAELA MAYORGA MOREJÓN**

GUAYAQUIL, ECUADOR  
2021

# SISTEMA DE POSTGRADO UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR

## CERTIFICACIÓN

El suscrito, Docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de director **CERTIFICO QUE:** he revisado el Trabajo de Titulación, denominada: ***Trichoderma* spp. COMO INDUCTOR DE RESISTENCIA EN VITROPLANTAS DE BANANO (*Musa* AAA) CV. GROS MICHEL CONTRA *Fusarium oxysporum f. cubense* (Smith) Snyder & Hansen.** el mismo que ha sido elaborado y presentado por la estudiante, **Ing. Karen Rafaela Mayorga Morejon** quien cumple con los requisitos técnicos y legales exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador para este tipo de estudios.

Atentamente,

---

**Ing. Pedro Andrade Alvarado.**

Guayaquil, 4 de diciembre de 2021

**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR  
SISTEMA DE POSTGRADO UNIVERSIDAD AGRARIA DEL  
ECUADOR**

**TEMA**

***Trichoderma* spp. COMO INDUCTOR DE RESISTENCIA EN  
VITROPLANTAS DE BANANO (*Musa* AAA) CV. GROS  
MICHEL CONTRA *Fusarium oxysporum f. cubense* (Smith)  
Snyder & Hansen.**

**AUTOR**

**ING. KAREN RAFAELA MAYORGA MOREJÓN**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**APROBADO Y PRESENTADA AL CONSEJO DE POSTGRADO  
COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**MAGÍSTER EN SANIDAD VEGETAL**

**TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN**

---

**Ing. Joaquín Moran Bajaña MSc.  
PRESIDENTE**

---

**Ing. Daniel Mancero Castillo PhD.  
EXAMINADOR PRINCIPAL**

---

**Ing. Armando Vega Rivero PhD.  
EXAMINADOR PRINCIPAL**

## AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento se dirige a quien ha forjado mi camino y me ha dirigido por el sendero correcto, a Dios, el que en todo momento está conmigo ayudándome aprender de mis errores, él guía el destino de mi vida.

Suponen los cimientos de mi desarrollo, todos y cada uno de ustedes mi familia, han destinado tiempo para enseñarme nuevas cosas, para brindarme aportes invaluable, que servirán para toda mi vida.

Le agradezco a la Universidad Agraria del Ecuador, a mis docentes por impartir sus conocimientos, a mi Tutor el Ing. Pedro Andrade por su apoyo y guía durante mi investigación.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias – INIAP, por haberme recibido y brindado la oportunidad de ejecutar mi trabajo de tesis, al Departamento de Protección Vegetal y al Laboratorio de Biotecnología.

A mi co-tutora PhD. Karina Solís Hidalgo, gracias por estar presente no solo en esta etapa tan importante de mi vida, sino en todo momento durante el desarrollo y culminación de mi proyecto de investigación.

Sencillo no ha sido el proceso, muchas gracias por transmitirme sus conocimientos, los M.Sc. Iván Garzón y Wuellins Durango, ustedes me han ayudado a lograr concluir este importante objetivo.

A los Mgs. Sofia Peñaherrera y Pedro Terrero, gracias por su verdadera amistad y por los conocimientos impartidos durante mi estadía en el Instituto.

Muchas gracias aquellos seres queridos que siempre aguardo en mi alma. Este es un momento especial que espero, perdurará en el tiempo, no solo en la mente de las personas que agradecí, sino también a quienes invirtieron de su tiempo en mi proyecto de tesis, les agradezco con todo mi ser.

## **DEDICATORIA**

Dedico con todo mi corazón mi tesis a mi amada familia, y amigos porque ellos fueron la motivación que necesite día a día, para no rendirme y dar feliz término a mi tesis.

## **RESPONSABILIDAD Y DERECHO**

La responsabilidad de las ideas, conceptos, procedimiento, conclusiones y resultados presentados en el presente trabajo de titulación, corresponden exclusivamente al autor y los derechos a la Universidad Agraria del Ecuador.

---

MAYORGA MOREJON KAREN RAFAELA

**C.I. 131115627-5**

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo general Determinar el comportamiento de *Trichoderma* spp., como agente de control de *Foc* raza 1 en vitroplantas de banano Gros Michel, el estudio fue realizado en la Estación Experimental Pichilingue, el primer objetivo determinar *in vitro* el antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *Foc* raza 1, mediante cultivos duales teniendo como resultados que las especies *T. virens* y *T. harzianum* fueron las especies de *Trichoderma* que más inhibieron el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1, para el segundo objetivo en las plantas de musáceas mantenidas en umbráculo, en la variedad Gros michel inoculadas con *Trichoderma* spp no tuvieron ningún efecto en las variables altura, diámetro, peso total y clorofila. A diferencia de Cavendish que si se vio favorecida en las variables antes mencionadas. El tercer objetivo se obtuvo un efecto significativo en reducir la incidencia de la enfermedad en las plantas que estaban inoculadas con *Trichoderma*, se mantuvo valores bajos de severidad de 1,3 a 1,7 7, mientras que las plantas que no fueron inoculadas con *Trichoderma* alcanzaron el máximo de la escala (6) muerte total de la planta por *Foc*.

**Palabras claves:** Biofortificación, compatibilidad, inóculo, incidencia, *in vitro*, resistencia, vitroplantas.

## SUMMARY

The present investigation had as general objective to determine the behavior of *Trichoderma* spp., As a control agent of *Foc* race 1 in Gros Michel banana vitroplants, the study was carried of the Pichilingue Experimental Station, the first objective to determine in vitro the antagonism of *Trichoderma* spp. against *Foc* race 1, by means of dual cultures, with the results that *T. virens* and *T. harzianum* species were the *Trichoderma* species that most inhibited the mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 1, for the second in musacea plants kept in shade, in the Gros michel variety inoculated with *Trichoderma* spp, they had no effect on the variables height, pseudostem diameter, total weight and chlorophyll. Unlike Cavendish, who was favored in the aforementioned variables. The third objective a significant effect was obtained in reducing the incidence of the disease in the plants that were inoculated with *Trichoderma*, low severity values of 1.3 to 1.7 were maintained, while the plants that were not inoculated with *Trichoderma* reached the maximum of the scale (6) total death of the plant by *Foc*.

***Keywords: Compatibility, biofortification, incidence, vitroplants - in vitro, resistance, inoculum***



## INDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN .....	1
Planteamiento del problema .....	2
Justificación e Importancia de Estudio .....	3
Delimitación del Problema .....	4
Formulación del Problema .....	4
Objetivo General .....	4
Objetivos Específicos .....	4
Hipótesis .....	4
Aporte Teórico .....	5
Aplicación Práctica .....	5
CAPÍTULO 1.....	6
MARCO TEÓRICO.....	6
1.1. Estado del Arte.....	6
1.2. Bases Científicas y Teóricas de la Temática.....	10
1.3. Fundamento legal .....	16
CAPÍTULO 2.....	17
ASPECTOS METODOLÓGICOS.....	17
2.1. Métodos: .....	17
2.2. Variables .....	18
2.3. Población .....	24
2.4. Técnicas de Recolección de Datos .....	24
2.5. Estadística Descriptiva e Inferencia .....	30
2.6. Diseño Experimental .....	30
RESULTADOS .....	40
DISCUSIÓN .....	58

CONCLUSIONES.....	64
RECOMENDACIONES .....	65
BIBLIOGRAFIA .....	66
ANEXO.....	77
APENDICES .....	88

## INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Georreferenciación del área a realizar el proyecto.....	77
Anexo 2. Variables de medición .....	77
Anexo 3. Volumen radicular. ....	78
Anexo 4. Peso seco de las plantas con cada uno de los tratamientos. ....	78
Anexo 5. Escala de severidad para foc. ....	79
Anexo 6. Activación de las cepas de <i>trichoderma</i> spp. ....	79
Anexo 7. Compatibilidad entre cepas de <i>trichoderma</i> spp. ....	80
Anexo 8. Compatibilidad de <i>trichoderma</i> spp., con fungicida captan. ....	81
Anexo 9. Vitroplantas en pre- aclimatación. ....	82
Anexo 10. Planta con sintomatología de foc. ....	82
Anexo 11. Proceso de siembra para identificar <i>foc</i> . ....	83
Anexo 12. Confrontación de cepas de <i>trichoderma</i> spp., contra <i>foc</i> . ....	83
Anexo 13. Preparación del inóculo de <i>trichoderma</i> spp. ....	83
Anexo 14. Inoculación de vitroplantas con <i>trichoderma</i> spp.....	84
Anexo 15. Inoculación de <i>foc</i> a plantas inoculadas con <i>trichoderma</i> spp.....	85
Anexo 16. Siembra para la identificación de <i>trichoderma</i> spp.....	85
Anexo 17. Recuperación de <i>trichoderma</i> spp.....	86
Anexo 18. Volumen radicular de las vitroplantas inoculadas con cepas de <i>trichoderma</i> spp. ....	87
Anexo 19. Dilución 30x10 <sup>-5</sup> del suelo usado para los ensayos.....	87
Anexo 20. Dilución 30x10 <sup>-5</sup> del suelo de las plantas inoculadas con <i>trichoderma</i> spp. ....	88

## ÍNDICE DE APÉNDICES

Tabla 1. Escala de capacidad antagónica in vitro para trichoderma spp., de baker y cook. ....	19
Tabla 2. Escala de evaluación de síntomas provocados por f. Oxysporum f. Sp. Cubense.....	21
Tabla 3. Factor de estudio cepas de trichoderma spp. ....	30
Tabla 4. Tratamientos en estudio para confrontación individual de trichoderma spp. ....	31
Tabla 5. Tratamientos en estudio para confrontación de cepas pares de trichoderma spp. ....	31
Tabla 6. Tratamientos en estudio para confrontación de cepas iguales de trichoderma spp. ....	31
Tabla 7. Tratamientos en estudio para confrontación de cepas diferentes de trichoderma spp. ....	32
Tabla 8. Esquema del diseño de varianza (andeva) para la compatibilidad entre cepas. ....	32
Tabla 9. Tratamientos con diferentes cepas de trichoderma + fungicida captan a una dosis de 2 g.l-1.....	32
Tabla 10. Esquema del diseño de varianza (andeva) para la compatibilidad entre trichoderma y captan.....	33
Tabla 11. tratamientos para confrontación de trichoderma frente a foc.....	33
Tabla 12. esquema del diseño de varianza andeva para el ensayo en cultivo dual. ....	34
Tabla 13. Factores de estudio de los tratamientos para la biofortificación a nivel de umbráculo. ....	34
Tabla 14. tratamientos para la biofortificación de las vitroplantas en condiciones de umbráculo. ....	35
Tabla 15. Esquema del diseño de varianza (andeva) para biofortificación.....	35
Tabla 16. Factores de estudio de las cepas de trichoderma spp.....	36
Tabla 17. Tratamientos en estudio para el ensayo del volumen radicular en plantas biofortificadas.....	36
Tabla 18. Esquema del diseño de varianza andeva para el ensayo volumen radicular. ....	36

Tabla 19. Esquema del diseño de varianza andeva para el ensayo peso seco (raíz, planta).....	37
Tabla 20. Factores de estudio pigmentación clorofílica de los tratamientos.....	37
Tabla 21. Tratamientos para evaluar la pigmentación clorofílica.....	38
Tabla 22. Esquema del diseño de varianza (andeva) para pigmentación clorofílica. ....	38
Tabla 23. Factores de estudio de cepas de trichoderma spp. ....	39
Tabla 24. Tratamientos en estudio inoculación de vitroplantas con foc.....	39
Tabla 25. Esquema del diseño de varianza andeva de la inoculación de vitroplantas con foc. ....	39
Tabla 26. Recuperación de trichoderma spp. En plantas de gros michel y cavendish .....	48
Tabla 27. Conteo de la ufc de organismos encontrados en sustrato a usarse en los ensayos.....	56
Tabla 28. Valores de ufc de la dilución seriada del sustrato usado en los ensayos. ....	57
Tabla 29. Análisis de varianza del crecimiento micelial (mm) in vitro de la compatibilidad entre cepas de <i>trichoderma spp.</i> , durante tres días.....	89
Tabla 30. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición del fungicida captan + trichoderma spp., durante tres días a nivel de laboratorio. ....	89
Tabla 31. Análisis de varianza del crecimiento micelial (mm) de las cepas de trichoderma spp., + el fungicida captan durante tres días a nivel de laboratorio. ....	89
Tabla 32. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición de las cepas de trichoderma spp., hacia foc durante dos días a nivel in vitro.....	90
Tabla 33. Análisis de varianza del crecimiento micelial (mm) de las cepas de trichoderma spp., y foc confrontadas durante dos días a nivel in vitro.....	90
Tabla 34. Análisis de varianza de la altura y diámetro del pseudotallo de vitroplantas de banano gros michel y cavendish con los tratamientos de trichoderma spp., a los 12 y 26 días después de la siembra en bandeja a nivel de umbráculo. ....	90
Tabla 35. Análisis de varianza para el volumen de raíz (ml) de las vitroplantas de gros michel y cavendish con los tratamientos de <i>trichoderma spp.</i> , a los 30 días después de la siembra en bandeja. ....	91

Tabla 36. Análisis de varianza del peso seco en gramos de las vitroplantas (raíz, planta y peso total) de gros michel y cavendish con los tratamientos de trichoderma spp., a los 30 días después de la siembra en bandeja. ....	91
Tabla 37. Análisis de varianza de la producción de clorofila de las vitroplantas de gros michel y cavendish con los tratamientos de las cepas de trichoderma spp., a los 15 y 28 días después de la siembra en bandeja. ....	91
Tabla 38. Análisis de varianza del porcentaje de incidencia de los tratamientos de trichoderma spp., con foc en plantas gros michel considerando tres evaluaciones 2da, 7ma y 9na semana después de la inoculación con foc. ...	92
Tabla 39. Análisis de varianza de la severidad de los tratamientos de trichoderma spp., con foc en las plantas de gros michel. ....	92
Tabla 40. Análisis de varianza de la producción de clorofila de las vitroplantas de gros michel con los tratamientos de trichoderma spp., y foc en la 2da y 8va semana después de la inoculación con foc.....	92
Tabla 41. Análisis de varianza de la altura de la planta (cm) al finalizar el ensayo a nivel de umbráculo.....	93

## INTRODUCCIÓN

Los cultivos de musáceas como el banano y el plátano son un importante pilar para la socio-economía y seguridad alimentaria del país. Desafortunadamente son afectados por problemas fitosanitarios, que llegan a ocasionar la muerte de las plantas, siendo una amenaza latente para los productores, en lo económico, lo cual se acrecentó por la falta de conocimiento para su control, generando así una constante búsqueda en formas de controlar estos problemas (Cedeño, 2018).

América Latina y el Caribe son las zonas de mayor producción exportable para el mundo, según la FAO (2019), mencionó que, en el año 2019, Ecuador y Filipinas obtuvieron un fuerte crecimiento en las exportaciones mundiales de plátano, alcanzando los 20,2 millones de toneladas, significando un nuevo récord, con aumento del 5% en comparación con el periodo 2018.

Durante los meses de enero y junio del 2020 el cultivo de banano registró un aumento en producción interanual del 2,9% debido a los suministros sin precedentes del Ecuador y a la recuperación de producción de Costa Rica. El país exportó 4,3 millones de toneladas en los siete primeros meses del año, lo que representa un aumento del 8,5% en comparación con el período 2019 (Altendorf, 2020)

Entre las enfermedades que afectan a los cultivos de musáceas, la Marchitez vascular (anteriormente denominada Mal de Panamá), cuyo agente causal es el hongo *Fusarium oxysporum* f. *ubense* (Smith) Snyder & Hansen, por su naturaleza sistémica de infección se la considera una gran amenaza a nivel mundial para la industria bananera y platanera, catalogándose como el patógeno más destructivo principalmente del banano y la de mayor importancia, al considerarse que el organismo causal probablemente coevolucionó con el mismo. Inicialmente dos razas de *F. oxysporum* f. *ubense* (*Foc*) fueron reconocidas, denominándose las como *Foc* R1T, que ataca a los clones Gros Michel y Manzano, *Foc* raza 2 ataca a Bluggoe o topocho. Posteriormente aparecieron *Foc* raza 3 en especificidad hacia heliconias y actualmente *Foc* raza 4 tropical que ataca a las musas, incluida al subgrupo Cavendish (Brenes, 2017).

Entre los años 1940 al 1950 la Marchitez vascular por *Foc R1T*, ocasionó la desaparición comercial del clon comercial Gros Michel en el Caribe y América Latina. Ecuador registraba 160.000 hectáreas de este cultivo que fueron sustituidas por el subgrupo Cavendish, que es un grupo varietal resistente a la enfermedad y actualmente representa el 40% de la producción mundial, (Bubici, Kaushal, Prigigallo, Gómez, y Cabanás, 2019).

Dicho esto, para el control de la Marchitez vascular, se han propuesto varias alternativas, entre las cuales el control biológico figura como una opción potencial. Al tratarse de un patógeno fungoso, de acción sistémica, las especies de *Trichoderma*, usadas como agentes de control biológico (ACB) son una alternativa viable, por su eficacia antagónica frente a fitopatógenos foliares y del suelo, además de su capacidad cosmopolita (estar presente en todas partes), endófito y no patogénico de plantas superiores. *Trichoderma* spp., actúan a través de la competencia por sustrato, mediante la producción de sustancias fungotóxicas, induciendo la resistencia por medio de fitoalexinas y el micoparasitismo. Además, son resistentes a muchos compuestos tóxicos, incluidos los metabolitos producidos por la microflora del suelo y las plantas, fungicidas, herbicidas y antibióticos (Cando, 2010).

## **Caracterización del Tema**

### **Planteamiento del problema**

En los cultivos de Musáceas generalmente se hacen múltiples aplicaciones de pesticidas para control de plagas y enfermedades, además de las innumerables adiciones de abonos inorgánicos, que fomentan el desarrollo fisiológico de las plantas, para incrementar los rendimientos en la producción (Bubici, y otros, 2019). Una de las limitantes actuales de la producción de musáceas (plátano - banano) es la aparición de la nueva variante del hongo denominada como *Foc* raza 4 tropical presente ya en plantaciones de países vecinos como Colombia y recientemente en Perú (El Peruano, 2021), la cual significa un problema no solo en los países que presentan la problemática, sino también para aquellos en los que aun no está



presente. Para estos últimos, una preocupación mayor debido a la imposibilidad de ejecutar investigaciones *in situ* con el organismo.

Ante esta problemática y conociendo que las razas de *F. oxysporum* f. *cubense*, posee un patrón de desarrollo similar dentro de sus huéspedes susceptibles y siendo de conocimiento general que en nuestro territorio está presente *Foc R1T*, las investigaciones se dirigirán a conocer y establecer los lineamientos enfocados en este patógeno y al huésped al que afectan.

### **Justificación e Importancia de Estudio**

Según García, Pachacama, Jarrín, León, Ayala, Ortiz, Dix, Echegaray, Farfán, Bartolini, Beltrán, Cevallos (2020), en Colombia ingresó el patógeno cuarentenario *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza tropical 4 (*Foc R4T*). Conociéndose que en Ecuador el cultivo de banano es un rubro indispensable para la economía, surge la necesidad de realizar investigaciones para obtener el sustento científico y alternativas tecnológicas que permitan contrarrestar los daños, en un posible escenario de su ingreso al país.

En nuestro país no es posible realizar los estudios *in situ*, ya que no tenemos el patógeno. Sin embargo, es posible realizar el estudio de línea base con *F. oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1, ya que los síntomas, desarrollo y adaptabilidad en su huésped susceptible es similar a *Foc R4T*. Es decir, si logramos obtener una simbiosis de *Trichoderma* spp. en la variedad Gros Michel y una competencia con *F. oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1, dicha interacción se podría usar como un modelo para en su momento poder desarrollarlo.

En este sentido, la biotecnología es una de las herramientas disponibles para lograr estudiar dicha interacción, entre el biocontrolador y las musáceas, con la obtención de vitroplantas, y realizar inoculaciones de cepas de *Trichoderma* spp., en fase de pre-aclimatación, ayudando que estas se acoplen a los haces vasculares de las plantas de banano, generando así un grado de tolerancia a patógenos como *F. oxysporum*.

## **Delimitación del Problema**

La investigación se ejecutó en los laboratorios de Fitopatología y Biotecnología en la Estación Experimental Tropical Pichilingue (EETP) del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), ubicados en el Cantón Mocache en la provincia de Los Ríos. Este proyecto tuvo una duración de 10 meses, periodo comprendido de agosto 2020 Junio del 2021 (Anexo 1).

## **Formulación del Problema**

¿La producción de banano en el país es amenazada por la posibilidad de un ingreso del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 4, por lo que nos vemos en la necesidad de crear medidas sanitarias que nos permitan prevenir el ataque del patógeno a las musáceas?

## **Objetivo General**

Determinar el comportamiento de *Trichoderma* spp., como agente de control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1 en vitroplantas de banano Gros Michel.

## **Objetivos Específicos**

- Determinar *in vitro* el antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1, mediante cultivos duales.
- Evaluar *in vivo* el efecto endófito de *Trichoderma* spp. en las plantas de musáceas mantenidas en umbráculo.
- Determinar *in vivo* el antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1, en plántulas de musáceas mantenidas en umbráculo.

## **Hipótesis**

La aplicación de *Trichoderma* spp. controla el ataque del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1, en el cultivo de banano (*Musa AAA*) cultivar Gros Michel.

## **Aporte Teórico**

Concluido el presente trabajo de investigación, se determinó el efecto de la aplicación de *Trichoderma* spp., como agente de control biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1, en vitroplantas de banano (*Musa AAA*) cultivar Gros Michel, y a su vez su acción como mejorador del desarrollo fisiológico de las mismas.

## **Aplicación Práctica**

Los resultados que se obtienen de este proyecto es parte del beneficio para la comunidad estudiantil, agricultores relacionados directamente con la producción comercial de especies musáceas (bananero, platanero) a las cuales se les podrá ofrecer esta opción fenológica para controlar el hongo *Foc*, lo que permitirá reducir el uso de pesticidas y otros insumos agrícolas. El aplicar *Trichoderma* spp., en vitroplantas de temprano desarrollo, va generar un efecto biofortificante en las plantas, actuando como protección ante el ataque de algún patógeno especialmente *Fusarium* raza 1, y que a su vez nos permite reducir la aplicación de productos químicos.

# CAPÍTULO 1

## MARCO TEÓRICO

### 1.1. Estado del Arte

Un enfoque complementario para el manejo de la marchitez por *Fusarium*, nos lleva a la búsqueda de microorganismos que actúen como antagonista al patógeno. Se han evaluado diferentes microorganismos en suelos colombianos, siendo cepas no patogénicas de *F. oxysporum* y *Trichoderma* spp., mientras que en los géneros bacterianos se destacan *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp., como agentes de control biológico (ACB) de *Foc* (Zapata, 2019).

Es importante la identificación de microorganismos que provean diferentes formas de control de *Foc*. A esto se le asocia la efectividad de las prácticas demostrativas que representa un desafío para productores e investigadores; la tendencia de los estudios *in vitro* e *in situ*, que deben validar en campo con las características de los materiales comerciales, que permitan mostrar resultados sobre el problema que se aborde (López y Cataño, 2019).

El combate biológico se define como la capacidad de los suelos de suprimir al patógeno, complementando nuevos trabajos de investigación promisorios con el uso de los géneros *Trichoderma*, *Bacillus* Cohn, *Pseudomonas* Migula, *Verticillium* Nees, como ACB contra la marchitez causada por *Fusarium* (Flores, 2019).

Una opción para atenuar las afectaciones de hongos fitopatógenos, es la utilización de alternativas ecológicas como medidas culturales, etológicas y el uso de microorganismos antagonistas. Entre estos se encuentran las especies de *Trichoderma*, actuando como antagonista reduciendo la infección de algunos fitopatógenos (Perez, et al., 2018).

Las especies del género *Trichoderma*, son las más estudiadas, por su capacidad reproductiva, su acción ecológica y mecanismos de acción ya sean directos e indirectos. Estos mecanismos hacen que la planta tenga una mejor

adaptabilidad, e incluso una resistencia sistémica a patógenos (González, et al., 2019).

El género *Trichoderma* es un grupo de hongos antagonistas, que puede actuar por competencia de nutrientes y espacio; lo que se fundamenta en el micoparasitismo para el control y la disminución de fitopatógenos en el suelo. Por otro lado, ciertas especies de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios antifúngicos, enzimas hidrolíticas y sustancias promotoras de crecimiento que generan la resistencia en la planta hospedera a infecciones ocasionadas por patógenos. En el micoparasitismo y la antibiosis se emplean enzimas como la quitinasa y glucanasa que disuelven la pared celular de los hongos que parasita (Caiza, 2017).

Los compuestos volátiles (COVs) producidos por los microorganismos, varían según el medio de cultivo en el que crezcan, existiendo muchos referenciados de hongos con características de olores que se producen durante los metabolitos primarios y secundarios, atribuyéndose que los compuestos pueden ser los responsables del efecto controlador que presentan algunas especies de *Trichoderma*. *T. harzianum* Rifai y *T. virens* Mill., Giddens & Foster en un medio de cultivo empobrecido mostraron mayor actividad antifúngica contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder & Hansen, mientras que en las cepas de *T. asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg, no lograron detectar inhibición (Perez, Hermosa y Monte, 2017).

Tanto *Trichoderma* spp., como *F. oxysporum* producen antimicóticos ante alguna respuesta de ataque. *T. harzianum*, *T. viride* Pers y *T. virens* aumentaron la cantidad de metabolitos antimicóticos frente a los compuestos volátiles producidos por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis & Shoemaker, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, además de mostrar actividad antifúngica, mientras que *T. asperellum* no emitió respuesta alguna en cuanto a los compuestos, pero si hubo inhibición de crecimiento (Ningxiao, et al., 2018).

Una confrontación *in vitro* de cepas de *T. harzianum* y *T. asperellum* contra *F. solani* y *F. oxysporum*, mostraron que las cepas de *Trichoderma* inhibieron el

100% del crecimiento de los patógenos, lo que evidenció que *Trichoderma* es de rápido crecimiento aún en presencia de patógenos muy agresivos (Sanchez, Espinosa, Villordo, Rodríguez y Mora, 2017).

Cepas de *Trichoderma* en etapas tempranas del cultivo de cebolla pueden colonizar sus raíces. Sin embargo, se deben efectuar estudios locales para la obtención de aislados desde suelos supresivos, ajustando el momento de aplicación del antagonista, para su implementación en el manejo integrado de *F. oxysporum* (Sanchez, Barrera, Reybet y Sosa, 2015).

Se ha evaluado en campo y laboratorio la acción de la especie *T. harzianum*, como biofungicida para el control biológico de *Phytophthora capsici* Leonian, en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.) y se ha enfrentado *in vitro* a *T. harzianum* contra *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici* y *F. solani* (Mart.) Sacc (asociado a la marchitez del maracuyá) observándose una inhibición en el desarrollo de los patógenos (Sánchez, 2016).

Por otro lado, *T. asperellum* antagonista del hongo *Stromatinia cepivora* (Berk.) Whetzel, en el cultivo de cebolla; mediante bioensayos *in vitro* de inhibición de crecimiento radial, se determinó la rapidez con la que *T. asperellum* tuvo contacto con el patógeno y detuvo su crecimiento, en pruebas de campo los porcentajes de supervivencia de las plantas fueron mayores en las parcelas donde se aplicó *Trichoderma* (Rivera, Meneses, Zuñiga, & Brenes, 2016).

Bajo las condiciones de invernadero se empleó el control de *Trichoderma* spp. contra *Foc 1* en vitroplantas de variedad Gros Michel y FHIA 17 (AAA), las plantas protegidas con *Trichoderma* spp., aumentaron en tres semanas el periodo de incubación de la enfermedad, por lo que *T. harzianum* y *Trichoderma* sp., en ambas variedades presentaron promedios altos en cuanto a la reducción de la decoloración del corno con un 16,67%, mientras que en los parámetros de crecimiento no hubo diferencia significativa para ninguna de las variedades (Blanco, 2018).

En las localidades (Quevedo – Santo domingo y Manabí) pertenecientes al Ecuador se identificó *Bacillus subtilis* y *Bacillus* sp., en plantaciones de Banano, a nivel *in vitro*, se usaron las cepas de *B. subtilis* como antagonista de *F. oxysporum* f.sp. cubense raza 1, presentando actividad a partir de las 48 horas, el resultado indicó el 56.18% de inhibición, valor que fue mayor al de las cepas de *Bacillus* sp., la cual presento actividad antagónica a las 144 horas con un resultado de 54.12% de inhibición contra *Foc* RT1 (Salas, 2015).

Los agentes *Trichoderma* spp. y *B. subtilis* mezclados con un té de compost, produjeron un efecto inhibitorio tanto en pruebas *in vitro* como en invernadero contra *Foc* raza 1, iniciando los síntomas de la enfermedad a partir de la quinta semana y reduciendo el daño del banano Gros Michel a un 60% de incidencia de forma preventiva y de forma curativa el 50,32% de incidencia (Flores, 2019).

Medir la intensidad del color verde en la hoja se ha vuelto una técnica muy utilizada especialmente cuando el objetivo es evaluar nitrógeno. El SPAD-502 evalúa de forma cuantitativamente la intensidad del verde de la hoja, midiendo las transmisiones de luz a 650 nm, donde ocurre absorción de luz por la molécula de clorofila y a 940 nm, donde no ocurre absorción, este aparato nos permite obtener valores instantáneos sin necesidad de destruir la hoja, dando un índice SPAD de clorofila (Cunha, Katz, Sousa, y Raúl, 2015).

En la parroquia Charapotó del cantón Sucre en Manabí, en un ensayo de arroz aplicaron cepas nativas de *Trichoderma* spp., en varias dosis., donde evaluaron número de hojas, masa seca foliar y los pigmentos clorofílicos, los resultados muestran que las dosis de *Trichoderma* spp., incrementaron la clorofila entre el 17 y 23% dando a sus tratamientos valores mayores al testigo (Chávez, et al., 2020).

## **1.2. Bases Científicas y Teóricas de la Temática**

### **1.2.1. Origen de las Musáceas**

El banano es procedente del Sudeste Asiático, cultivado desde hace más de 10.000 años y cuyas primeras huellas se encontraron en Papúa Nueva Guinea. Es una herbácea gigante, perteneciente a la clase de las monocotiledóneas y a la familia de las musáceas, era originalmente salvaje y se reproducía mediante semillas. En la actualidad, todavía se encuentra en estado salvaje en Filipinas, Papúa Nueva Guinea e Indonesia. Los cruces naturales han producido una importante diversidad genética y han permitido la aparición de variedades sin semillas con interesantes cualidades alimentarias (CNUCED, 2015).

### **1.2.2. El banano Gros Michel**

El banano Gros Michel es un cultivar triploide de *Musa acuminata* L., perteneciente al grupo AAA (León y Mejía, 2005). Es una variedad grande y robusta cuyo pseudotallo tiene una longitud de 6-8 m de coloración verde claro con tonos rosas en algunas partes. Su peciolo posee en la base manchas de color marrón oscuro y los limbos son verdes de 4 m de largo por 1 m de ancho. El raquis largo y desnudo cuelga verticalmente y tiene una curva distintiva debajo del racimo. El fruto es largo (18-23 cm) y recto en la mayor parte de su longitud. El ápice de la fruta es ligeramente cónico. La maduración es regular y homogénea (Vézina, Bergh, Crichton y Ruas, 2018).

### **1.2.3. Propagación *in vitro* de musáceas**

Una alternativa de la propagación convencional es la técnica de cultivo de tejidos esta se utiliza para cultivar células vegetales, tejidos y órganos en condiciones asépticas para regenerar y propagar plantas. Los tipos de cultivos de plantas *in vitro* están basados en la totipotencia celular, es decir la capacidad de las células para dividirse, producir todas las células diferenciadas características de los órganos y regenerarse en una planta completa (Veintimilla, 2018).



Para el establecimiento de cultivos asépticos, se introducen los explantes desinfectados en la superficie del medio de cultivo, luego del periodo de incubación se observa el crecimiento de pequeños brotes (Mfongiski y Roca, 1993), éstos se subcultivan cada 2 a 8 semanas, pudiendo subcultivarse varias veces en un nuevo medio (Jiménez y Agramonte, 2013). Posteriormente, se preparan las plantas regeneradas para su trasplante y traslado a salas de ambiente controlado y luego al invernadero (Mfongiski y Roca, 1993). El trasplante de plantas obtenidas *in vitro* al suelo a menudo presenta tasas de supervivencia bajas, antes de transferir las plantas enraizadas deben aclimatarse en una habitación de ambiente controlado (Macías y Sotomayor, 1994).

Para el proceso de aclimatación en umbráculo es importante usar un sustrato que garantice la sanidad y un buen drenaje, este proceso de adaptación se da en las dos primeras semanas después del trasplante, es primordial controlar la intensidad de luz y la humedad relativa, simulando las condiciones de ambiente *in vitro*, hasta que las plantas se adapten a nuevas condiciones, a partir de la tercera semana se incrementa la luz y los riegos. Con estos procedimientos se logra la adaptación de las vitroplantas entre 15-45 días con una sobrevivencia superior al 90% y podrán ser llevadas a campo (Galan, Rangel, Lopez, Perez, Sandoval, y Souza, 2018).

#### **1.2.4. Generalidades de *Trichoderma* spp.**

*Trichoderma* es un hongo ascomiceto con esporas de color verde. Está presente en la mayoría de los tipos de suelos tropicales, a menudo se pueden encontrar en el material vegetal en descomposición y en la rizosfera de las plantas. Existen especies de *Trichoderma* de importancia económica debido a su capacidad de actuar como Agente de Control Biológico (ACB) contra una variedad de patógenos de plantas. Las especies de *Trichoderma* generalmente se encuentran colonizando ecosistemas de raíces, estableciendo una relación simbiótica con las plantas, su capacidad metabólica diversa y su naturaleza competitiva los ha convertido en los colonizadores exitosos de sus hábitats (Hernández, Ferrera, y Alarcón, 2019).

*Trichoderma* presenta mecanismos de acción biorreguladora, entre estos se pueden mencionar los que inducen componentes de acción por competencia, micoparasitismo y antibiosis, además de la activación en la planta de compuestos relacionados con la resistencia (inductores de resistencia), siendo así por lo que se considera un microorganismo que ayuda a disminuir la presencia de fitopatógenos en cultivos agrícolas y contribuir con el mejoramiento de la planta (García, et al., 2017).

Estos hongos también pueden actuar como agentes promotores de crecimiento en plantas. Especies de *Trichoderma* se utilizan para el control de un amplio número de patógenos del suelo por su versatilidad, adaptabilidad y fácil manipulación. En la acción controladora de *Trichoderma*, se han descrito diferentes mecanismos, entre los principales encontramos la competencia por espacio y nutrientes, micoparasitismo y la antibiosis (Román, 2018).

*Trichoderma* spp. pueden movilizar y absorber nutrientes en comparación con otros organismos, la falta de nutrientes fácilmente accesibles en el suelo priva a los patógenos y controla su crecimiento. Cepas de *Trichoderma* pueden producir sideróforos, que se ligan al hierro de otros microorganismos como *Pythium*, que necesita del hierro para sobrevivir (Chiriboga, Gómez y Garcés, 2015).

Otros aislados de *Trichoderma*, tienen la capacidad de crear un ambiente favorable al desarrollo radicular lo que aumentaría la tolerancia de la planta al estrés, además, son resistentes a muchos compuestos tóxicos, incluidos los metabolitos producidos por la microflora del suelo y las plantas, fungicidas, herbicidas y antibióticos (Hernández, Ferrera y Alarcón, 2019).

#### **1.2.5. Morfología de *Trichoderma* spp.**

Rifai en 1969 y Bissett en 1991 han discutido sobre las características morfológicas que usaron para caracterizar y diferenciar a las especies de *Trichoderma*, ambos enfatizaron las dificultades inherentes a la definición de especies morfológicas de este hongo, debido al estrecho rango de variación de la

morfología simplificada en *Trichoderma*, o porque los términos descriptivos para detallar la variación en el color o el patrón no son lo suficientemente precisos para definir diferencias entre las especies (Hernandez et al., 2019).

Las características del desarrollo del micelio *Trichoderma* spp., y la pigmentación se pueden observar en medio de cultivo nutritivo Agar de papa y dextrosa (PDA), cuando se forman los conidios, se observan parches dispersos de color verde azulado o amarillo verdoso, en ocasiones se pueden observar anillos concéntricos. El reverso de las colonias es pálido a amarillento dependiendo de la especie, algunas incluso, produce un olor característico, dulce afrutado parecido al olor a coco (Sarmiento, Hazel y Cárdenas 2013).

Las especies de *Trichoderma* generalmente forman hifas vegetativas, septadas, hialinas y de paredes lisas. Los conidióforos son ramificados con ramas laterales producidas de la rama principal, pueden o no estar emparejadas. Las ramas pueden formarse en ángulo agudo a recto ( $90^\circ$ ) con respecto a la rama principal, las ramas emparejadas forman una estructura piramidal. El conidióforo termina en una o algunas fialide, en algunas especies las ramas principales están terminadas con alargamientos estériles o fértiles (Páramo y Hernández, 2017).

Las fialides, simples o en grupos de 3 a 5  $\mu\text{m}$  de diámetro, también conocidos como células conidiógenas, generalmente se ensanchan en el medio, como una forma de botella, pueden ser cilíndricos o casi subglobosa, se mantienen en verticilos divergentes al final de los conidióforos, o en espirales debajo de los septos a lo largo de los conidióforos y ramas. Los conidios son unicelulares y elipsoidales ( $3\text{-}5 \times 2\text{-}4 \mu\text{m}$ ,  $L/W = >1.3$ ) o globosos ( $L/W <1.3$ ), son típicamente de color verde, o algunas veces incoloras, grisáceas o parduzcas. Su pared generalmente suele ser lisa, pero se pueden encontrar conidias ornamentadas o rugosas en algunas especies, pueden producir clamidosporas en sustratos naturales (Companioni, Grisel, y García, 2019).

Ciertas especies forman estructuras de resistencia denominadas clamidosporas intervienen en la supervivencia del hongo, se encuentran como células vegetativas agrandadas de paredes gruesas con citoplasma condensado.

Estas clamidosporas unicelulares, globosas a subglobosas, se forman dentro de las hifas o en las puntas de las hifas. Por lo general, son incoloras o de color amarillo pálido a verdoso (Polacín, 2015).

#### **1.2.6. Especies de *Trichoderma* spp. utilizadas como ACB.**

Entre las especies de *Trichoderma*, la más estudiada ha sido *T. harzianum* que se caracteriza por la producción de toxinas y antibióticos, su micelio es de color blanco y después de la esporulación se torna de color verde oscuro. Las colonias de este hongo crecen y maduran a los 5 días de incubación, al observar conidióforos a esta edad su ramificación es piramidal, en este mismo sistema permite observar que las ramas o brazos que están más cerca del eje principal son las más largas, prefieren un pH ácido de 4.5 – 5.0. Se desarrollan en áreas con excesiva humedad y cantidades de Dióxido de carbono (Acurio y España, 2017)

Por otro lado, tenemos a *T. virens* siendo un hongo antagonista, de acción preventivo en el control biológico para enfermedades fúngicas, la actividad fúngica se le atribuye en parte a la producción de gliotoxina, también estimula el crecimiento y desarrollo vegetativo de las plantas, coloniza las raíces y evita que otros hongos fitopatógenos afecten la parte radicular, se desarrolla a condiciones ambientales de 10 a 30 °C y pH de 4 a 7, en diferentes tipos de suelo o sustrato (Ramirez, 2014).

La especie *T. asperellum* (aislado GDFS1009), tiene una tasa alta de crecimiento y capacidad de esporulación. Se menciona como inhibidor en contra de los patógenos que causan la marchitez como *Fusarium*, esta cepa secreta quitinasa, glucanasa y proteasa, enzimas que pueden hidrolizar la pared celular de los hongos y contribuir al micoparasitismo (Wu, Sun, Ni, Yu, Yu, y Dou, 2017).

#### **1.2.7. Interacciones *Trichoderma*-planta**

Las especies de *Trichoderma* se encuentran colonizando ecosistemas de raíces de plantas, estableciendo una relación simbiótica con las plantas, pero la colonización de los tejidos de la raíz, se limita a su corteza debido al depósito de

callos que restringe la penetración de las hifas, son estas barreras callosas lo que hacen inofensivo a este hongo (Pineda, Benavides, Duarte, Burgos y Soto, 2017).

Los inductores producidos por las especies de *Trichoderma* durante la penetración, estimulan la activación del sistema de defensa de la planta, causando un aumento en la producción de enzimas vegetales como quitinasa, glucanasa y enzimas asociadas con la biosíntesis de fitoalexinas, estas enzimas disuelven la pared celular de los hongos que parasita (Vargas y Gilchrist, 2015).

### **1.2.8. La Marchitez o Fusariosis**

Es una enfermedad provocada por el hongo radicular del suelo *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) el cual actúa asfixiando a la planta, incapacitándola para que esta pueda absorber los nutrientes del suelo. Este hongo puede persistir en el suelo durante varios años (Bubici, Kaushal, Prigigallo, Gómez, & Cabanás, Biological control agents against fusarium wilt of Banana, 2019). Es un hongo asexual que produce macro, y microconidios y clamidosporas que intervienen en la dispersión del hongo. El micelio de *Foc* crece en el rango de temperaturas entre 9 y 38 °C, por lo cual la enfermedad es más intensa durante los meses cálidos y húmedos del año (Dita, Echegoyen y Pérez, 2017).

Este hongo puede ser diseminado en rizomas infectados, vástagos o algún otro material que esté presente en el suelo, puede ser transportado por el hombre o incluso en las patas de animales e insectos, el agua de escorrentía y de irrigación puede transportar esporas del hongo y este se diseminaría rápidamente a las plantaciones (Padilla, Bonilla, y Vargas, 2017).

La infección inicial ocurre cuando el patógeno invade el tejido vascular (xilema) de las plantas a través de heridas en las raíces y provoca su marchitamiento, las plantas presentan una clorosis, con coloración amarillenta en las hojas más viejas, también se observan rajadura longitudinal en el pseudotallo, a medida que la enfermedad avanza las hojas jóvenes también se tornan amarillas y se necrosan, en los frutos no se visualizan síntomas (Zapata, 2019).

### **1.3. Fundamento legal**

La Constitución de la República del Ecuador (2008), la Soberanía Alimentaria es de gran importancia porque orienta a las personas a comer alimentos sanos, y expone lo siguiente:

### **CAPÍTULO III**

**Art. 281.-** La soberanía alimentaria constituye un objetivo estratégico y una obligación del Estado para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades alcancen la autosuficiencia de alimentos sanos y culturalmente apropiado de forma permanente. Para ello, será responsabilidad del Estado:

1. Impulsar la producción, transformación agroalimentaria y pesquera de las pequeñas y medianas unidades de producción, comunitarias y de la economía social y solidaria.
2. Adoptar políticas fiscales, tributarias y arancelarias que protejan al sector agroalimentario y pesquero nacional, para evitar la dependencia de importaciones de alimentos.
3. Fortalecer la diversificación y la introducción de tecnologías ecológicas y orgánicas en la producción agropecuaria.
4. Promover políticas redistributivas que permitan el acceso del campesinado a la tierra, al agua y otros recursos productivos.
5. Establecer mecanismos preferenciales de financiamiento para los pequeños y medianos productores y productoras, facilitándoles la adquisición de medios de producción.
6. Promover la preservación y recuperación de la agrobiodiversidad y de los saberes ancestrales vinculados a ella; así como el uso, la conservación e intercambio libre de semillas.
7. Precautelar que los animales destinados a la alimentación humana estén sanos y sean criados en un entorno saludable.
8. Asegurar el desarrollo de la investigación científica y de la innovación tecnológica apropiadas para garantizar la soberanía alimentaria.
9. Regular bajo normas de bioseguridad el uso y desarrollo de biotecnología, así como su experimentación, uso y comercialización.
10. Fortalecer el desarrollo de organizaciones y redes de productores y de consumidores, así como las de comercialización y distribución de alimentos que promueva la equidad entre espacios rurales y urbanos.
11. Generar sistemas justos y solidarios de distribución y comercialización de alimentos. Impedir prácticas monopólicas y cualquier tipo de especulación con productos alimenticios.
12. Dotar de alimentos a las poblaciones víctimas de desastres naturales o antrópicos que pongan en riesgo el acceso a la alimentación. Los alimentos recibidos de ayuda internacional no deberán afectar la salud ni el futuro de la producción de alimentos producidos localmente.
13. Prevenir y proteger a la población del consumo de alimentos contaminados o que pongan en riesgo su salud o que la ciencia tenga incertidumbre sobre sus efectos.
14. Adquirir alimentos y materia prima para programas sociales y alimenticios, prioritariamente a redes asociativas. (pág. 138-139).

## CAPÍTULO 2

### ASPECTOS METODOLÓGICOS

#### 2.1. Métodos:

##### **Bibliográfico**

Se realizó una exhaustiva revisión del tema lo que sirvió para la identificación de la información de *Trichoderma* y *Foc* con contenido de la importancia, morfología, características e investigaciones realizadas en diversos lugares acerca del tema en estudio.

##### **Inductivo**

Mediante este método al final de la investigación se determinó si las especies de *Trichoderma* tuvieron control alguno sobre *Foc*.

##### **Deductivo**

Es el proceso mediante el cual se realizó la verificación de la Hipótesis, cumpliendo con las expectativas existiendo un control por parte de *Trichoderma* spp., hacia *Foc*.

##### **Analítico**

Permitió que los resultados de la investigación sean revisados de manera minuciosa y correcta, dando así a conocer más sobre el objeto de estudio, poder comprender el comportamiento y establecer o actualizar nuevas teorías en cuanto al control biológico de *Trichoderma* contra *Foc*.

#### **2.1.1. Modalidad y tipo de investigación**

Se usó un diseño experimental. Con una investigación descriptiva, comparativa, analítica, cuantitativa y cualitativa, lo que ayudó a determinar el enfoque de la investigación.

## 2.2. Variables

### 2.2.1. Variables Independientes:

- Aislados de *Trichoderma* spp.
- Aislado de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

### 2.2.2. Variable Dependiente:

- **Porcentaje de antagonismo de *Trichoderma* contra *Fusarium***

Se evaluó el crecimiento de *Trichoderma* spp., con un pie de rey cada 24 horas durante 3 días para calcular el porcentaje de inhibición con la fórmula de Girlanda *et al.* (1995).

Los enfrentamientos se evaluaron a las 24 horas desde la siembra durante tres días, donde el testigo de *Trichoderma* llenó el plato Petri. Al 3er día se aplicó la escala de Baker y Cook (Bell, Well, & Markham, 1982), donde se describen los tipos de interacción entre microorganismos (tabla 1).

Se registró el crecimiento lineal y se calculó el porcentaje de inhibición a las 72 horas, con la fórmula de Girlanda *et al.* (1995):

$$\text{Porcentaje (\%)} \text{ de Inhibición} = 100 \times [(R-r) / R]$$

Dónde: R es el radio alcanzado por el hongo en la placa control en dirección al centro de la placa.

r es el radio alcanzado por el hongo en co-cultivo.



Tabla 1. Escala de capacidad antagonica in vitro para *Trichoderma* spp., de Baker y Cook.

<b>Grados</b>	<b>Características de cada grado de la escala</b>
Grado 1	<i>Trichoderma</i> spp. crece completamente sobre la colonia del patógeno y cubre la superficie del medio de cultivo.
Grado 2	<i>Trichoderma</i> spp. crece al menos sobre las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo.
Grado 3	<i>Trichoderma</i> spp. y el patógeno cubren aproximadamente la mitad de la superficie del medio de cultivo.
Grado 4	El patógeno crece al menos en las dos terceras partes del medio de cultivo limitando el crecimiento de <i>Trichoderma</i> spp.
Grado 5	El patógeno crece sobre la colonia de <i>Trichoderma</i> spp. ocupando toda la superficie del medio de cultivo.

Autor: (Bell *et al.*, 1982).

Por medio de microscopía se observaron las interacciones de las hifas antagonistas con las del patógeno, ya sea por enrollamiento o por penetración.

- **Altura de planta**

En centímetro (cm), se midió desde la base del pseudotallo (PS) hasta el punto de inserción de la hoja bandera. Se evaluó tanto a plantas de bandeja y del umbráculo. Anexo 2

- **Diámetro del pseudotallo**

Se lo determinó en milímetros a partir de los 12 días en bandeja. Anexo 2

- **Volumen radicular**

El volumen de raíces se evaluó a plantas de 30 días en bandeja, la medición se hizo en cm<sup>3</sup> basándose en el principio de Arquímedes, introduciendo la raíz en una probeta con agua (21 ml) y se registró el volumen desplazado por la misma (Anexo 3) (Monge, 2007).

- **Pigmentación clorofílica**

Este proceso se realizó en bandeja y en el umbráculo. Se evaluó la pigmentación clorofílica con la ayuda de un medidor SPAD – 502, se seleccionaron tres plantas por tratamiento y repeticiones, se escogió hojas del mismo tamaño (Anexo 2) (Chávez et al., 2020).

- **Peso materia seca**

Las muestras se secaron en estufa a 70 °C durante 24 h y se determinó el peso (g) de la materia seca (MS) de la parte radicular, planta y peso total de toda la planta. Anexo 4

Las variables de altura, diámetro y clorofila se midieron a los 12 y 26 días. El volumen de raíces y el peso de materia seca se evaluaron a los 30 días, mientras las plantas se encontraban en las bandejas.

- **Incidencia de *Foc***

La incidencia se evaluó a los 7 días que la primera planta presentó síntomas externos característicos de la enfermedad, esta se calculó por el número de plantas con sintomatología y el total de plantas sanas. Las evaluaciones se realizaron 3 veces en la semana hasta el término del ensayo (Lara, 2009).

- **Severidad de *Foc***

La severidad de la enfermedad se evaluó según el grado de daño expresado, tanto síntomas internos y externos (los externos se evaluaron a medida que las plantas presentaban muerte). Esta variable se midió tres veces en la semana. Se usó la escala presentada en la tabla 2 (Orjeda, 1998) Anexo 5.

Tabla 2. Escala de evaluación de síntomas provocados por *F. oxysporum* f. sp. cubense.

<b>Síntomas externos</b>		
<b>Valor</b>	<b>Amarillamiento</b>	<b>Marchitez</b>
<b>1</b>	Ausencia de síntomas	Ausencia de síntomas
<b>2</b>	Amarillamiento en hojas viejas	Marchitez en hojas viejas
<b>3</b>	Amarillamiento en hojas bajas	Marchitez en hojas bajas
<b>4</b>	Amarillamiento en las hojas jóvenes	Marchitez en las hojas jóvenes
<b>5</b>	Severo amarillamiento	Servera marchitez
<b>6</b>	Muerte de la planta	Muerte de la planta

Autor: Orjeda (1998).

### 2.2.3. Matriz de operacionalización de las variables´

	TIPO DE VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	TIPO DE MEDICIÓN	INSTRUMENTO DE MEDICION
INDEPENDIENTE	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colonias de <i>Trichoderma</i> spp.</li> <li>• Colonias de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i>.</li> <li>• Plantas de musáceas (<i>Musa</i> AAA cultivar Gros Michel y Cavendish)</li> </ul>	<p>Las plantas fueron reproducidas mediante propagación <i>in vitro</i>, las cepas de <i>Trichoderma</i> fueron repicadas de la colección del Departamento de Protección Vegetal (Fitopatología) de la EET-Pichilingue del INIAP. La colonia de <i>F. oxysporum</i> fue aislado de una plantación con presencia de la enfermedad. La severidad de</p>	<p>Características morfológicas de <i>Trichoderma</i>.</p> <p>Estado fenológico de vitroplantas de banano Gros Michel y Cavendish.</p> <p>Escalas evaluativas.</p>	<p>Porcentaje de control de <i>Trichoderma</i> sobre <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i> cubense</i>.</p>	<p>Cuantitativas Cualitativas</p>	

DEPENDIENTE	Evaluación de la incidencia y severidad del antagonismo de <i>Trichoderma</i> y <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i> cubense</i> .	la enfermedad se evaluó según el grado de daño expresado, tanto síntomas internos y externos (Tabla 1). La incidencia fue evaluada a los 7 días que la primera planta presento síntomas externos característicos de la enfermedad, esta fue calculada por el número de plantas con sintomatología de la enfermedad y el total de plantas enfermas	La acción antagónica de <i>Trichoderma</i> sobre <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i> cubense</i> para banano Gros Michel y Cavendish bajo condiciones controladas,	Incidencia y severidad de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i> cubense</i> .	Cuantitativas Cualitativas	Escala de Severidad de 6 niveles.
-------------	---	---	--	---	-------------------------------	-----------------------------------

## **2.3. Población**

Se utilizó un número de individuos de 450 vitroplantas de Gros Michel y Cavendish pre-aclimatadas y en fase IV las cuáles fueron las unidades de evaluación. De estas se seleccionaron diez muestras por cada tratamiento.

## **2.4. Técnicas de Recolección de Datos**

La investigación se dividió en dos fases:

- i) Bioensayos *in vitro* que se realizaron en el laboratorio,
- ii) Evaluación de las vitroplantas inoculadas en el umbráculo.

### **2.4.1. Actividad 1. Fase de laboratorio**

#### **2.4.1.1. Repique de la colección de *Trichoderma* spp.**

Los aislados de *Trichoderma* spp. (*T. harzianum*, *T. asperellum* y *T. virens*) procedieron de la colección del Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Protección Vegetal de la EETP del INIAP. Los aislados se repicaron en tubos de ensayos con medio de cultivo Potato Dextrosa Agar (PDA), después de cinco a seis días se observaron con microscopía de luz, siguiendo las guías de identificación de *Trichoderma* y se seleccionaron las colonias que se usaron en la investigación.

#### **2.4.1.2. Activación de aislados de *Trichoderma* spp.**

Las colonias de *Trichoderma* se repicaron en PDA con palillos de zanahoria para activar los aislados *T. harzianum* (C3), *T. virens* (LP3) y *T. asperellum* (C2) (Terrero, et al., 2018), luego se repicaron en tubos de ensayo con PDA y Platos Petri para el uso en los bioensayos. La caracterización morfológica se realizó con microscopía (Anexo 6)

#### **2.4.1.3. Compatibilidad entre *T. harzianum*, *T. virens* y *T. asperellum***

Se hicieron pruebas de crecimiento de los aislados *T. harzianum*, *T. virens* y *T. asperellum*, para determinar la inhibición entre ellas. Se colocó un disco de

micelio (5 mm de diámetro) con crecimiento de *T. harzianum*, en el extremo de una placa Petri (9 cm de diámetro) con medio PDA. En el otro extremo de la placa se inoculó *T. virens*, y así mismo en otra placa *T. asperellum*, considerando las combinaciones de cada aislado. El crecimiento de *Trichoderma* spp., se midió a las 24 horas de la siembra, el crecimiento sobre el aislado sin zona de inhibición fue considerado como compatibilidad entre ambos microorganismos (Silva, 2018) (Anexo 7).

#### **2.4.1.4 Compatibilidad entre *T. harzianum*, *T. virens* y *T. asperellum* y el fungicida captan.**

Se realizó un ensayo *in vitro* para determinar la susceptibilidad de las cepas de *Trichoderma* ante el fungicida Captan, en platos Petri con PDA+ Captan, a dosis de 2 g. L<sup>-1</sup>., En el centro de cada placa se colocó un disco de micelio (5 mm de diámetro) con crecimiento de las diferentes cepas de *Trichoderma*, se incubaron a 25°C y se evaluaron diariamente el crecimiento radial (mm) de los hongos. La evaluación concluyó cuando el testigo *Trichoderma* sin Captan cubrió toda la placa Petri (Pande et al. 1982) (Anexo 8).

En el ensayo por conidias se aplicaron esporas de las diversas cepas de *Trichoderma* en concentración de  $1 \times 10^6$  ufc/ml., a las 24 horas de la siembra se contabilizó el número de unidades formadoras de colonias (ufc) germinadas, se consideró una espora germinada con la presencia del crecimiento del tubo germinativo (Aceves et al., 2008).

#### **2.4.1.5. Propagación *in vitro* de cultivares Gros Michel y Cavendish.**

Las vitroplantas de banano de los cultivares Gros Michel y Cavendish fueron proporcionados por el Departamento de Biotecnología de la EETP del INIAP, las cuales se propagaron mediante el sistema *in vitro* de meristemos, se usaron una vez que estas llegaron a la fase de desarrollo de 4 hojas en condiciones de laboratorio y una vez que culminó la fase de enraizamiento. Anexo 9.

#### **2.4.1.6. Protocolo para el desarrollo de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.**

El aislamiento, identificación morfológica, multiplicación y preparación de suspensión de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, se realizó siguiendo la metodología propuesta por Lara (2009). Se recolectaron muestras de tejido vegetal del pseudotallo de una planta cv Gros Michel con síntomas característicos de la enfermedad. Las muestras se colocaron en bolsas plásticas y se trasladaron al Laboratorio de Fitopatología, donde se realizó el aislamiento y purificación del hongo *F. oxysporum* f.sp. *cubense*. Anexo 10.

Las muestras de tejido vegetal se lavaron con agua corriente para remover impurezas adheridas. Se desinfectaron sumergiéndolos en una solución de hipoclorito de sodio (1,5%) durante tres minutos, seguidamente se hicieron tres lavados con agua destilada esterilizada, se cortaron segmentos de aproximadamente 5mm<sup>2</sup> que se pasaron a papel filtro para eliminar el exceso de agua. Se colocaron cinco segmentos en cada plato Petri con PDA y ácido láctico al 85% (para prevenir el crecimiento de bacterias). Los platos se incubaron a 24 °C durante cinco días. El micelio de *Fusarium* desarrollado en los segmentos de tejido vegetal fue subcultivado durante 10 días en platos Petri con PDA y se identificaron por microscopía de luz y macroscópicamente para determinar la apariencia del micelio y pigmentación de las colonias. Los aislamientos de *Foc* recolectados se almacenaron en tubos de ensayo y Platos Petri con PDA. Una vez observado los caracteres morfológicos, se purificaron las colonias que fenotípicamente se asemejaron a *Fusarium* spp. Y se realizó la extracción de ADN en el Laboratorio de Biotecnología junto con la secuenciación para la confirmación molecular de la especie. Anexo 11.

#### **2.4.1.7. Cultivos duales *Trichoderma* spp. contra *Fusarium***

Para las pruebas de enfrentamiento de los hongos, se usó la técnica de cultivo dual en platos Petri, conteniendo 15 ml de PDA. Se realizó una siembra anticipada dado que el crecimiento del patógeno (*Foc*) es lento en comparación a *Trichoderma*, se colocó en un extremo de la placa Petri un disco (5 mm de diámetro) de PDA con micelio del patógeno *Foc*, a los 3 días de la siembra en el extremo



opuesto se sembró el disco con micelio del antagonista *Trichoderma* spp., a 5 cm aproximadamente entre ellos, repitiendo el proceso en cada cepa Anexo 5. En placas separadas, se sembró un disco de PDA con los hongos de cada antagonista y del patógeno los mismos que sirvieron como parte del testigo. Los cultivos se incubaron a  $25\pm 1$  °C, durante 5 días, y se realizaron las mediciones del crecimiento radial del micelio de las colonias cada 24 h a partir de la siembra, al 3er y 4to día se aplicó la escala de capacidad antagónica (Silva, 2018) Anexo 12.

#### **2.4.1.8. Preparación del inóculo de *Trichoderma* spp.**

Los aislamientos de *Trichoderma* spp., se cultivaron en platos Petri con PDA, se removieron las esporas agregando 5 ml de agua estéril sobre el plato Petri y removiendo suavemente el micelio con una espátula. La solución obtenida se filtró con gasa para obtener la suspensión de esporas. De cada suspensión se contaron las esporas utilizando la cámara de Neubauer y se ajustó a una concentración de  $1\times 10^6$  conidias  $\text{ml}^{-1}$  (Ramos, 2006) Anexo 13.

#### **2.4.1.9. Preparación del inóculo de *Fusarium oxysporum*.**

La suspensión de esporas se realizó con cultivos de *Foc* de 10 días cultivados en PDA. A cada placa Petri se agregaron 5 ml de agua y con la ayuda de una espátula plástica se removieron las esporas y el micelio, la solución obtenida se filtró por medio de una gasa para separar el micelio de las esporas y se llevó a un volumen de 100 ml. Se realizó el conteo de las conidias en la cámara de Neubauer y la solución se ajustó a una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios  $\text{ml}^{-1}$ .

### **2.4.2 Actividad 2. Fase de umbráculo**

#### **2.4.2.1 Inoculación de vitroplantas de musáceas con los aislados de *Trichoderma* spp.**

Se inocularon las vitroplantas de banano (Gros Michel y Cavendish) iniciada la fase de pre-aclimatación en umbráculo, usando una jeringa estéril se colocó 1ml de la suspensión  $1 \times 10^6$  de conidias de las diferentes cepas de *Trichoderma* spp.,

cerca del área radicular de las vitroplantas que se encontraban en las bandejas plásticas con un sustrato de suelo relación 3-2 (tierra turba y pomino), una vez culminada la inoculación las bandejas fueron colocadas en fundas plásticas donde permanecieron 4 días, a partir de allí se las retiro para proceder a rociar agua después de un par de horas se volvió a enfundar por 3 días más, para luego proceder a mantenerlas en el umbráculo durante 4 semanas, rociando agua cada dos días o según como se mantenga el sustrato Anexo 14.

#### **2.4.2.2 Inoculación de vitroplantas de musáceas con aislados de *Fusarium oxysporum f. cubense*.**

Para el bioensayo etapa final de pre-aclimatacion se utilizó 180 plantas de banano Gros Michel y 60 de Cavendish, se colocaron en fundas plásticas de 6x8 con una cantidad de 3 partes de arena, 3 partes de cascarilla de arroz, 2 partes de arena de rio, ½ parte de tierra. A las dos semanas se procedió a la inoculación, se realizó colocando al suelo 5 ml de las suspensiones de *Foc* a una concentración de  $1 \times 10^6$  conidias  $\text{ml}^{-1}$ , por lo que antes de la inoculación se ocasionó un daño físico al sistema radicular, usando una pipeta Pasteur haciendo orificios alrededor de las raíces, para que el hongo ingrese. Se estableció un testigo absoluto de vitroplantas sin inoculación de *Foc*, solamente añadiendo 5 ml de agua esterilizada. Los tratamientos con *Trichoderma* spp., y *Foc* fueron distribuidos al azar en el umbráculo, donde permanecieron durante seis semanas Anexo 15 (Lara, 2009).

#### **2.4.2.3. Desplazamiento de raíz y secado de las plantas con tratamientos de *Trichoderma* spp.**

A los 30 días se colectaron en bolsas de papel 6 muestras de plantas inoculadas con *Trichoderma* spp, se llevaron al área de lavado del laboratorio se colocaron en vasos de precipitación donde permanecieron en remojo con agua destilada por aproximadamente 1 hora, después se procedió a realizar dos lavados y colocarlas en papel toalla para proceder al corte de raíz y medir basándose en el principio de Arquímedes introduciendo la raíz en una probeta con agua (21 ml) y proceder a la evaluación. La mitad de estas plantas fueron secadas en una estufa

a 70° por 24 horas y las restantes fueron usadas para la recuperación de *Trichoderma*. Anexo 3-4.

#### **2.4.2.4. Recuperación de aislados de *Trichoderma* spp.**

Concluido el ensayo a los 30 días se recolectaron muestras del sustrato de las plantas, que se analizaron en el laboratorio de Fitopatología, a través de la técnica de diluciones seriada en placa Petri, para observar la presencia de las colonias de *Trichoderma* (Burgos, 2017). Se utilizaron 3 plantas inoculadas con *Trichoderma*, por tratamiento y se procedió a lavarlas con agua corriente y se esterilizaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 5% durante 1 minuto, se realizaron tres enjuagues con agua destilada estéril y se colocaron en papel toalla. Se cortaron segmentos numerados de la planta (raíz, tallo y hojas) que se inocularon en placas Petri con PDA a una temperatura de 25±1 °C, durante 5 días, para observar la colonización de *Trichoderma* spp., Anexo 16 - 17.

#### **2.4.2.5. Recuperación de aislados de *Fusarium* spp.**

Al concluir el experimento, se recolectaron las diez vitroplantas inoculadas con *Fusarium*, que presentaron sintomatología del patógeno y 10 gramos de suelo. Las muestras se llevaron en bolsas plásticas al laboratorio de fitopatología, donde fueron procesadas. Las muestras de tejido vegetal se lavaron con agua corriente para remover impurezas y se desinfectaron sumergiéndolos en una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante tres minutos, seguidamente se hicieron tres lavados con agua destilada esterilizada, se cortaron segmentos de aproximadamente 5mm<sup>2</sup> de las áreas con síntomas visibles, cada fragmento se colocó en el plato Petri con PDA, se realizaron tres repeticiones y se incubaron a 25°C durante siete días.

Las muestras del sustrato, se secaron y se depositó 1 gr en 9 ml de agua esterilizada, se homogenizó por un minuto y se procedió con las diluciones 1x10<sup>x5</sup>. Se colocó 1 ml de la dilución en los 9 ml de PDA y se añadió al plato Petri, repitiendo el proceso para cada una de las diluciones, se incubaron entre 25 a 27°C en

ambiente de laboratorio, durante 24 - 48 horas y se purificaron las colonias que eran similares a *Fusarium* spp. (Dita, Echegoyén y Perez, 2013).

Con microscopía y usando la guía de identificación de Barnett y Hunter (1972) se procedió a identificar los caracteres morfológicos con el tamaño y forma de macroconidios o con presencia o ausencia de microconidios, formación de clamidosporas y estructura de los conidióforos de las colonias obtenidas.

Las colonias fueron procesadas en el departamento de Biotecnología para realizar la secuenciación de ADN, que permita realizar el análisis molecular de la especie y confirmar el patógeno.

## 2.5. Estadística Descriptiva e Inferencia

Los resultados se analizaron utilizando el programa de Excel staff y el programa de Infostat®, a través del cual se efectuaron las pruebas estadísticas, normalidad, análisis de varianza y para separar las medias de tratamientos, se realizó la prueba de medias de Tukey con una significación del 0,05%.

## 2.6. Diseño Experimental

El primer ensayo se realizó en laboratorio, este correspondió a la prueba de compatibilidad de tres cepas de *Trichoderma* spp., que se detalla en la tabla 3 (factor de estudio), los tratamientos en la tabla 4, 5, 6, 7 y el ANDEVA en la tabla 8.

Tabla 3. Factor de estudio cepas de *Trichoderma* spp.

Organismos (especies)	Descripción
A	<i>Trichoderma harzianum</i> C3
B	<i>Trichoderma asperellum</i> C2
C	<i>Trichoderma virens</i> LP3

Fuente: Mayorga (2021)

Los tratamientos de la combinación de *Trichoderma* spp. (tabla 3) se repitieron cinco veces. La unidad experimental correspondió a un plato Petri con los organismos confrontados como se detalló en la tabla 4, 5, 6, y 7.

Tabla 4. Tratamientos en estudio para confrontación individual de *Trichoderma spp.*

<b>N°</b>	<b>Descripción</b>
<b>1</b>	A
<b>2</b>	B
<b>3</b>	C

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 5. Tratamientos en estudio para confrontación de cepas pares de *Trichoderma spp.*

<b>N°</b>	<b>Descripción</b>
<b>4</b>	A X B
<b>5</b>	B X A
<b>6</b>	A X C
<b>7</b>	C X A
<b>8</b>	B X C
<b>9</b>	C X B
<b>13</b>	A X A <sub>1</sub>
<b>14</b>	A <sub>1</sub> X A
<b>15</b>	B X B <sub>1</sub>
<b>16</b>	B <sub>1</sub> X B
<b>17</b>	C X C <sub>1</sub>
<b>18</b>	C <sub>1</sub> X C

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 6. Tratamientos en estudio para confrontación de cepas iguales de *Trichoderma spp.*

<b>N°</b>	<b>Descripción</b>
<b>19</b>	A X A <sub>1</sub> X A <sub>2</sub>
<b>20</b>	A <sub>1</sub> X A X A <sub>2</sub>
<b>21</b>	A <sub>2</sub> X A <sub>1</sub> X A
<b>22</b>	B X B <sub>1</sub> X B <sub>2</sub>
<b>23</b>	B <sub>1</sub> X B X B <sub>2</sub>
<b>24</b>	B <sub>2</sub> X B <sub>1</sub> X B
<b>25</b>	C X C <sub>1</sub> X C <sub>2</sub>
<b>26</b>	C <sub>1</sub> X C X C <sub>2</sub>
<b>27</b>	C <sub>2</sub> X C <sub>1</sub> X C

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 7. Tratamientos en estudio para confrontación de cepas diferentes de *Trichoderma* spp.

N°	Descripción
10	A X B X C
11	B X A X C
12	C X A X B

Fuente: Mayorga (2021)

Para el modelo estadístico se usó un arreglo factorial dispuesto en un diseño completamente al azar (DCA) con 27 tratamientos y cinco repeticiones, como se indica en el ANDEVA (tabla 8).

Tabla 8. Esquema del diseño de varianza (ANDEVA) para la compatibilidad entre cepas.

F. Variación	Desarrollo	GI
Tratamiento	(27-1)	26
Error	(27) (5-1)	108
Total	27*5-1	134

Fuente: Mayorga (2021)

Para el segundo ensayo compatibilidad entre el fungicida captan con *Trichoderma* spp., los tratamientos resultaron de las cepas que se detallaron en los factores de estudio (tabla 3), las mismas que fueron usadas con el fungicida Captan, para la evaluación de crecimiento micelial (mm). La unidad experimental correspondió a un plato Petri con el disco de la cepa de cada organismo en estudio, el mismo que se detalló en la tabla 9.

Tabla 9. Tratamientos con diferentes cepas de *Trichoderma* + fungicida Captan a una dosis de 2 g.L-1.

N°	Descripción
1	PDA+ Captan + disco de <i>T. harzianum</i>
2	PDA+ Captan + disco de <i>T. asperellum</i>
3	PDA+ Captan + disco de <i>T. virens</i>
4	PDA+ Testigo disco de <i>T. harzianum</i>
5	PDA+ Testigo disco de <i>T. asperellum</i>
6	PDA+ Testigo disco de <i>T. virens</i>

Fuente: Mayorga (2021)

En el Diseño estadístico se empleó un completamente al azar (DCA) con seis tratamientos y 5 repeticiones, como se indica en el ANDEVA (tabla 10).

Tabla 10. Esquema del diseño de varianza (ANDEVA) para la compatibilidad entre *Trichoderma* y Captan.

<b>F. Variación</b>	<b>Desarrollo</b>	<b>GI</b>
Tratamiento	(6-1)	5
Error	(6) (5-1)	24
Total	(6*5-1)	29

Fuente: Mayorga (2021)

El tercer estudio en el laboratorio fue un ensayo en cultivos duales de *Fusarium* raza 1 frente *Trichoderma* spp. Se evaluó el crecimiento micelial (mm) de *Fusarium* raza 1 con los factores de estudio que se detallaron en la tabla 3, los tratamientos en la tabla 11 y el ANDEVA en la tabla 12.

Los tratamientos resultaron de los factores de estudio (tabla 3) y el enfrentamiento de cada cepa de *Trichoderma* spp., contra *Foc*, cada tratamiento fue repetido cinco veces. La unidad experimental correspondió a un plato Petri con la cepa de *Trichoderma* frente a *Foc* y los testigos correspondientes, como se detalla en la tabla 11.

Tabla 11. Tratamientos para confrontación de *Trichoderma* frente a *Foc*.

<b>N°</b>	<b>Descripción</b>
1	<i>T. harzianum</i> + <i>Fusarium</i>
2	<i>Fusarium</i> + <i>T. harzianum</i>
3	<i>T. asperellum</i> + <i>Fusarium</i>
4	<i>Fusarium</i> + <i>T. asperellum</i>
5	<i>T. virens</i> + <i>Fusarium</i>
6	<i>Fusarium</i> + <i>T. virens</i>
7	Testigo <i>T. harzianum</i>
8	Testigo <i>T. asperellum</i>
9	Testigo <i>T. virens</i>
10	Testigo <i>Fusarium</i>

Fuente: Mayorga (2021)

El Diseño estadístico fue dispuesto en un completamente al azar (DCA) con diez tratamientos y 5 repeticiones, como se indicó en el ANDEVA (Tabla 12).

Tabla 12. Esquema del diseño de varianza ANDEVA para el ensayo en cultivo dual.

<b>F. Variación</b>	<b>Desarrollo</b>	<b>GI</b>
Tratamiento	(10-1)	9
Error	(10) (5-1)	40
Total	(10*5-1)	49

Fuente: Mayorga (2021)

El primer ensayo en umbráculo que correspondió a la biofortificación de Gros Michel y Cavendish con cepas de *Trichoderma* spp., se detalla en la tabla 13, los tratamientos en la tabla 14 y el ANDEVA en la tabla 15.

Tabla 13. Factores de estudio de los tratamientos para la biofortificación a nivel de umbráculo.

<b>Factores</b>	<b>Descripción</b>
<b>Factor A</b>	<b>A</b> <i>Trichoderma harzianum</i>
	<b>B</b> <i>Trichoderma asperellum</i>
	<b>C</b> <i>Trichoderma virens</i>
	<b>D</b> <i>T. harzianum</i> – <i>asperellum</i> – <i>virens</i>
<b>Factor B</b>	<b>E</b> Gros Michel
	<b>F</b> Cavendish
<b>Factor C</b>	<b>G</b> Con desinfección
	<b>H</b> Sin desinfección

Fuente: Mayorga (2021)

Los tratamientos fueron la combinación de factor A x B x C + T, en donde el factor A son las cepas de *Trichoderma* spp., el factor B los cultivares Gros Michel y Cavendish, y el factor C tratamiento con y sin desinfección. A estos tratamientos se les sumo dos testigos sin inoculación dando un total de 18 tratamientos, como se detalló en la tabla 14. La unidad experimental correspondió a una planta, se utilizaron 10 plantas en cada tratamiento, cada ensayo fue repetido 3 veces.



Tabla 14. Tratamientos para la biofortificación de las vitroplantas en condiciones de umbráculo.

N°	Código	Descripción
1	A + E + G	<i>Trichoderma harzianum</i> + Gros Michel + desinfección
2	A + F + G	<i>Trichoderma harzianum</i> + Cavendish + desinfección
3	B + E + G	<i>Trichoderma asperellum</i> + Gros Michel + desinfección
4	B + F + G	<i>Trichoderma asperellum</i> + Cavendish + desinfección
5	C + E + G	<i>Trichoderma virens</i> + Gros Michel + desinfección
6	C + F + G	<i>Trichoderma virens</i> + Cavendish + desinfección
7	D + E + G	<i>T. harzianum</i> – <i>T. asperellum</i> – <i>T. virens</i> + Gros Michel + desinfección
8	D + F + G	<i>T. harzianum</i> – <i>T. asperellum</i> – <i>T. virens</i> + Cavendish + desinfección
9	E + G	Testigo Gros Michel + desinfección
10	F + G	Testigo Cavendish + desinfección
11	A + E + H	<i>Trichoderma harzianum</i> + Gros Michel sin desinfección
12	A + F + H	<i>Trichoderma harzianum</i> + Cavendish sin desinfección
13	B + E + H	<i>Trichoderma asperellum</i> + Gros Michel sin desinfección
14	B + F + H	<i>Trichoderma asperellum</i> + Cavendish sin desinfección
15	C + E + H	<i>Trichoderma virens</i> + Gros Michel sin desinfección
16	C + F + H	<i>Trichoderma virens</i> + Cavendish sin desinfección
17	E	Testigo Gros Michel sin desinfección
18	F	Testigo + Cavendish sin desinfección

Fuente: Mayorga (2021)

Para el Diseño estadístico se utilizó un arreglo factorial A x B x C + T, dispuesto en un diseño completamente al azar (DCA) con 18 tratamientos y tres repeticiones, como se indicó en el ANDEVA (Tabla 15), la separación de media de tratamientos se realizó mediante la prueba de Tukey al 0.05%.

Tabla 15. Esquema del diseño de varianza (ANDEVA) para biofortificación.

F. Variación	Desarrollo	GI
Tratamiento	(18-1)	17
Error	(18) (3-1)	36
Total	18*3-1	53

Fuente: Mayorga (2021)

En el cuarto ensayo en laboratorio se realizó el desplazamiento de raíz de las plantas biofortificadas de Gros Michel y Cavendish, los factores de estudio se detallaron en la tabla 16, los tratamientos en la tabla 17 y el ANDEVA en la tabla 18.

Tabla 16. Factores de estudio de las cepas de *Trichoderma* spp.

<b>Factores</b>	<b>Descripción</b>
<b>A</b>	<i>Trichoderma harzianum</i>
<b>B</b>	<i>Trichoderma asperellum</i>
<b>C</b>	<i>Trichoderma virens</i>
<b>D</b>	<i>T. harzianum</i> – <i>T. asperellum</i> – <i>T. virens</i>

Fuente: Mayorga (2021)

Los tratamientos resultaron de la combinación de los factores de estudio (Tabla 16) La unidad experimental correspondió a 3 plantas biofortificadas a las que se le aplicó el tratamiento correspondiente como se detalla en la tabla 17 de tratamientos, cada ensayo fue repetido 3 veces.

Tabla 17. Tratamientos en estudio para el ensayo del volumen radicular en plantas biofortificadas.

<b>N°</b>	<b>Descripción</b>
1	Gros Michel + <i>T. harzianum</i>
2	Gros Michel + <i>T. asperellum</i>
3	Gros Michel + <i>T. virens</i>
4	Gros Michel + <i>T. harzianum</i> – <i>T. asperellum</i> – <i>T. virens</i>
5	Cavendish + <i>T. harzianum</i>
6	Cavendish + <i>T. asperellum</i>
7	Cavendish + <i>T. virens</i>
8	Cavendish + <i>T. harzianum</i> – <i>T. asperellum</i> – <i>T. virens</i>
9	Testigo Gros Michel
10	Testigo Cavendish

Fuente: Mayorga (2021)

El Diseño estadístico fue dispuesto en un completamente al azar (DCA) con diez tratamientos y tres repeticiones, como se indicó en el ANDEVA (Tabla 18).

Tabla 18. Esquema del diseño de varianza ANDEVA para el ensayo volumen radicular.

<b>F. Variación</b>	<b>Desarrollo</b>	<b>GI</b>
Tratamiento	(10-1)	9
Error	(10) (3-1)	20
Total	(10*3-1)	29

Fuente: Mayorga (2021)

En el quinto ensayo en laboratorio se realizó el peso seco de raíz, planta y el total de las plantas biofortificadas de Gros Michel y Cavendish, los factores de estudio se detallaron en la tabla 16, los tratamientos en la 17 y el ANDEVA en el cuadro 19

Tabla 19. Esquema del diseño de varianza ANDEVA para el ensayo peso seco (raíz, planta).

<b>F. Variación</b>	<b>Desarrollo</b>	<b>GI</b>
Tratamiento	(10-1)	9
Error	(10) (3-1)	20
Total	(10*3-1)	29

Fuente: Mayorga (2021)

El segundo ensayo en umbráculo que correspondió a la medición de pigmentación clorofílica (SPPAD) en las vitroplantas de Gros Michel y Cavendish con cepas de *Trichoderma* spp., se detalló en la tabla 20, los tratamientos en la tabla 21 y el ANDEVA en la tabla 22.

Tabla 20. Factores de estudio pigmentación clorofílica de los tratamientos.

<b>Factores</b>	<b>Descripción</b>
<b>Factor A</b>	<b>A</b> <i>Trichoderma harzianum</i>
	<b>B</b> <i>Trichoderma asperellum</i>
	<b>C</b> <i>Trichoderma virens</i>
	<b>D</b> <i>T. harzianum - asperellum – virens</i>
<b>Factor B</b>	<b>E</b> Gros Michel
	<b>F</b> Cavendish
<b>Factor C</b>	<b>G</b> Con desinfección
	<b>H</b> Sin desinfección

Fuente: Mayorga (2021)

Los tratamientos fueron la combinación de factor A x B x C + T en donde el factor A son las cepas de *Trichoderma* spp., el factor B los cultivares Gros Michel y Cavendish, el factor C tratamiento con y sin desinfección, a estos tratamientos se les sumo dos testigos sin inoculación dando un total de 18 tratamientos, como se detalló en la tabla 21. La unidad experimental correspondió a una planta, se utilizaron cuatro plantas en cada tratamiento, cada ensayo fue repetido 3 veces.

Tabla 21. Tratamientos para evaluar la pigmentación clorofílica.

N°	Código	Descripción
1	A + E + G	<i>Trichoderma harzianum</i> + Gros Michel + desinfección
2	A + C + G	<i>Trichoderma virens</i> + Gros Michel + desinfección
3	B + E + G	<i>Trichoderma asperellum</i> + Gros Michel + desinfección
4	D + E + G	<i>T. harzianum</i> – <i>T. asperellum</i> – <i>T. virens</i> + Gros Michel + desinfección
5	A + F + G	<i>Trichoderma harzianum</i> + Cavendish + desinfección
6	C + F + G	<i>Trichoderma virens</i> + Cavendish + desinfección
7	B + F + G	<i>Trichoderma asperellum</i> + Cavendish + desinfección
8	D + F + G	<i>T. harzianum</i> – <i>T. asperellum</i> – <i>T. virens</i> + Cavendish + desinfección
9	A + E + H	<i>Trichoderma harzianum</i> + Gros Michel sin desinfección
10	C + E + H	<i>Trichoderma virens</i> + Gros Michel sin desinfección
11	B + E + H	<i>Trichoderma asperellum</i> + Gros Michel sin desinfección
12	A + F + H	<i>Trichoderma harzianum</i> + Cavendish sin desinfección
13	C + F + H	<i>Trichoderma virens</i> + Cavendish sin desinfección
14	B + F + H	<i>Trichoderma asperellum</i> + Cavendish sin desinfección
15	E + G	Testigo Gros Michel + desinfección
16	F + G	Testigo Cavendish + desinfección
17	E + H	Testigo Gros Michel sin desinfección
18	F + H	Testigo + Cavendish sin desinfección

Fuente: Mayorga (2021)

Para el Diseño estadístico se utilizó un arreglo factorial A x B x C + T, dispuesto en un diseño completamente al azar (DCA) con 18 tratamientos y tres repeticiones, como se indicó en el ANDEVA (Tabla 22), la separación de media de tratamientos se realizó mediante la prueba de Tukey al 0.05%.

Tabla 22. Esquema del diseño de varianza (ANDEVA) para pigmentación clorofílica.

F. Variación	Desarrollo	GI
Tratamiento	(18-1)	17
Error	(18) (3-1)	36
Total	18*3-1	53

Fuente: Mayorga (2021)

El segundo estudio en el umbráculo se realizó la inoculación de *Fusarium* raza 1, en las plantas biofortificadas de Gros Michel, los factores de estudio se detallaron la tabla 23, los tratamientos tabla 24 y el ANDEVA tabla 25.

Tabla 23. Factores de estudio de cepas de *Trichoderma* spp.

<b>Factores</b>	<b>Descripción</b>
<b>A</b>	<i>Trichoderma harzianum</i>
<b>B</b>	<i>Trichoderma asperellum</i>
<b>C</b>	<i>Trichoderma virens</i>
<b>D</b>	<i>T. harzianum – T. asperellum – T. virens</i>

Fuente: Mayorga (2021)

Los tratamientos resultaron de la combinación de los factores de estudio (Tabla 23) La unidad experimental correspondió a 10 plantas biofortificadas a las que se le aplicó el tratamiento correspondiente como se detalla en la tabla 24 de tratamientos, cada ensayo fue repetido 3 veces.

Tabla 24. Tratamientos en estudio inoculación de vitroplantas con *Foc*.

<b>N°</b>	<b>Descripción</b>
1	Gros Michel + <i>T. harzianum</i> + <i>Fusarium</i>
2	Gros Michel + <i>T. asperellum</i> + <i>Fusarium</i>
3	Gros Michel + <i>T. virens</i> + <i>Fusarium</i>
4	Gros Michel + <i>T. harzianum – T. asperellum – T. virens</i> + <i>Fusarium</i>
5	Testigo Gros Michel + <i>Fusarium</i>
6	Testigo Gros Michel + agua
7	Testigo Cavendish + <i>Fusarium</i>
8	Testigo Cavendish + agua

Fuente: Mayorga (2021)

El experimento fue dispuesto en un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con 3 repeticiones, como se indicó en el ANDEVA (Tabla 25).

Tabla 25. Esquema del diseño de varianza ANDEVA de la inoculación de vitroplantas con *Foc*.

<b>F. Variación</b>	<b>Desarrollo</b>	<b>GI</b>
Total	(3*8-1)	23
Tratamiento	(8-1)	7
Repetición	(3-1)	2
Error	(8-1)(3-1)	14

Fuente: Mayorga (2021)

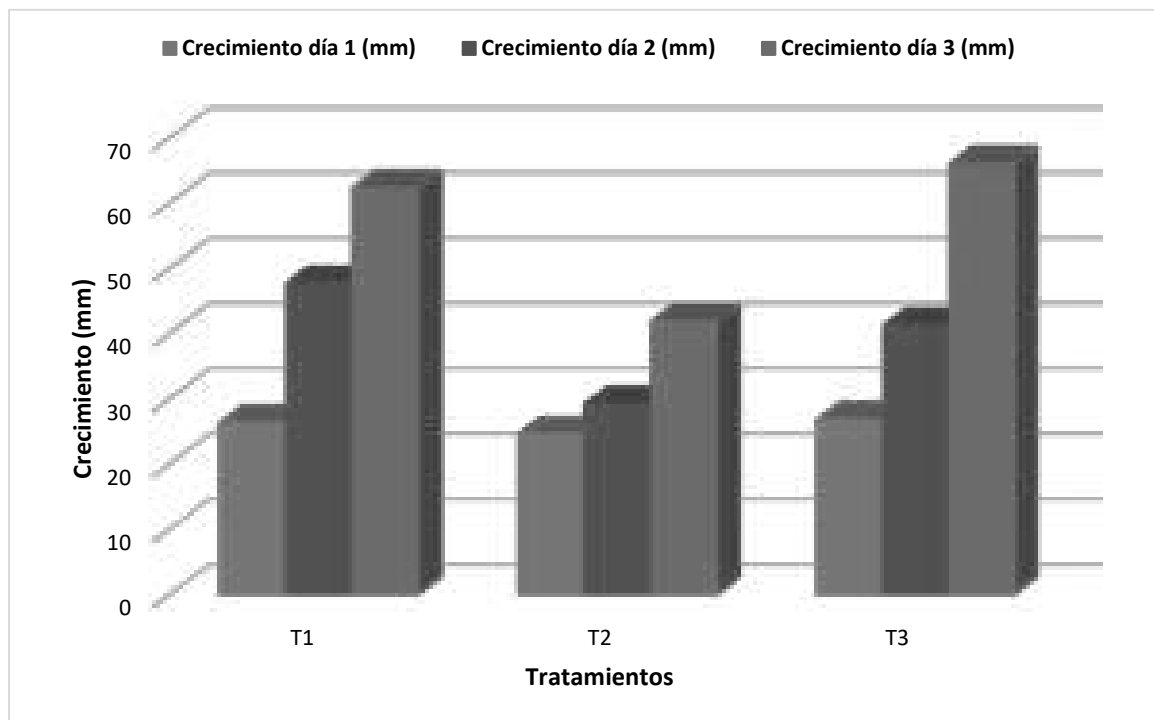
## RESULTADOS

### Compatibilidad entre las cepas de *T. harzianum*, *T. asperellum* y *T. virens*

En el ensayo de compatibilidad de las cepas de *Trichoderma* spp. se presentaron diferencias altamente significativas.

Para el día uno, en la evaluación de los tratamientos individuales, se presentaron los siguientes valores de crecimiento micelial promedio en (mm): T3 (*T. virens*, denominado C) con 26,82 mm, T1 (*T. harzianum*, denominado A) con 26,33 mm y el T2 (*T. asperellum*, denominado B) con 24,55 mm. En el día dos, el mayor crecimiento lo obtuvo el tratamiento T1 con 47,68 seguido de T3 41,55 y T2 29,22 mm. En el tercer día, T3 tuvo mejor crecimiento micelial con 66,05 mm, luego T1 con 62,33 mm y T2 siendo el de menor crecimiento con 41,87 mm (Gráfico 1).

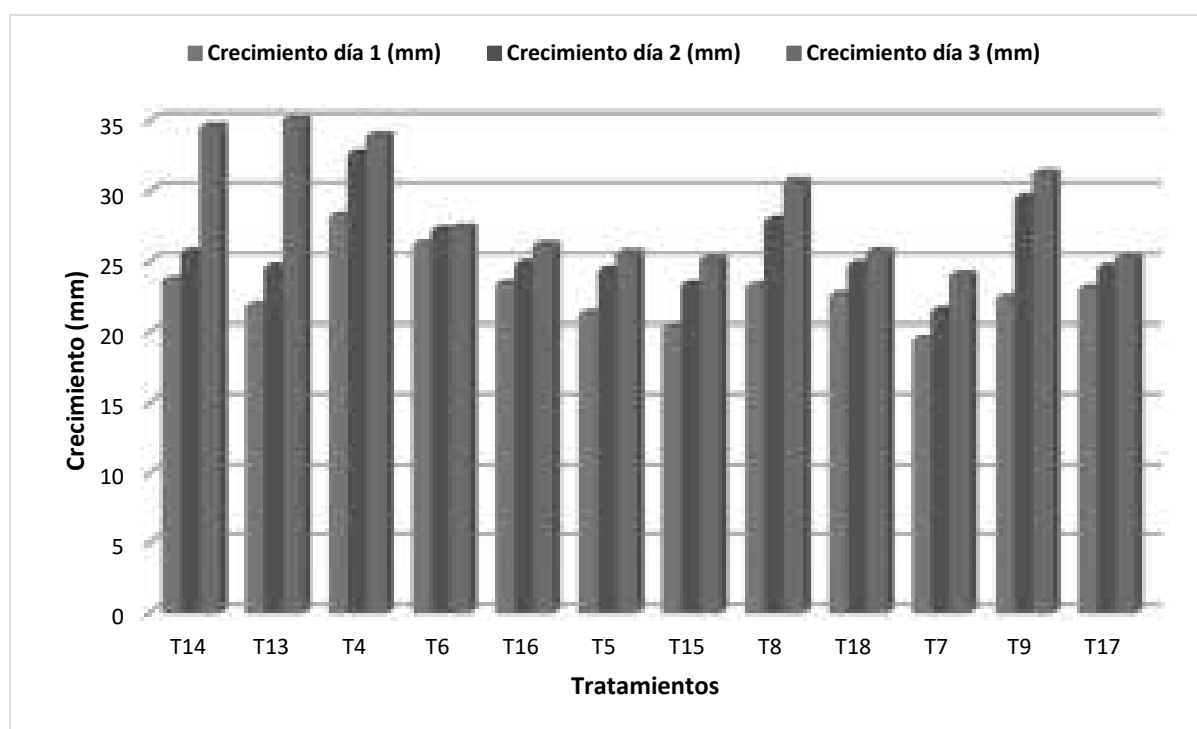
**Gráfico 1. Crecimiento micelial (mm) de tratamientos individuales de la compatibilidad entre cepas de *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* y *T. virens*, por un período de tres días.**



Fuente: Mayorga (2021)

En los enfrentamientos pares, se observó una media en el crecimiento micelial (mm) de 28,11, 32,52 y 33,79 para los días uno, dos y tres, respectivamente. T4 (AXB) fue el mejor tratamiento con 28,11 mm, seguido del T6 (AXC) con 26,11 mm, en el día uno. Los tratamientos con crecimiento medio del día uno fueron T14 (A1XA) con 23,57, T16 (B1XB) con 23,27, el T8 (BXC) con 23,11, el T17 (CXC1) con 22,94, T18 ((C1XC) con 22,49 y T9 (CXB) con 22,28. Los valores más bajos con media entre 21,75 y 19,31 mm fueron para los tratamientos T13 (AXA1), T5 (BXA), T15 (BXB1) y T7 (CXA). En el día dos, T4, T9, T8 y T6 correspondieron a los mejores tratamientos y T17, T5, T15 y T7 a los de menor crecimiento. En el día tres, T13, T14, T4, T7 alcanzaron valores entre 35,00 – 31,17 mm y los de menor crecimiento continuaron estando T5, T17, T15 y T7, entre 25,512 - 23,926 mm (Gráfico 2).

**Gráfico 2. Crecimiento micelial (mm) de tratamientos pares enfrentados en compatibilidad entre cepas de *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* y *T. virens*, por un período de tres días.**

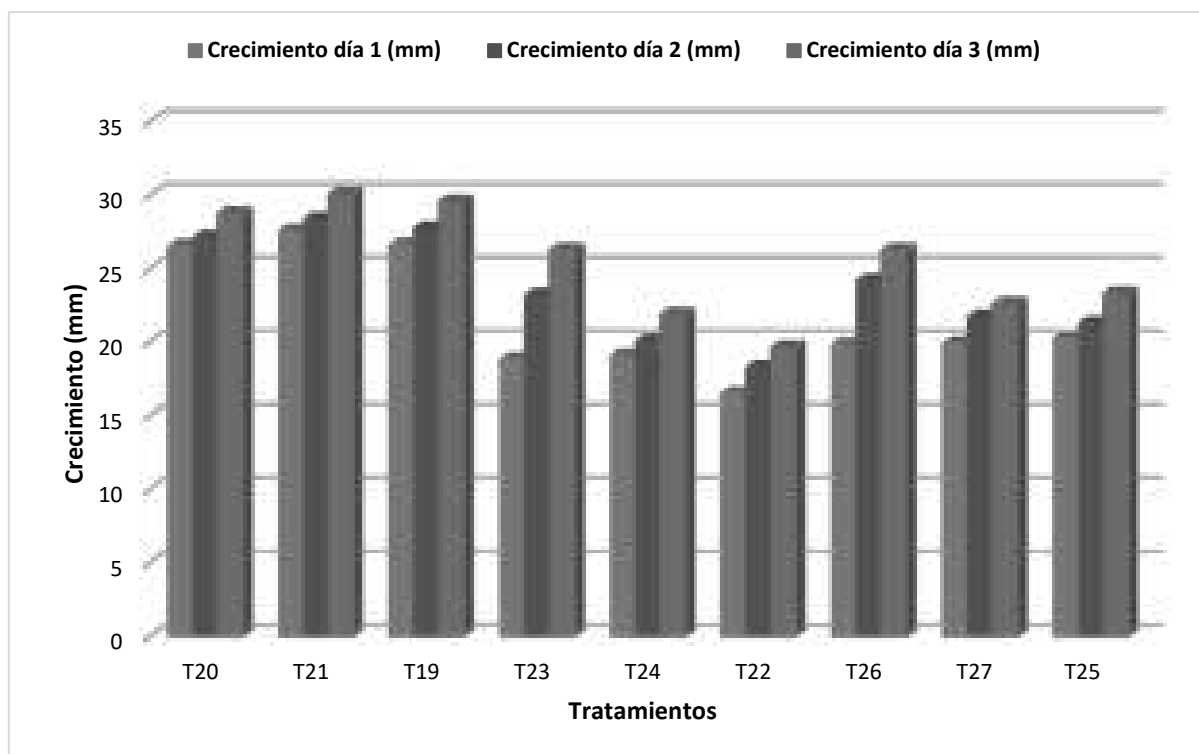


Fuente: Mayorga (2021)

En los enfrentamientos de tres cepas iguales en los días uno, dos y tres resultaron los mejores tratamientos el T21 (A2XA1XA) con 27,48, 28,31 y 30,02 mm, el T19 (AXA1XA2) con 26,55, 27,70 y 29,51 mm, el T20 (A1XAXA2) con 26,48, 27,06 y

28,70 mm. Siguieron los tratamientos T25 (CXC1XC2), T27 (C2XC1XC) y T26 (C1XCXC2) y de últimos los tratamientos T24 (B2XB1XB), T23 (B1XBXB2) y T22 (BXB1XB2) (Grafico 3).

**Gráfico 3. Crecimiento micelial (mm) de triples tratamientos enfrentados en compatibilidad entre cepas iguales de *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* y *T. virens*, por un período de tres días.**

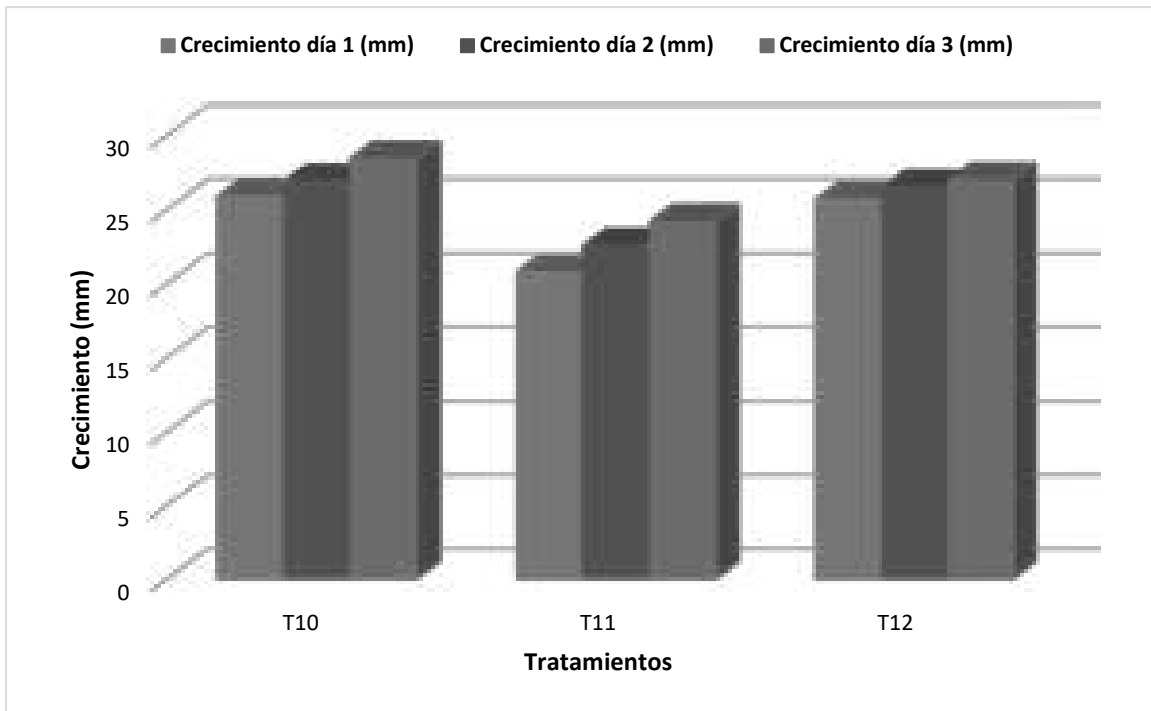


Fuente: Mayorga (2021)

En los tratamientos confrontados entre tres cepas diferentes, el mejor tratamiento para el día uno fue el T10 (AXBXC) con 25,86 mm, para el día dos 26,85 mm y el día tres 28,39 mm, seguido del T12 (CXAXB) con 25,67 mm en el día uno, 26,45 mm en el día dos y 26,94 mm en el día tres. Los valores más bajos resultaron para el tratamiento T11 (BXAXC) con 20,73, 22,53 y 24,12 mm, en los días uno, dos y tres, respectivamente, dado que todas las cepas son compatibles entre si (Gráfico 4).



**Gráfico 4. Crecimiento micelial (mm) de triples tratamientos enfrentados en compatibilidad entre cepas diferentes de *Trichoderma harzianum*, *T. asperellum* y *T. virens*, por un período de tres días**

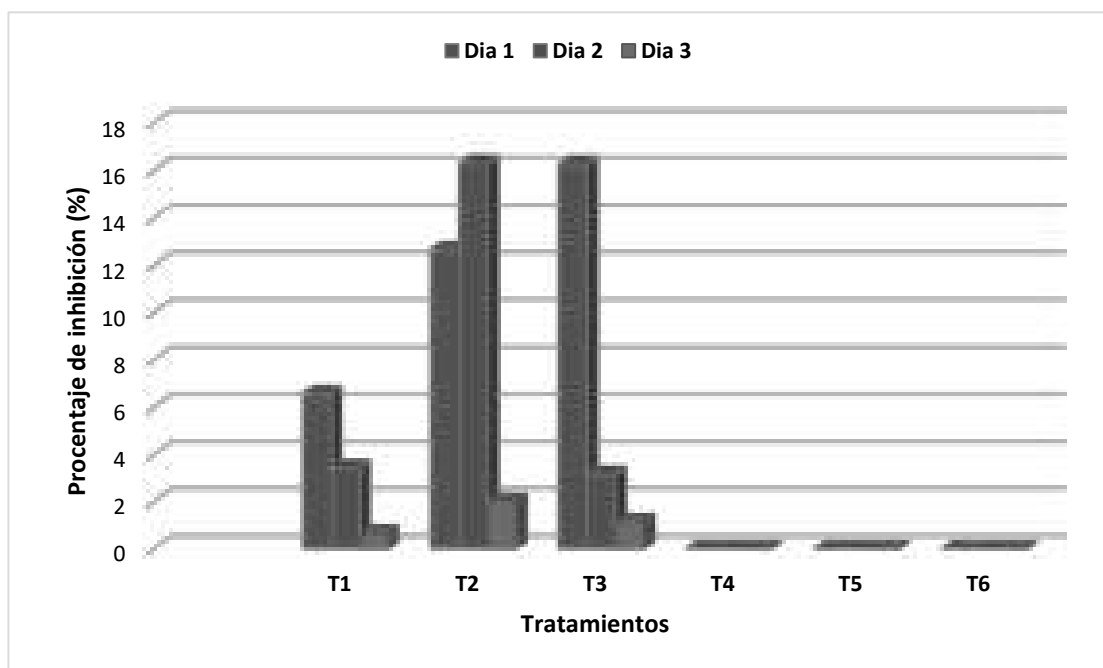


Fuente: Mayorga (2021)

### **Porcentaje de inhibición de las cepas de *Trichoderma* ante el fungicida Captan.**

En este ensayo, de acuerdo al análisis estadístico existen diferencias altamente significativas en el día uno y dos, mientras que el día tres las diferencias fueron significativas. Se obtuvieron los siguientes resultados: en T3 (*T. virens* Captan) hubo un 16,28% de inhibición en el crecimiento micelial del hongo, mientras que en T2 (*T. asperellum* Captan) el hongo se inhibió el 12,65% y por último el menos inhibido fue T1 (*T. harzianum* Captan) con el 6,59%. En el día dos, el mejor tratamiento fue T2 con un 16,30%, seguido de T1 con el 3,42 % y por último T3 con 3,16%. En el día tres, a diferencia de los días anteriores, la inhibición fue menor, siendo el tratamiento que mejor resultado presentó T2 con 2,01%, luego T3 con el 1,16% y por último T1 con 0,66% de inhibición. Las especies más inhibidas por el fungicida fueron *T. virens* en el primer día y *T. asperellum* en el segundo y tercer día. *T. harzianum* fue la especie menos afectada. (Gráfico 5).

**Gráfico 5. Porcentaje de inhibición de las especies de *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. asperellum* y *T. virens* ante el fungicida captan (2 g.L<sup>-1</sup>).**

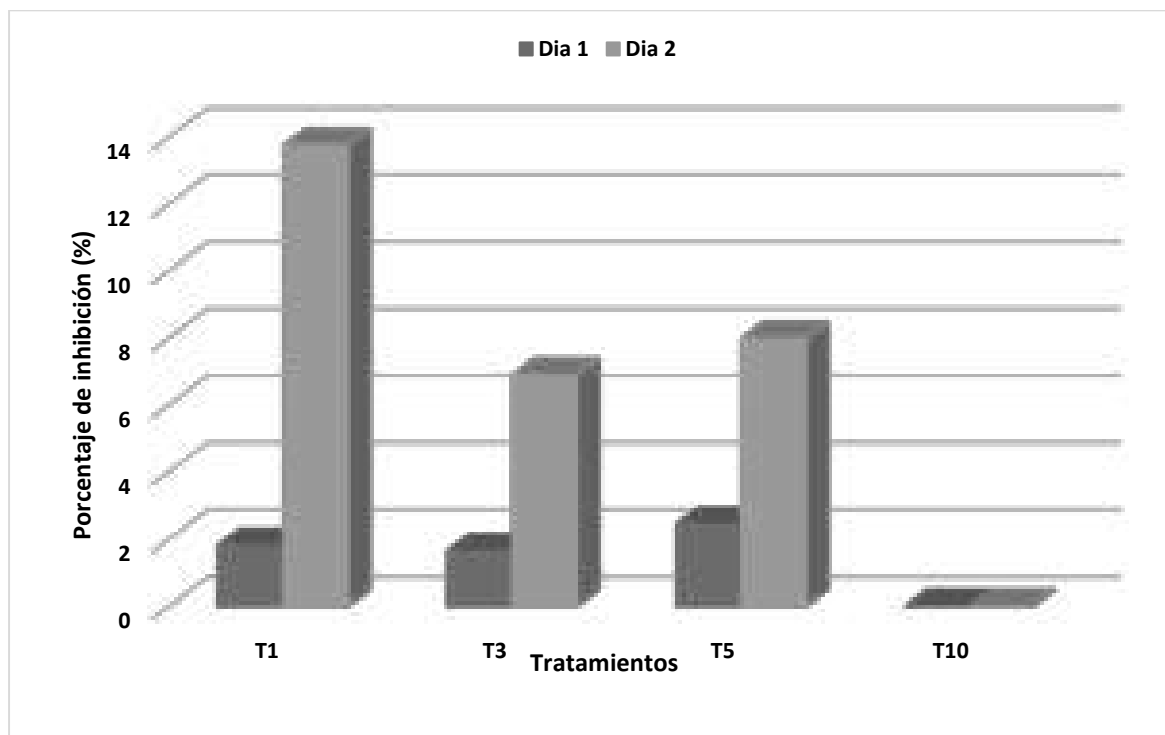


Fuente: Mayorga (2021)

**Porcentaje de inhibición de *Fusarium* raza 1 frente a las cepas de *Trichoderma* spp.**

En el día uno de evaluación no existió diferencia estadística, sin embargo, se observó un efecto en el porcentaje de inhibición de *Foc* frente a las cepas de *Trichoderma*, T5 (*T. virens Foc*) presentó un 2,45%, seguido por un 1,82% para T1 (*T. harzianum Foc*), y finalmente T3 (*T. asperellum Foc*) con el 1,65%. En el día dos, los resultados fueron altamente significativos, el porcentaje de inhibición de las cepas de *Trichoderma* frente a *Foc*, tuvieron como resultado al T1 (*T. harzianum*) como la mejor cepa inhibitoria con 13,76%, seguido del el T5 (*T. virens*) con 8,00 % y el T3 (*T. asperellum*) con 6,90%. Por otro lado, en el testigo de *Fusarium* raza 1 (T10) creció sin inhibición (Gráfico 6).

**Gráfico 6. Porcentaje de inhibición de Foc frente a *Trichoderma* spp. a.**



Fuente: Mayorga (2021)

**Promedio de Altura y diámetro de las vitroplantas de Gros Michel y Cavendish biofortificadas con las cepas de *Trichoderma* spp., con y sin captan.**

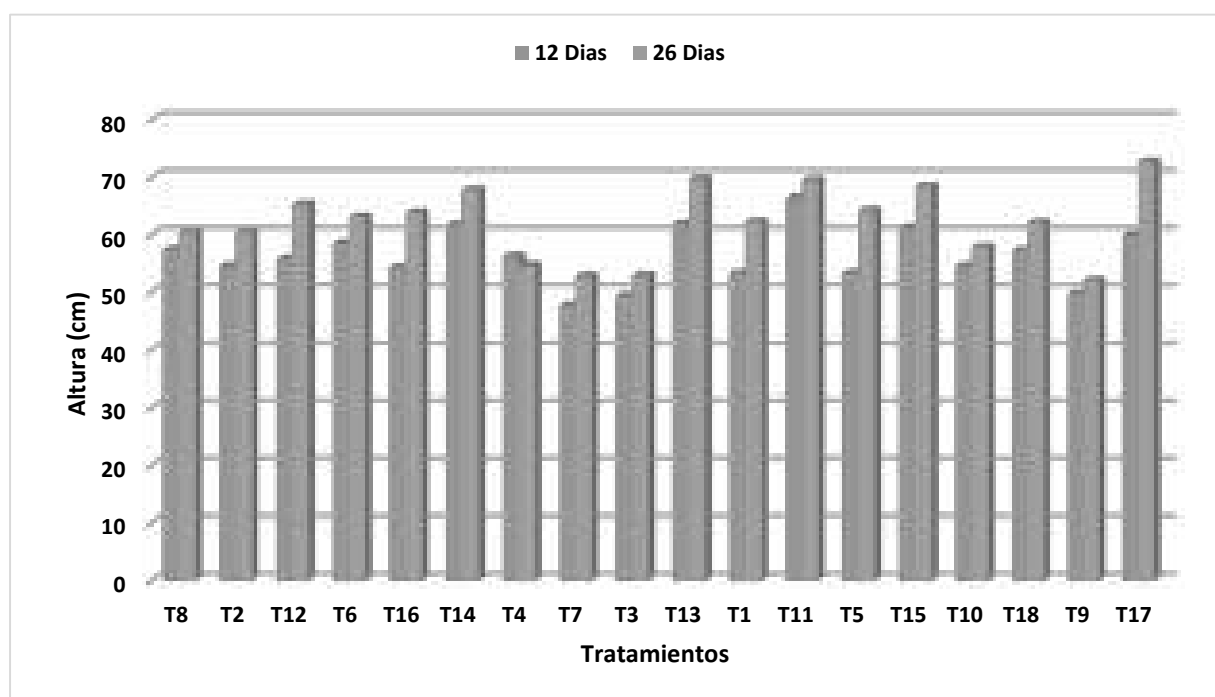
Se presentaron valores altamente significativos entre sus tratamientos de altura. Con respecto a la altura, en la variedad Gros Michel tuvo la mayor altura, a los 12 y 26 días, del experimento, cuando las plantas fueron biofortificadas con las 3 especies de *Trichoderma*, sin desinfección (T11, T13 y T15), con una altura final de 69,49, 69,63 y 68,37 cm respectivamente, sin embargo, el testigo sin *Trichoderma*, sin desinfección (T17), fue el más destacado con una altura de 72,55 cm, a los 26 ddi. Por otro lado, las vitroplantas Gros Michel biofortificadas con desinfección presentaron valores menores (T1, T3, T5, T7), al igual que el testigo (T9) (Gráfico 7).

Por su parte, la variedad Cavendish, se portó diferente, a los 12 días presentó la mayor altura en sus tratamientos sin fungicida en el T14 con 61,57 cm, seguido de T12 con 56,66 cm y T16 con 54,23 cm y con una altura similar a los tratamientos el T18 (testigo) con 57,25 cm. Para el ensayo con fungicida los tratamientos que

presentaron mayor altura fueron el T6 con 58,46, seguido de T8 con 57,39, T4 con 56,15 y T2 con 54,53 cm, con respecto al testigo T10 (testigo) con 54,51 cm. A los 26 días los tratamientos sin fungicida que mayor altura presentaron fueron el T14 con 67,62, seguido de T12 con 65,26 y el T16 con 63,79 cm. El testigo T18 con un valor menor a los tratamientos con 62,03 cm. Los tratamientos con fungicida presentaron una altura menor a los tratamientos sin fungicida T6 con 63,09, T2 con 60,44, T8 con 60,37 y el T4 tuvo un valor de 54,62 que es inferior al valor del T10 (testigo) con 57,83 cm (Gráfico 7).

En ambas variedades, la desinfección con el fungicida tuvo un efecto negativo en la altura de las plantas. En la variedad Cavendish, la biofortificación con las cepas de *Trichoderma* fue favorable para promover la altura de las plantas sin desinfección, sin embargo, este no fue el caso con la variedad Gros Michel.

**Gráfico 7. Promedio de la altura (cm) de las vitroplantas de Gros Michel y Cavendish con los tratamientos de *Trichoderma* spp., con y sin captan.**



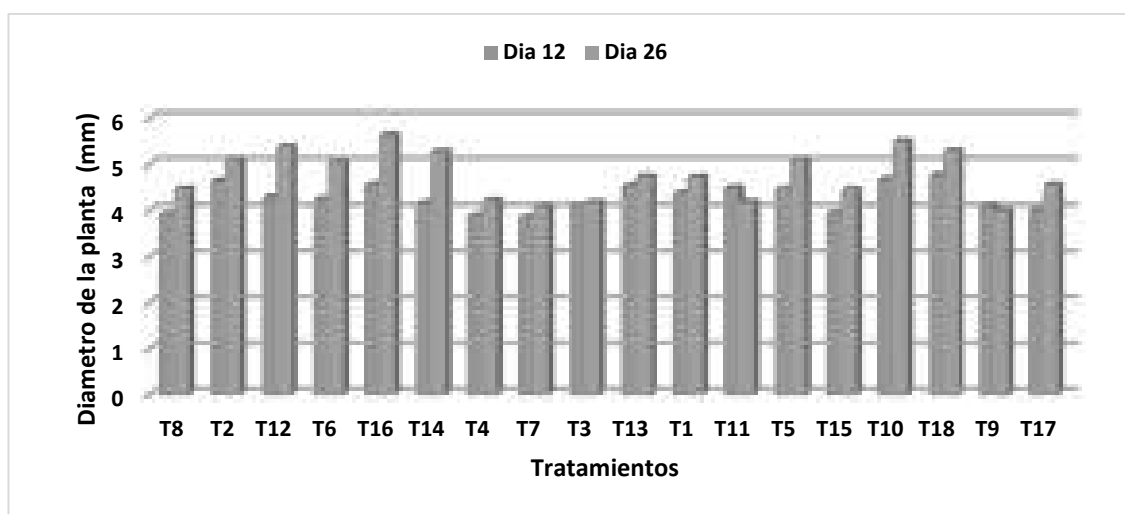
Fuente: Mayorga (2021)

En la variable diámetro del pseudotallo, los datos obtenidos fueron altamente significativos. En las plantas de Gros Michel, el diámetro del pseudotallo fue menor en comparación a la variedad Cavendish.

En Gros Michel, a los 12 días el mejor tratamiento sin fungicida fue el T13 con 4,53 mm, seguido del T11 con 4,49 mm y el T17 (Testigo) con 4,02 mm. El peor tratamiento resultó T15 con 3,94mm. En los tratamientos con fungicida, los que presentaron mejor diámetro fueron T5 con 4,46 seguido del T1 con 4,36, y T3 y T9 se comportaron igual con 4,11 mm. El de menor crecimiento fue T7 con 3,86 mm. A los 26 días el mejor tratamiento sin fungicida fue el T13 con 4,73 mm, seguido del T17 (testigo) con 4,56 mm. T15 y T11 con 4,46 y 4,17 mm resultaron los tratamientos con menor diámetro en comparación al testigo. Los tratamientos con fungicida que presentaron mayor diámetro fueron T5 con 5,09, seguido del T1 con 4,73 mm. T3 con 4,17, T7 con 4,1 y el T9 (testigo) con 4 mm obtuvieron los menores diámetros (Gráfico 8).

En la variedad Cavendish, a los 12 días, T18 (testigo, sin fungicida) con 4,76 mm presentó el mejor diámetro, seguido del T16 con 4,56 mm. Los de menor diámetro resultaron T12 con 4,27 y T14 con 4,16 mm. T10 (testigo, con fungicida) con 4,67 mm obtuvo el mayor diámetro, seguido de T2 con 4,65mm. Los de menor diámetro resultaron T6 con 4,24, T8 con 3,92 y T4 con 3,89 mm. A los 26 días el mejor tratamiento sin fungicida fue el T16 con 5,63 mm seguido del T12 con 5,38, el T18 (testigo) con 5,29 y T14 5,28 mm. En el tratamiento con fungicida, el T10 (testigo) tuvo el mayor diámetro con 5,50, seguido del T2 con 5,10, el T6 con 5,07 mm. Los menores diámetros fueron T8 y T4 con 4,48 y 4,21 mm (Gráfico 8).

**Gráfico 8. Promedio del diámetro (mm) de las vitroplantas de Gros Michel y Cavendish, biofortificadas con *Trichoderma* spp., con y sin captan.**



Fuente: Mayorga (2021)

**Recuperación de las cepas de *Trichoderma* spp. en las vitroplantas de banano Gros Michel y Cavendish a los 30 ddi.**

La recuperación de las especies de *Trichoderma* se detalla en la tabla 3. Una vez que se evidenció el crecimiento del micelio de los hongos en los medios de cultivo PDA, se verificaron con el uso de microscopía óptica para las dos variedades. En el caso de *T. asperellum* y *T. virens*, estas especies se desarrollaron en toda la planta. Se pudo evidenciar que *T. virens* resultó antagonista a otros hongos patógenos en las placas Petri. Por otro lado, *T. harzianum* solo creció en los tallos y raíces. En los tratamientos con las tres especies (*T. mix*) se observó la presencia de *T. asperellum* y *T. virens* en las hojas, se evidenciaron las tres cepas en los tallos, y en raíces solo se recuperaron *T. harzianum* y *T. virens*. En el testigo no hubo presencia de las cepas (Anexo 17).

**Tabla 26. Recuperación de *Trichoderma* spp. en plantas de Gros Michel y Cavendish**

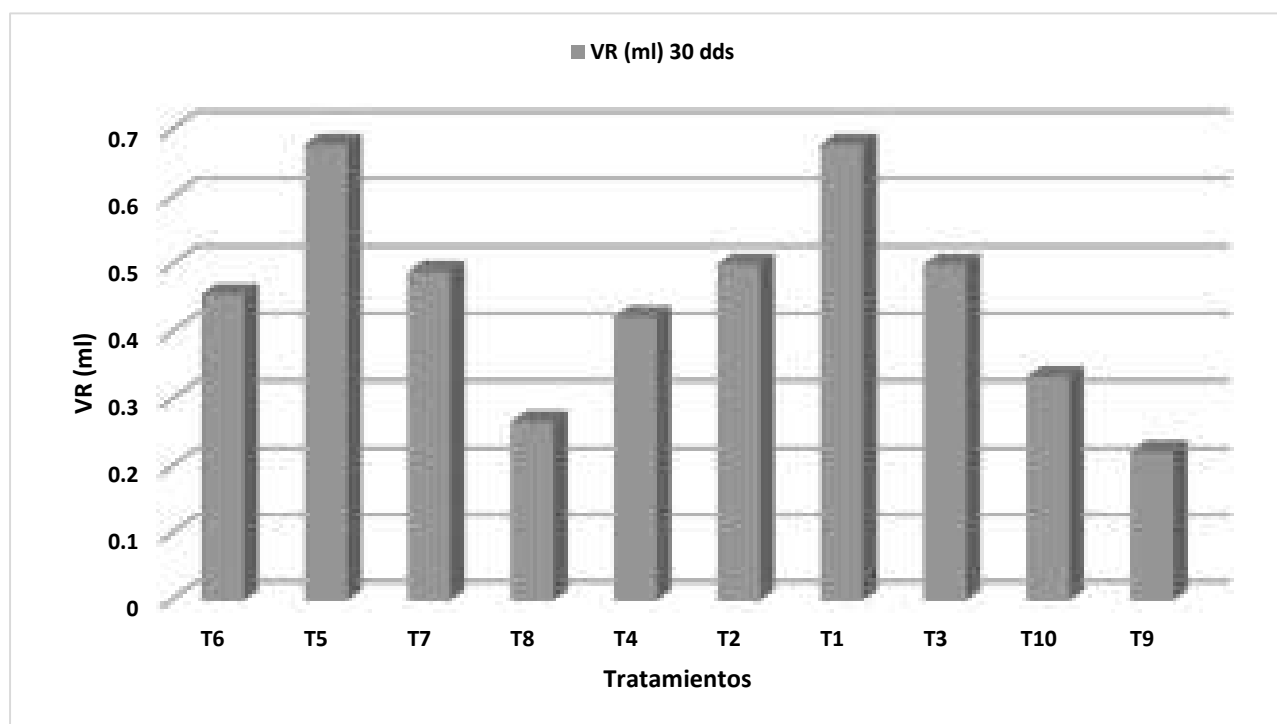
<b>Cavendish y Gros Michel</b>	<b><i>T. asperellum</i></b>	<b><i>T. harzianum</i></b>	<b><i>T. virens</i></b>	<b><i>T. mix</i></b>	<b>Testigo</b>
Hoja	Crecimiento	No crece	Crecimiento	<i>T. asperellum</i> y <i>T. virens</i>	Sin presencia de
Tallo	Crecimiento	Crecimiento	Crecimiento	<i>T. asperellum</i> , <i>T. virens</i> y <i>T. harzianum</i>	<i>Trichoderma</i> spp.
Raíz	Crecimiento	Crecimiento	Crecimiento	<i>T. harzianum</i> y <i>T. virens</i>	
			Antagoniza a otros hongos		

Fuente: Mayorga (2021)

### Volumen radicular de las vitroplantas Gros Michel y Cavendish con los tratamientos de las cepas de *Trichoderma* spp., a los 30 días.

Existen diferencias altamente significativas para los tratamientos con los cultivares Gros Michel y Cavendish inoculados con las cepas de *Trichoderma* spp. El mejor tratamiento tanto para Gros Michel como para Cavendish fueron los tratamientos T1 y T5 (con *T. harzianum*) con 0,68 ml de volumen radicular, seguido de los tratamientos de Gros Michel T3 (*T. virens*) y T2 (*T. asperellum*) que presentaron el mismo valor de 0,50 ml. El cultivar Cavendish, T7 (*T. virens*) con 0,49 y T6 (*T. asperellum*) con 0,46 ml. El tratamiento T4 de Gros Michel y T8 de Cavendish inoculadas con las tres especies de *Trichoderma* resultaron con el menor volumen radicular de 0,42 y 0,27 ml, respectivamente. Los testigos de los dos cultivares sin inocular (T10 y T9) tuvieron 0,33 y 0,22 ml, lo cual fue indicativo del beneficio de *Trichoderma* para las vitroplantas con respecto a este parámetro (Gráfico 9) (Anexo 18).

**Gráfico 9. Volumen radicular (ml) de las vitroplantas de Gros Michel y Cavendish inoculadas con cepas de *Trichoderma* spp., a los 30 ddi.**



Fuente: Mayorga (2021)

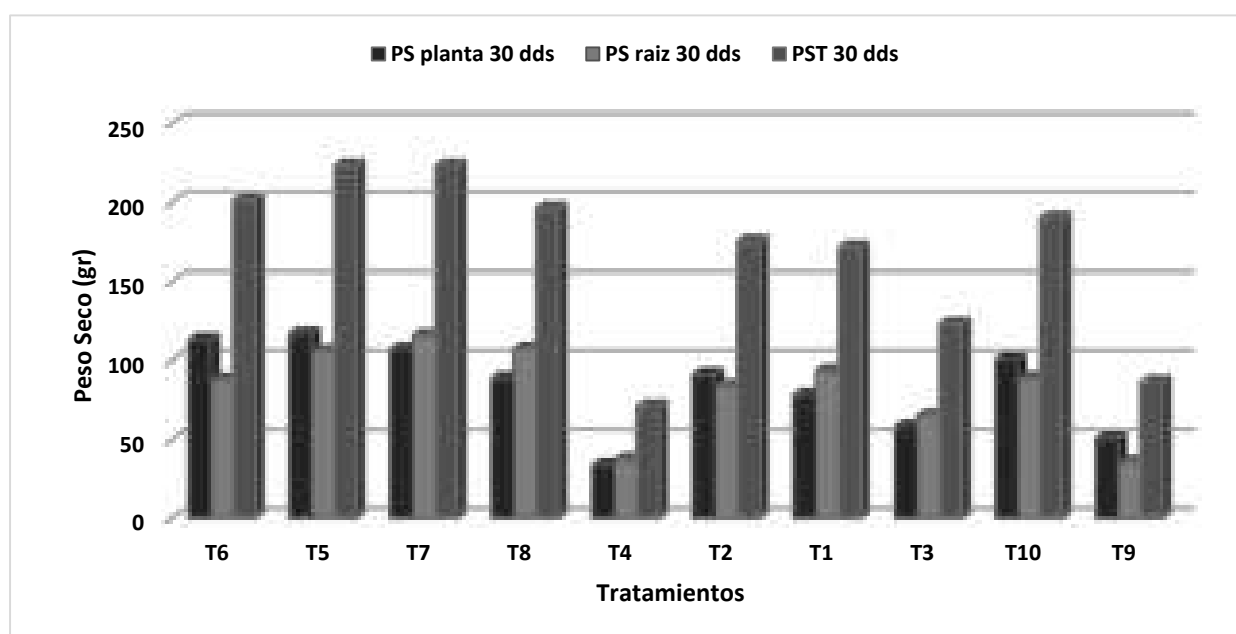
**Peso seco de la raíz y de la planta (gr), y peso total (gr) de las vitroplantas Gros Michel y Cavendish con los tratamientos de las cepas de *Trichoderma* spp., a los 30 ddi.**

Los datos resultantes de estos parámetros fueron altamente significativos. Para Gros Michel los valores fueron menores que con Cavendish: T2 (*T. asperellum*) con 91,33 g (peso de la planta), 84,22 g (peso de la raíz) y 175,56 g (peso total) resultó el mejor tratamiento, seguido por las especies *T. harzianum* (T1) 78,11 g (peso de la planta), 93,56 g (peso de la raíz) 171,67 g (peso total) y *T. virens* (T3) 58 g (peso de la planta) 55,22 g (peso de la raíz) 123,22 g (peso total). Con la inoculación con las tres especies (T4), se obtuvo 71,11 g (peso total) y hubo un efecto inhibitorio en el crecimiento de las plantas, al compararlas con el testigo sin inocular (T10) con 190,33 g (peso total), valor que fue superior a los tratamientos T1, T2 y T3 (Gráfico 10).

Para la variedad Cavendish, el mejor tratamiento fue T5 (*T. harzianum*) con 117,0 g (peso de la planta), 106,0 g (peso de la raíz) y 223,0 g (peso total), seguido por las especies *T. asperellum* (T6) 113,33 g (peso de la planta) 88 g (peso de la raíz) 201,33 g (peso total) y *T. virens* (T3) 107,11 g (peso de la planta) 115,78 g (peso de la raíz) 222,89 g (peso total). En la inoculación con las tres especies (T8) con 196,33 g (peso total) hubo efecto positivo en el crecimiento de las plantas, al compararlas con el testigo sin inocular (T9) con 86,55 g (peso total) (Gráfico 9). En general, hubo un efecto favorable para las vitroplantas de Cavendish, al inocularlas con las tres especies de *Trichoderma*.



**Gráfico 10. Peso seco de la raíz y de la planta, peso total (g) de las vitroplantas de Gros Michel y Cavendish inoculadas con *Trichoderma* spp. a los 30 ddi.**



Fuente: Mayorga (2021)

**Pigmentación clorofílica de las vitroplantas Gros Michel y Cavendish con los tratamientos de las cepas de *Trichoderma* spp., a los 15 y 28 ddi.**

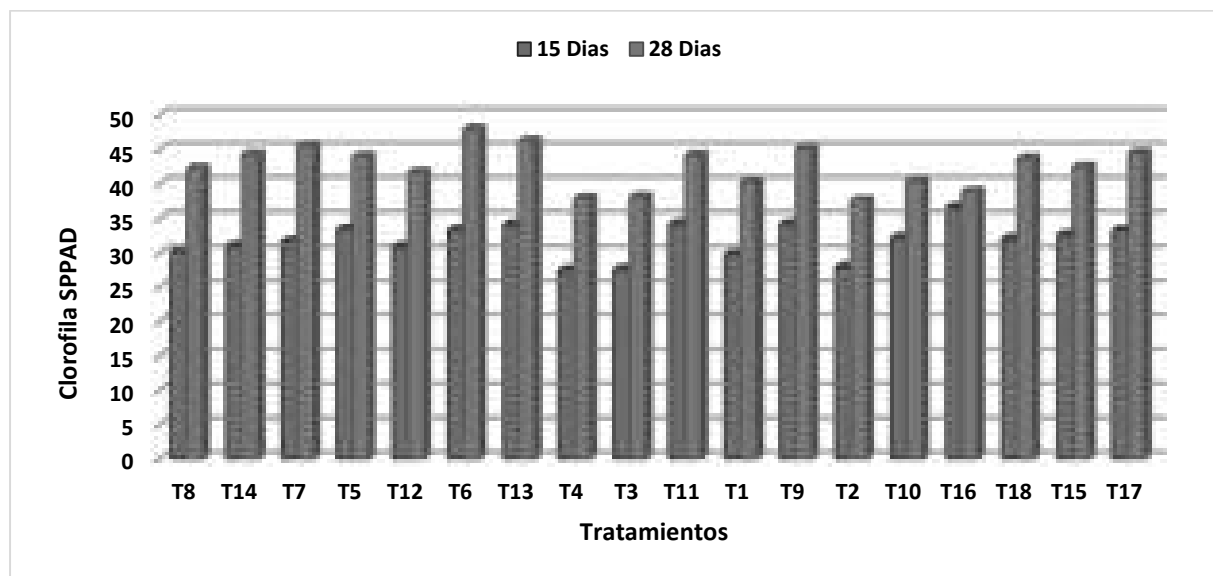
En el Gráfico 11 se observan los valores SPPAD de la pigmentación de clorofila en las vitroplantas a los 15 y 28 ddi en bandejas con datos no significativos.

En las plantas de Gros Michel en los tratamientos sin fungicida en el T9 (*T. harzianum*) con 34,25 - 45,13 y T11 (*T. asperellum*) con 34,23 - 44,14 resultaron los mejores tratamientos, en comparación con el testigo T17 con 33,28 - 44,45, a los 15 y 28 ddi. Mientras que los tratamientos más bajos de clorofila fueron para la variedad Gros con fungicida: T1 (*T. harzianum*) con 29,89 - 40,34, T2 (*T. virens*) con 28,00 – 37,64, T3 (*T. asperellum*) con 27,62 - 38,16 y por último la mezcla de las tres especies de *Trichoderma* (T4) con 27,50 - 38,00.

Para Cavendish sin fungicida el mejor tratamiento fue el T13 (*T. virens*) con 34,15 - 46,29 y el testigo T18 con 32,03 - 43,68 a los 15 y 28 ddi, valores que fueron superiores que los tratamientos T14 (*T. asperellum*) y T12 (*T. harzianum*). A los 28 días, en los tratamientos con fungicida, el mejor fue (*T. virens*) con 47,95, (*T.*

*asperellum*) con 45,56 y (*T. harzianum*) con 43,97 y por último el T8 con 42,3, que perteneció al tratamiento con las tres especies de *Trichoderma*, siendo el testigo el de menor valor con 38,88.

**Gráfico 11. Valores de la pigmentación clorofílica en vitroplantas de Gros Michel y Cavendish inoculadas con *Trichoderma* spp.**



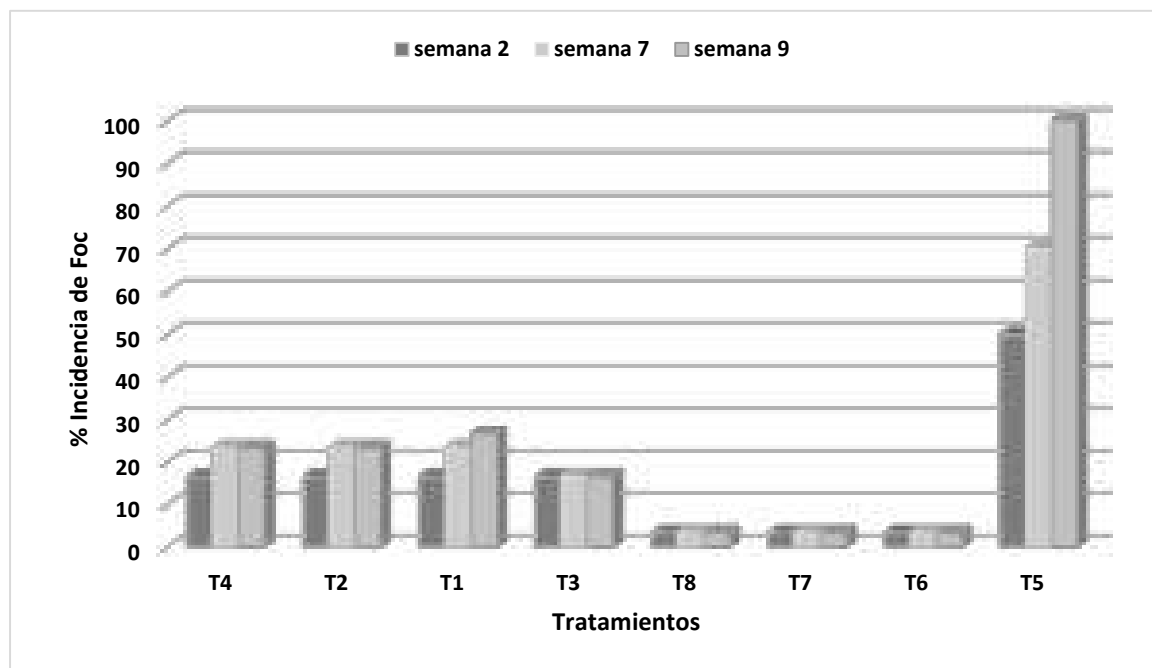
Fuente: Mayorga (2021)

**Incidencia de la enfermedad en las vitroplantas de Gros Michel inoculadas con *Trichoderma* spp. y *Foc.*, a las 2, 7, 9 semanas ddi.**

Los resultados se detallan en el gráfico 12, y se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos. A la segunda semana el T5 (Testigo Gros Michel *Foc*) presentó valores altos de incidencia de la enfermedad (50%), diferenciándose de los tratamientos con *Trichoderma* y *Foc* T1 (*T. harzianum*), T2 (*T. asperellum*), T3 (*T. virens*) y T4 (con las tres especies), los cuales presentaron el 16,67% de incidencia. En la séptima semana, continuó el desarrollo de la enfermedad y el T5 sigue presentando el mayor porcentaje de incidencia, esta vez con el 70%, mientras los T1, T2 y T4 con 23,33% de incidencia, siendo el T3 el mejor tratamiento porque se mantuvo con un 16,67% de la incidencia hasta finalizar el ensayo. En la última semana el T5 llegó al 100% de la incidencia en plantas infectadas con *Fusarium*, T1 con 26,67%, mientras que el T2 y T4 mantuvieron en el 23,33% y los testigos negativos de Gros y Cavendish, T6, y T8,

más el testigo positivo de Cavendish (T7) mantuvieron una incidencia del 3,33% durante todo el ensayo.

**Gráfico 12. Porcentaje de incidencia de Foc frente a las plantas inoculadas con *Trichoderma* spp., a las 2, 7 y 9 semanas ddi.**

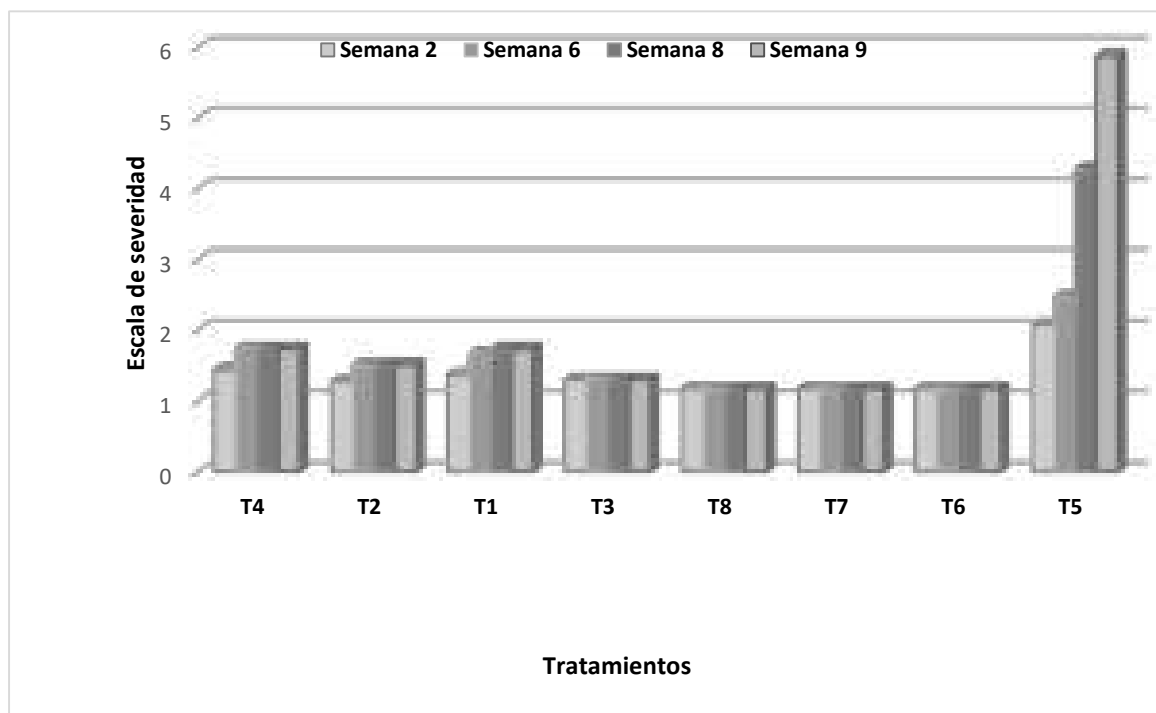


Fuente: Mayorga (2021)

**Escala Severidad de la enfermedad en las vitroplantas de Gros Michel inoculadas con *Trichoderma* spp. y *Foc*, a las 2, 6, 8 y 9 semanas ddi.**

Con base a la escala de severidad, en la segunda y sexta semana ddi, en el tratamiento T5, testigo positivo de Gros Michel, las plantas inoculadas se observan en la escala 2, con síntomas de amarillamientos en hojas viejas. Tanto los tratamientos T1, T2, T3 y T4, como los testigos T6, T7 y T8, las plantas se mostraron en escala 1, con ausencia de síntomas de la enfermedad. En la octava semana, se evidenció diferencias altamente significativas, T5 se mostró en la escala 4, que correspondió a amarillamientos en las hojas jóvenes, mientras los demás tratamientos se mantuvieron en la escala 1. En la última semana de evaluación, la severidad para el T5 fue de 6, muerte de las plantas, manteniéndose la severidad de 1 en los demás tratamientos, incluyendo el cultivar Cavendish testigo positivo (T7).

**Gráfico 13. Escala Severidad de la enfermedad en las vitroplantas de Gros Michel inoculadas con *Trichoderma* spp., y *Foc*.**

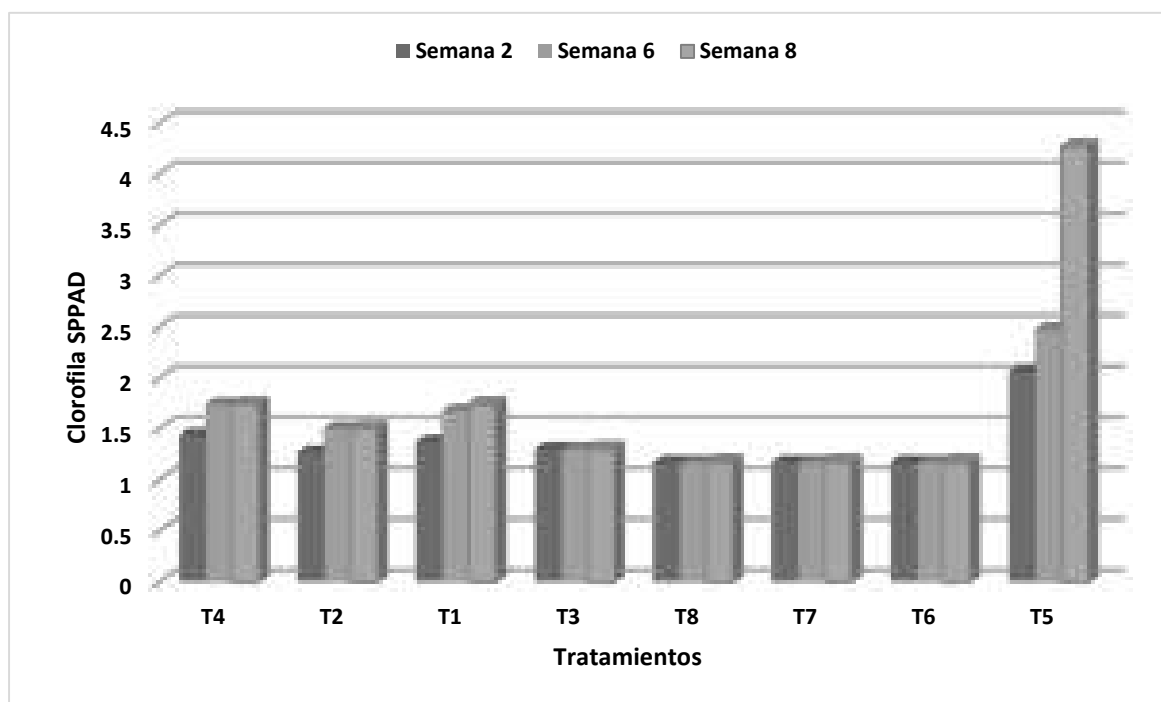


Fuente: Mayorga (2021)

**Pigmentación clorofílica de las vitroplantas de Gros Michel inoculadas con *Trichoderma* spp. y *Foc*, a las 2, 6 y 8 semanas ddi.**

El mayor valor SPPAD para la pigmentación clorofílica se obtuvo para T5, testigo del cultivar Gros Michel inoculado con el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1, desde la semana 2 hasta la semana 8, alcanzando un valor de máximo de 4,27, seguido por los tratamientos del mismo cultivar inoculados al mismo tiempo con especies de *Trichoderma* T4 (con las tres especies), T2 (*T. asperellum*) y T1 (*T. harzianum*). Se alcanzaron menores valores para T3 (*T. virens*), de 1,30, y 1,17 para los testigos de Cavendish (negativo y positivo, T8 y T7) y el testigo negativo de Gros Michel (T6), que permanecieron con los mismos valores durante las 8 semanas siendo la semana 2 y 8 la de valores altamente significativos (Gráfico 14).

**Gráfico 14. Valores SPPAD para la pigmentación clorofílica en las plantas de Gros Michel inoculadas con *Trichoderma* y *Foc*.**

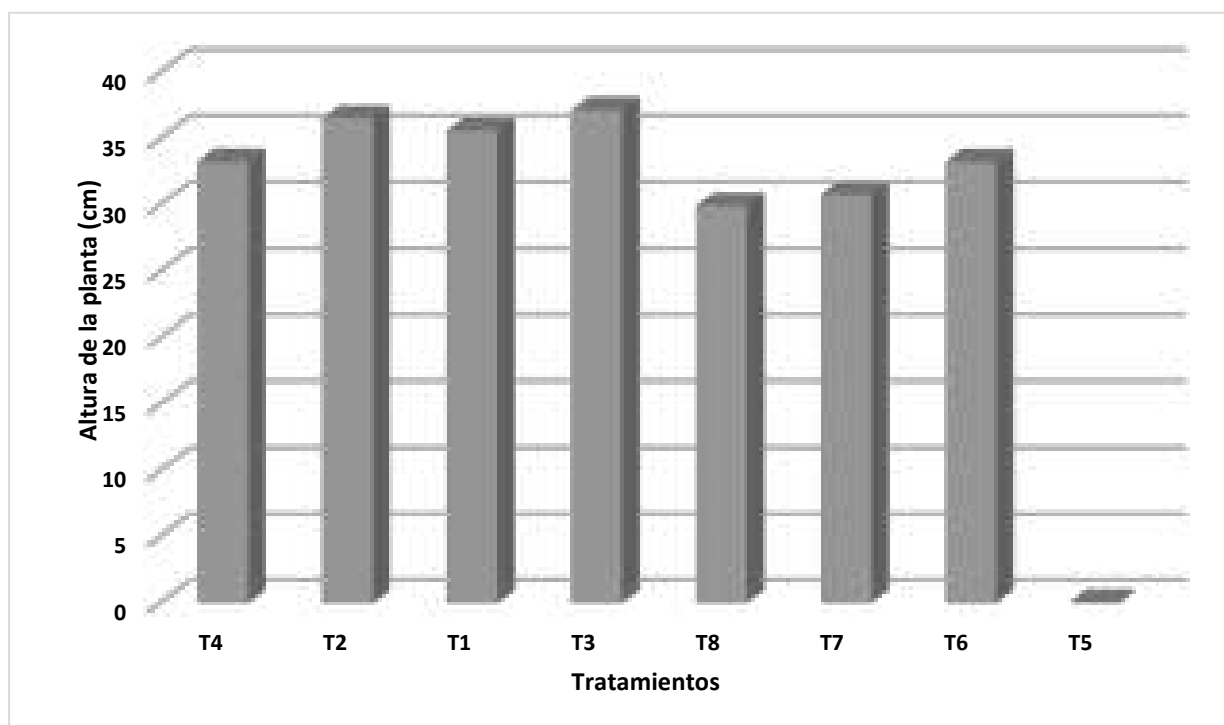


Fuente: Mayorga (2021)

### **Altura de las vitroplantas de Gros Michel inoculadas con *Trichoderma* spp., y *Foc* a los 120 ddi**

Los tratamientos del cultivar Gros Michel que presentaron mayor altura de planta fueron los inoculados con las especies de *Trichoderma* y *Foc*: T3 (*T. virens*) alcanzó una altura de 37,10 cm, seguido del T2 (*T. asperellum*) con 36,47 cm, T1 (*T. harzianum*) con 35,53 cm y T4 (con las tres especies) con 33,20 cm. Los tratamientos que presentaron menor altura fueron los testigos: T6 (Testigo negativo del cultivar Gros) con 33,17 cm y los testigos inoculados y no inoculados del cultivar Cavendish, T7 con 30,70 cm y T8 29,87, respectivamente. T5 (Testigo inoculado de Gros Michel) reflejó el valor 0, debido a que todas las plantas murieron por la enfermedad (Gráfico 15).

**Gráfico 15. Altura de la planta (cm) variedad Gros Michel inoculada con *Trichoderma* spp., y *Foc* a los 120 ddi.**



Fuente: Mayorga (2021)

**Dilución seriada del sustrato usado en bandeja y en funda para el ensayo.**

En este ensayo se evidenció la presencia de UFC/gr de hongos y bacterias, pero en ningún sustrato usado para los tratamientos se evidenció la presencia de alguna cepa de *Trichoderma* spp., como se observa en la tabla 4 (Anexo 19).

**Tabla 27. Conteo de la UFC de organismos encontrados en sustrato a usarse en los ensayos.**

Detalle de muestra		Unidades Formadoras de Colonia (UFC/gr)
<b>Muestra 1</b>	Hongos	$1,80 \times 10^5$
	Bacterias	$8,27 \times 10^4$
<b>Muestra 2</b>	Hongos	$1,52 \times 10^5$
	Bacterias	$8,83 \times 10^4$

Fuente: Mayorga (2021)

### **Dilución seriada del sustrato de las plantas inoculadas.**

Los resultados de la tabla 5 ilustraron la presencia de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) en el sustrato de cada bandeja y funda usada para cada tratamiento. Se observó crecimiento de colonias de *Trichoderma asperellum*  $8,98 \times 10^5$ , *T. harzianum*  $3,79 \times 10^5$ , *T. virens*  $6,16 \times 10^5$ , mientras que en el mix  $1,14 \times 10^5$ , y en los testigos no se evidenció crecimiento fúngico (Anexo 20).

**Tabla 28. Valores de UFC de la dilución seriada del sustrato usado en los ensayos.**

<b>Detalle de muestras</b>	<b>Unidades Formadoras de Colonia (UFC/gr)</b>
<i>T. asperellum</i>	$8,98 \times 10^5$
<i>T. harzianum</i>	$3,79 \times 10^5$
<i>T. virens</i>	$6,16 \times 10^5$
<b>Tmix1</b>	$1,14 \times 10^5$
<b>Testigo</b>	0

Fuente: Mayorga (2021)

## DISCUSIÓN

### **Compatibilidad entre *T. harzianum*, *T. virens* y *T. asperellum***

La tasa de crecimiento micelial es una característica fisiológica que permite conocer la capacidad de biocontrol de las especies de *Trichoderma*, y es utilizada para caracterizar las nuevas cepas de este hongo (Guigón, Guerrero y Vargas, 2010). Las especies de *Trichoderma* tienen tasas de crecimiento que son más aceleradas que la de los hongos fitopatógenos, y de esta manera pueden competir con estos últimos por espacio y nutrientes, inhibiendo su crecimiento (Wu et al., 2107). En este estudio se evidencia que los valores de crecimiento micelial de las especies de *Trichoderma* fueron mayores cuando las especies crecen solas o en combinación de dos o tres inóculos de la misma especie, en el período de evaluación de 3 días. Especialmente para las especies *T. harzianum* y *T. virens*. Por otro lado, se pudo observar que los crecimientos miceliales fueron menores cuando crecieron dos o tres especies juntas en la misma caja Petri. Sin embargo, hubo mayor compatibilidad cuando *T. harzianum* formó parte del ensayo, como fue el caso en los tratamientos T4 (AXB) y T6 (AXC), donde esta especie creció con *T. asperellum* y *T. virens*, respectivamente. Este ensayo nos permitió conocer la compatibilidad de las especies o relación interespecífica entre las tres especies, considerando que el efecto de control es mayor cuando se aplican consorcios de microorganismos del mismo género. Además, se debe tomar en cuenta que, la selección de aislados nativos para las pruebas *in vitro* reduce la variabilidad en el control biológico *in vivo* (Moo Koh et al., 2018).

### **Porcentaje de inhibición de las cepas de *Trichoderma* ante el fungicida Captan**

En este ensayo se presentó *T. harzianum* como la especie más tolerante al fungicida captan, seguida por *T. virens*, y *T. asperellum* terminó como la especie más susceptible. En general, las especies de *Trichoderma* son compatibles con la aplicación de agroquímicos, sin embargo, esto va a depender de la dosis. Se ha comprobado que el crecimiento de *T. asperellum* cepa T8 fue inhibido al 6%, en dosis de Captan 50® de 0,5 g-L<sup>-1</sup>, no observándose efectos inhibitorios a dosis



menores, de 0,1 g.L<sup>-1</sup>. A esta dosis y co-aplicado *in vitro* con *T. asperellum* tuvo una inhibición sinérgica para el control de *Colletotrichum gloeosporoides* en frutos de mango (Peláez et al., 2016). La dosis aplicada en este ensayo, de 2 g.L<sup>-1</sup>, logró inhibir a las tres especies, sin embargo, *T. asperellum* fue la más susceptible. Otros autores han demostrado la capacidad de *T. harzianum* para tolerar altas dosis de captan (3g.L<sup>-1</sup>), con una inhibición de 36,6 % (Shah, Nasreen y Kouser, 2013), resultados que son similares a los obtenidos en este trabajo.

### **Porcentaje de inhibición de Fusarium raza 1 frente a Trichoderma spp.**

Los resultados demuestran que la especie que más inhibió a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (*Foc*) raza 1 fue *T. harzianum* (13,76 %), seguido por *T. virens* (8,00 %), y por último estuvo *T. asperellum* (6,90 %), en comparación con el testigo *Foc* raza 1, el cual creció sin inhibición (0,00 %). Por lo tanto, el crecimiento radial del fitopatógeno se inhibió más con las especies *T. harzianum* y *T. virens*, en pruebas duales *in vitro*, en los dos días de evaluación. En pruebas *in vitro* similares, Flores (2019), obtuvo la mejor inhibición (56,2 %) con *Trichoderma* sp., en comparación con *Bacillus subtilis* (45 %) y té de compost (48 %), a los 10 ddi. De igual manera, Caballero et al. (2013) encontraron que cepas endófitas de *Trichoderma* inhibieron el crecimiento radial de *Foc*, entre un 36,85 al 53,46 %, de acuerdo a la cepa de los dos hongos enfrentados, en un período de ocho días. Además, las especies *T. asperellum* y *T. virens* han sido evaluadas y han tenido el mejor control antagónico contra otro fitopatógeno importante, causante de la Sigatoka Negra, en su forma imperfecta *Paracercospora fijiensis*, con los cuales se obtuvo hasta el 90 % de inhibición del patógeno (Cobos, 2010).

### **Promedio de altura y diámetro de las vitroplantas de Gros Michel y Cavendish biofortificadas con las cepas de Trichoderma spp., con y sin captan.**

En la variedad Gros Michel, a los 26 ddi, la biofortificación de las vitroplantas, en la fase de aclimatización, con las tres especies de *Trichoderma*, inoculadas solas o en conjunto, no tuvieron un efecto en la altura de las plantas, y el testigo sin inocular con estas especies resultó con el valor promedio más elevado. La

variedad Cavendish se comportó diferente. La inoculación con las tres especies de *Trichoderma* tuvo un efecto positivo en la altura de las plantas, al comparar estos tratamientos con el testigo. La desinfección con el fungicida, disminuyó la altura de las plantas en los dos cultivares. Con respecto al diámetro del pseudotallo, en el cultivar Gros Michel, la desinfección afectó al testigo más que a las plantas biofortificadas, y para la variedad Cavendish, la desinfección no tuvo efecto sobre esta variable en el testigo, sin embargo, en las plantas biofortificadas, los valores fueron menores. Estos resultados concuerdan con los de Flores (2019), en cuanto a que en pruebas a nivel de invernadero con el cultivar Gros Michel, no encontró diferencias significativas para variables altura, diámetro del pseudotallo y área foliar, cuando *Trichoderma* sp. se utilizó de manera preventiva, sin embargo, en el tratamiento de *Trichoderma* sp. suplementado con té de compost, se presentaron los mayores valores en altura de planta, diámetro y área foliar. De igual manera, Mora et al. (2021) encontraron que a la sexta semana de adaptación de vitroplantas del cultivar William, los mejores tratamientos que resultaron, en comparación con el testigo, con diferencias estadísticamente significativas, en las variables agronómicas mencionadas, fueron los que combinaban Biol (4 %), *Trichoderma ghanense* más micorriza (50 o 100 g) y fertilizante convencional. Estos autores atribuyen el aumento en el crecimiento a que los microorganismos tienen la capacidad de producir diferentes compuestos químicos, como el ácido indolacético (AIA) y ácido indolbutírico (AIB), además de la solubilización del fósforo presente en el sustrato. Robinson y Galán (2009) señalaron que las plantas aclimatadas de banano deben presentar una altura y diámetro de pseudotallo promedio de 7 cm y 6 mm, respectivamente, para pasar a la fase de vivero, promedios que están en correspondencia con los valores obtenidos con Gros Michel y Cavendish en este ensayo.

### **Recuperación de *Trichoderma* spp. en plantas de Gros Michel y Cavendish.**

La recuperación de las especies de *Trichoderma* en las raíces, tallos y hojas en las plantas de Gros Michel y Cavendish es importante porque posiblemente explique el efecto de biocontrol de este hongo, al exhibir competencia para ocupar estos espacios de las plantas y vivir de manera endófito, evitando o inhibiendo el crecimiento de otros patógenos oportunistas o fitopatógenos. Mientras que no se

evidenció su presencia en el testigo negativo. Se han usado aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp. en la variedad Gros Michel, los cuales han demostrado un efecto biocontrolador del *Foc*, en condiciones de invernadero (Caballero et al., 2013).

### **Volumen radicular, peso seco de la raíz, y de la planta, peso total de las vitroplantas de Gros Michel y Cavendish con los tratamientos de *Trichoderma* spp., a los 30 ddi.**

Con respecto al volumen radicular, ambos cultivares se beneficiaron de los tratamientos con las tres especies de *Trichoderma*, especialmente de *T. harzianum*, con la cual se obtuvieron los mejores valores, a los 30 ddi. La respuesta a la inoculación con las tres especies de forma conjunta, fue menor, al igual que los tratamientos testigos sin inocular. Según Rui-Xia et al. (2015), la inoculación de *T. harzianum* en plantas de tomate tiene un efecto directo en el desarrollo de las raíces y en la absorción de los nutrientes. Sin embargo, en el cultivar Gros Michel, no se observó una mejora en la biomasa de la planta (peso seco de la raíz y de la planta, y peso total). Por el contrario, Caballero et al. (2013) obtuvieron un aumento significativo del peso de raíz, peso de follaje y peso de la planta al inocular plantas de banano Gros Michel con aislamientos endofíticos de *Trichoderma* spp. En el caso del cultivar Cavendish, se observaron mayores valores en todas estas variables, en los tratamientos con las especies de *Trichoderma*. Mora et al. (2021) encontraron, de igual manera, que en el cultivar William hubo una mayor cantidad de biomasa húmeda y seca, en los tratamientos con *T. ghanense* y HMA, y afirman que las cepas de microorganismos usados aportaron a la asimilación de nutrientes y estimularon el desarrollo de las plantas de banano.

### **Pigmentación clorofílica de las vitroplantas Gros Michel y Cavendish con los tratamientos de *Trichoderma* spp., a los 15 y 28 ddi.**

En general, en el cultivar Gros Michel, los valores más altos se consiguieron en los tratamientos sin desinfección con la presencia o no de las especies de *Trichoderma*. Por el contrario, en el cultivar Cavendish, la desinfección no afectó

negativamente al testigo, o cuando los tratamientos incluyeron las especies de *Trichoderma*. Sin embargo, los datos obtenidos no fueron significativos.

### **Incidencia y severidad de la enfermedad en las vitroplantas de Gros Michel inoculadas con Foc y *Trichoderma* spp. y, hasta las 9 semanas ddi.**

Las inoculaciones con las especies de *Trichoderma* tuvieron un efecto significativo sobre la incidencia de la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1. Con *T. virens* no sobrepasó el 16,67 %, con *T. asperellum* y *T* (mix), alcanzó el 23,33 % y con *T. harzianum* el 26,67 %, en comparación con el testigo positivo que llegó al 100 % y el testigo negativo 3,33 %, a las 9 semanas ddi.

Igualmente, los tratamientos con *Trichoderma* spp. mantuvieron niveles bajos de severidad, de 1,3 a 1,7 (plantas con ausencia de síntomas o con amarillamientos en las hojas más viejas), mientras que el testigo positivo de Gros Michel alcanzó 6 o muerte de las plantas y el testigo negativo 1,17, en la semana 9 ddi.

Numerosos trabajos científicos corroboran estos resultados para las cultivares Gros Michel y FHAIA17, en cuanto a que, las vitroplantas protegidas con cepas de *Trichoderma* presentan bajos porcentajes de incidencia, se aumenta el período de incubación, y se reduce la severidad de los síntomas externos e internos, sin embargo, dependió de las cepas de los hongos (Caballero et al., 2013). Estos autores explican, que el efecto de retardar los síntomas de la enfermedad, posiblemente se deba a la colonización y establecimiento temprano de *Trichoderma* spp., en el sustrato, y los tejidos de las plantas, tal como se evidenció en el ensayo de recuperación de las especies de *Trichoderma* en las raíces, tallos y hojas de las variedades Gros Michel y Cavendish.

El uso de microorganismos como *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis*, y *Bacillus amyloliquefaciens*, inoculando las plantas o tratando los suelos, es una alternativa sostenible en las plantaciones de Gros Michel, susceptibles a esta enfermedad (Blanco, 2018; Flores, 2019; Zapata, 2019).

**Pigmentación clorofílica de las vitroplantas de Gros Michel inoculadas con *Trichoderma* spp. y *Foc*, a las 2, 6, 8 semanas ddi.**

El mayor valor SPPAD para la pigmentación clorofílica se obtuvo para T5, testigo del cultivar Gros Michel inoculado con el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 1, desde la semana 2 hasta la semana 8, alcanzando un valor de máximo de 4,27, seguido por los tratamientos del mismo cultivar inoculados al mismo tiempo con especies de *Trichoderma* T4 (con las tres especies), T2 (*T. asperellum*) y T1 (*T. harzianum*). Estos resultados se contradicen con lo encontrado por Chávez, et al. (2020), quienes obtuvieron un incremento de los pigmentos clorofílicos en plántulas de arroz inoculadas con cepas nativas de *Trichoderma*, debido a que este microorganismo influye positivamente en la absorción de nitrógeno, generando un incremento significativo en el crecimiento de este cultivo.

**Altura de la planta (cm) de la variedad Gros Michel inoculada con *Trichoderma* spp. y *Foc*, a los 120 ddi.**

En los tratamientos con las especies de *Trichoderma* hubo mayor respuesta, en cuanto a la altura de la planta, después de la inoculación con *Foc*, debido a que se inhibió tanto el porcentaje de incidencia como la severidad de los síntomas de la enfermedad. En esta variedad susceptible, las plantas mueren ante el ataque de *Foc*. Resultados similares han sido obtenidos por varios autores (Blanco, 2018; Caballero et al., 2013; Flores, 2019; Zapata, 2019).

## CONCLUSIONES

Las especies *T. virens* y *T. harzianum* fueron las especies de *Trichoderma* que más inhibieron el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1 en las pruebas duales. Estas especies tuvieron mayor crecimiento micelial y fueron más tolerantes al fungicida Captan, en las pruebas *in vitro*, en comparación con *T. asperellum*.

En la variedad Gros Michel, las inoculaciones con las especies de *Trichoderma* no tuvieron un efecto en la altura, diámetro del pseudotallo, peso seco de la raíz y de la planta, peso total de las plantas y valores de SPPAD. Mientras en la variedad Cavendish, se favoreció la altura de las plantas, peso seco de la raíz y de la planta, peso total de las plantas. Ambas variedades se beneficiaron con la biofortificación, con respecto a volumen radicular. Hubo recuperación de las especies de *Trichoderma* en las raíces, tallos y hojas en las plantas de Gros Michel y Cavendish, lo cual se considera importante para explicar el efecto de biocontrol de este hongo, al exhibir competencia para ocupar estos espacios de las plantas y vivir de manera endófito, evitando o inhibiendo el crecimiento de fitopatógenos.

Las inoculaciones con las especies de *Trichoderma* tuvieron un efecto significativo en reducir la incidencia de la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raza 1. Igualmente, se mantuvieron niveles bajos de severidad, de 1,3 a 1,7 (plantas con ausencia de síntomas o con amarillamientos en las hojas más viejas), mientras que el testigo positivo de Gros Michel alcanzó 6 o muerte de las plantas, en la semana 9 ddi.

## RECOMENDACIONES

La realización de otras pruebas que determinen el modo de acción de estas especies de *Trichoderma*, por ejemplo, antibiosis.

Ensayos *in vivo* con la utilización de cepas endófitas seleccionadas, aisladas de los tejidos de banano, que puedan tener un efecto más favorable en los parámetros agronómicos de las vitroplantas, cuando son utilizadas de manera preventiva, y que se puedan aislar de todas las partes de las plantas.

Ensayos de campo con las plantas biofortificadas, en varias regiones del Ecuador para validar los resultados obtenidos.

## BIBLIOGRAFIA

- Aceves, M., Sánchez, O., Rojero, M., Morán, R., Flores, A., & Ayala, B. (2008). Producción masiva de *Trichoderma harzianum* Rifai en diferentes sustratos orgánicos. *Chapingo*, 14(2), 185-191. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1027-152X2008000200012](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2008000200012).
- Acurio, R., & España, C. (2017). Aislamiento, caracterización y evaluación de *Trichoderma* spp. como promotor de crecimiento vegetal en pasturas de raygrass (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*). *Revista la Granja*, 25(1) 55-59. doi:<https://doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>.
- Altendorf, S. (2020). Enfoque de productos básico. FAO.[//www.fao.org](http://www.fao.org).
- Barnett, H., & Hunter, B. (1972). *Illustrated genera of imperfect fungi* 4th Edition ed.). New York. Burgess Pub.Co.196.ISB 10:0808702661.
- Bell, D. K., Well, H. D., Markham, C. R. (1982). *In Vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, 72, 378-382. [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1982Abstracts/Phyto72\\_379.htm](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1982Abstracts/Phyto72_379.htm)
- Blanco, W. (2018). Uso de aislamientos de *Trichoderma* spp., para el control biológico de la enfermedad marchitez por fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*) raza 1 en vitroplántulas de banano del cultivar Gros Michael (AAA) y FHIA 17 (AAAA) en condiciones de invernadero. Tesis de Grado. Universidad Autónoma de Nicaragua. <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/6419>.
- Brenes, S. (2017). Parámetros de producción y calidad de los cultivares de banano FHIA-17, FHIA-25 y Yangambi. *Agronomía Mesoamerica*, 28(3), 719-733 <https://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v28n3/43752453015.pdf>.



- Bubici, G., Kaushal, M., Prigigallo, M., Gómez, C., & Cabanas, L. (2019). Biological Control Agents Against *Fusarium* Wilt of Banana. *Front. Microbiol*, 10, 2-23  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00616>.
- Burgos, A. (2017). Evaluación de la dinámica de *Trichoderma* spp. en el cultivo de arroz (*Oryza sativa*), en el cantón Colimes, provincia del Guayas. Tesis de grado. Universidad Agraria del Ecuador.
- Caballero, A., Pocasangre, L., Casanoves, F., Avelino, J., Tapia, A., & Ortiz, J. (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. *Calera*, 13(20), 16-23.  
<https://doi.org/10.5377/calera.v13i20.1620>
- Caiza, S. (2017). Evaluación in vitro de la capacidad antagónica de *Trichoderma* comercial (*Trichoderma harzianum*) y *Trichoderma* nativo (*Trichoderma* s.p.) frente a los patógenos *Alternaria* spp., *Fusarium oxysporum* y *Heterosporium echinolatum* del cultivo de clavel (*Dianthus*). Tesis de grado. Escuela Politécnica Nacional Quito. <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/17534>.
- Cando, G. M. (2010). Evaluación de cepas nativas de *Trichoderma* spp. para el control de sigatoka negra (*Paracercospora fijiensis* M.) en el cultivo de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de laboratorio. Santo Domingo: Laboratorio de Fitopatología del Área Académica IASA.  
<http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2893/1/T-ESPE-IASA%20II-002325.pdf>.
- Cedeño, G. (2 de Abril de 2018). Banano, platano y otras musáceas. INIAP.  
<http://www.iniap.gob.ec/pruebav3/banano-platano-y-otras-musaceas/>.
- Cobos, G. (2010). Evaluación de cepas nativas de *Trichoderma* spp. para el control de Sigatoka negra (*Paracercospora fijiensis* M.) en el cultivo del banano (*Musa*

*paradisiaca*) en fase de laboratorio. Tesis de pregrado. Escuela Politécnica del Ejército. Ecuador. <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/2893>

Companioni, B., Dominguez, G., & García, R. (2019). *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Biotecnología Vegetal*, 19(4), 237-248. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/639/html>.

Cunha, A, Katz, Sousa, Padua, A. & Martinez, R. (2015). ). Índice SPAD en el crecimiento y desarrollo de plantas de *Lisianthus* en función de diferentes dosis de nitrógeno en ambiente protegido. *Idesia Arica*, 33(2), 17-105. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292015000200012>.

Chávez, A., Torres, A., Espinoza, A., Zambrano E., Villafuerte, Gonzalo., Zambrano, Elib., & Velázquez, A., (2020). Efectos de la cepa nativa de *Trichoderma* sp. y lixiviado de vermicompost bovino sobre el crecimiento foliar y contenido de clorofila en arroz (*Oryza sativa* L.) en fase de semillero. *Revista Ecuador es calidad*, 7(2). <https://doi.org/10.36331/revista.v7i2.104>.

Chiriboga, H., Gómez, G., & Garcés, K. (2015). Protocolos para formulación y aplicación del bio-insumo: *Trichoderma spp.* para el control biológico de enfermedades. Paraguay: IICA <http://repositorio.iica.int/handle/11324/2647>.

CNUCED. (2015). *Banano*. New York. [https://unctad.org/es/system/files/official-document/INFOCOMM\\_cp01\\_Banana\\_es](https://unctad.org/es/system/files/official-document/INFOCOMM_cp01_Banana_es).

Constitucion del Ecuador . (2008). Obtenido de [https://www.oas.org/juridico/mla/sp/ecu/sp\\_ecu-int-text-const.pdf](https://www.oas.org/juridico/mla/sp/ecu/sp_ecu-int-text-const.pdf).

Dita, M., Echegoyén, P., & Perez, L. (2013). Plan de contingencia ante un brote de la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense*: Organismo internacional regional de sanidad OIRSA <https://www.oirsa.org/contenido/biblioteca/PlandecontingenciacontraFocR4TOIRSA.pdf>.

Dita, M., Echegoyen, P., & Pérez, L. (2017). Plan de contingencia ante un brote de Raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* en un país de la region del Oirsa. Organismo internacional regional de sanidad agropecuaria OIRSA. [https://www.oirsa.org/contenido/2018/Sanidad\\_Vegetal/Manuales%20OIRSA%202015-2018/Plan\\_conting\\_FOC\\_R4T\\_2017-V2-Final-FEB18-2017.pdf](https://www.oirsa.org/contenido/2018/Sanidad_Vegetal/Manuales%20OIRSA%202015-2018/Plan_conting_FOC_R4T_2017-V2-Final-FEB18-2017.pdf).

El Peruano. (12 abril del 2021). Declaran emergencia fitosanitaria en todo el territorio nacional ante la presencia de la plaga *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* Raza 4 Tropical. <https://bananaexport.com/2021/04/12/peru-confirma-infestacion-con-hongo-foc-r4t/>.

FAO. (2019). Banana market review. Food and Agriculture Organization of the United Nations : <http://www.fao.org/3/ca9212en/ca9212en.pdf>.

Flores, R. (2019). Control Biologico de la marchitez (*Fusarium oxysporum f. sp. cubense*) raza 1, utilizando te de compost, *Trichoderma sp.*, y *Bacillus subtilis*, en plantas de banano cultivar Gros Michel (Musa AAA) bajo condiciones de invernadero en Guapiles, Limon: Tesis de grado. Universidad de Costa Rica . <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/11148/1/44708.pdf>.

Galán, V., Rangel, A., López, J., Pérez, J., Sandoval, J., & Souza, H. (2018). Propagación del banano: técnicas tradicionales, nuevas tecnologías e innovaciones. Revista Brasileira de Fruticultura, 40(4), 2-13 <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452018574>.

García, F., Pachacama, S., Jarrín, D., León, M., Ayala, M., Ortiz, H., Cevallos, G. (2020). Guia andina para el diagnostico *Fusarium oxysporum f.sp. cubense* (syn. *Fusarium odoratissimum*) agente causal de la marchitez por *Fusarium* en musáceas (plátanos y bananos). Secretaria general Comunidad Andina, 11-61.

[https://www.researchgate.net/publication/342657461\\_Guia\\_Andina\\_Para\\_el\\_Diagnostico\\_de\\_Fusarium\\_Raza\\_4\\_Tropical\\_RT4\\_Fusarium\\_oxysporum\\_f.sp\\_cubense\\_syn\\_Fusarium\\_odoratissimum\\_Agente\\_Causal\\_de\\_la\\_Marchitez\\_por\\_Fusarium\\_en\\_Musaceas\\_platanos\\_y\\_bananos](https://www.researchgate.net/publication/342657461_Guia_Andina_Para_el_Diagnostico_de_Fusarium_Raza_4_Tropical_RT4_Fusarium_oxysporum_f.sp_cubense_syn_Fusarium_odoratissimum_Agente_Causal_de_la_Marchitez_por_Fusarium_en_Musaceas_platanos_y_bananos).

García, H., Martínez, A., Hermosa, M., Monte, E., Aguilar, C., & González, C. (2017). Morphological and molecular characterization of native isolates of *Trichoderma* and its potential biocontrol against *Phytophthora infestans*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(1). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1605-4>.

Guigón, C., Guerrero, V., Vargas, F. (2010). Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento *in vitro* y antagonismo contra hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(2), 87-94. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092010000200002&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092010000200002&lng=es&tlng=es).

Google Earth. (2019). Google. Image landsat/copernicus.

González, I., Infante, D., Arias, Y., Gorrita, S., Hernández, T., Pons, B., Martínez, B., & Petreira, B. (2019). Efecto de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre indicadores de crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar BAT-304. *Revista de Protección Vegetal*, 34(2), 1-8 <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v34n2/2224-4697-rpv-34-02-e05.pdf>.

Hernández, D. J., Ferrera, R., & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 35(1), 98-112 <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>

Jiménez, F., & Agramonte, D. (2013). Cultivo *in vitro* y macropropagación como vía de sostenibilidad de la propagación de especies forestales. *Biología Vegetal*, 13(1), 5-21. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/89>.

- Lara, D. (2009). Uso de bacterias endofíticas para el control biológico del Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum f. sp. cubense*) en el cultivar Gros Michel (AAA). *CATIE*. Centro agronómico tropical de investigación y enseñanza: [https://agritrop.cirad.fr/556130/1/document\\_556130.pdf](https://agritrop.cirad.fr/556130/1/document_556130.pdf).
- López, S., & Cataño, J. (2019). Manejo integrado del mal de Panamá *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. sp. cubense (E.F. SM.) W.C. Snyder & H.N. Hansen: una revisión. *U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 22(2), 1-9. <https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/1240>.
- Macías, F., & Sotomayor, I. (1994). Ptopagación *in-vitro* en musáceas. Mocache: INIAP. <https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/1544>.
- Monge, A. (2007). Evaluación del crecimiento y desarrollo de plántulas de tomate (*Licopersicon esculentum*) Mill y chile dulce (*Capsicum annum*) Linn, mediante la utilización de seis sustratos y tres métodos de fertilización en el cantón de San Carlos, Costa Rica. Tesis de grado Instituto Tecnológico de Costa Rica: <https://repositoriotec.tec.ac.cr/handle/2238/5871>.
- Moo, F., Alejo, J., Reyes, A., Tun, J., Gamboa, M., & Islas, I. (2018). Incompatibilidad interespecífica de especies de *Trichoderma* contra *Meloidogyne incognita* en *Solanum lycopersicum*. *Sientia Fungorum*, 47, 37-45. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2594-13212018000100037&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2594-13212018000100037&lng=es&tlng=es).
- Mora, A., Naranjo, J., Albiño, A., Flores, J., Oviedo, R., Galarza, L., Vera, M., Painii, V., & Barcos M. (2021). Optimización en la aclimatización de plántulas micropropagadas de banano (*Musa sp.*) utilizando tres insumos orgánicos. *Bionatura*, 1(6), 1452-1461. <http://doi.org/10.21931/RB/2021.06.01.3>
- Mifongiski, L., & Roca, W. (1993). Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales *in vitro*. Cali: CIAT. [71](http://ciat-</a></p>
</div>
<div data-bbox=)

library.ciat.cgiar.org/Articulos\_Ciat/biblioteca/Cultivo\_de\_tejidos\_en\_la\_agricultura.pdf.

Ningxiao, L., Alsayed, A., Wenzhao, W., Md, I., Khoshnood, N., Xingzhong, L., & Seogchan, K. (2018). Volatile compound mediated recognition and inhibition between *Trichoderma* biocontrol agents and *Fusarium oxysporum*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02614>.

Orjeda, G. (1998). Evaluation of *Musa* germplasm for resistance to Sigatoka diseases and Fusarium wilt. International Plant Genetic Resources Institute. <https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/104250/412.pdf?sequence=7>.

Padilla, M., Bonilla, N., & Vargas, E. (Noviembre - Diciembre 2017). Costa Rica establece medidas fitosanitarias para importación de artículos reglamentados asociados con *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* raza 4 tropical. Servicio Fitosanitario MAG Costa Rica. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/AF-0083.pdf>.

Pande, M., Talpada, P., Patel, Z., Patel, B., & Shukla. (1982). Utilization of processed Babul seed in the ration of Kankrej bullocks for maintenance. *Indian J. Dairy Sci.* 35, 613-615. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302640610>.

Páramo, L., & Hernández, J. (2017). Caracterización de *Trichoderma viridae* y *T atroviridae* aislados de monumentos históricos en ciudad de México. *Nexo*, 30(2), 60-72. <https://doi.org/10.5377/nexo.v30i2.5525>.

Peláez, A., De los Santos, S., Yopez, E., Parra, F., & Reyes, R. (2016). Efecto sinérgico de *Trichoderma asperellum* T8A y captan 50® contra *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7 (6), 1401-1412. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342016000601401&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342016000601401&lng=es&tlng=es).

- Perez, A., Hermosa, R., & Monte, E. (2017). Actividades de biocontrol de *Trichoderma* frente a ascomicetos fitopatógenos. *FarmarJournal*, 2(1), 85-93. <https://revistas.usal.es/index.php/2445-1355/article/view/15245/16310>
- Pérez, E., Cabrera, A., Milanes, P., Sierra, Y., Marin, S., Monteagudo, O., & Leiva, M. (2018). Eficiencia de *Trichoderma harzianum* (cepa a-34) y sus filtrados en el control de tres enfermedades fúngicas foliares en arroz. *BIOAGRO*, 30(1), 18-19. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316-33612018000100002&lng=en&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-33612018000100002&lng=en&tlng=es).
- Pineda, J., Benavides, E., Duarte, A., Burgos, C., & Soto, C. (2017). Producción de biopreparados de *Trichoderma spp.* La Habana: ICIDCA. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223153894008.pdf>.
- Polacín, J. (2015). Estudio del adecuado crecimiento del hongo *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma hamatum* en sustrato sólido. Tesis de grado. Universidad Central del Ecuador Quito. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/4776>.
- Ramírez, G. (2014). Ficha tecnica *Trichoderma virens*. SENASA. [https://repositorio.senasa.gob.pe:8443/bitstream/SENASA/260/1/2014\\_Gomez\\_Ficha-tecnica-12-T.virens.pdf](https://repositorio.senasa.gob.pe:8443/bitstream/SENASA/260/1/2014_Gomez_Ficha-tecnica-12-T.virens.pdf).
- Ramos, L. (2006). Efecto de hongos endofíticos sobre promoción de crecimiento in vitro plantas de banano y piña. Tesis de grado Universidad Zamorano. <https://pdfs.semanticscholar.org/3f35/edee22c86a0a812816459c6673ad7c60efc0.pdf>.
- Rivera, W., Meneses, K., Zuñiga, C., & Brenes, J. (2016). Antagonismo de *Trichoderma sp.* ante el patógeno *Stromatinia cepivora* en el cultivo de cebolla. *Revista Tecnología en Marcha*, 29 22-30. <http://dx.doi.org/10.18845/tm.v29i7.2702>.

- Robinson, J., & Galán, V. (2009). Weaning (acclimatization) of in vitro produce banana plants. *Fruits*, 64(5), 325-332. <http://dx.doi.org/10.1051/fruits:2009026>
- Román, J. R. (2018). Uso de hongos del género *Trichoderma* spp. como controlador de nematodos en el cultivo de banano. Tesis de grado Universidad Técnica de Machala. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/12915>.
- Rui-Xia, L., Feng, c., Guan, P., Qi-Rong, S., Rong, L., Wei, C., Solubilization of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato growth. *Plos One*, 10(6), 1-16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130081>.
- Shah, S., Nasreen, S., & Kousar, S. (2013). Efficacy of Fungicides against *Trichoderma* spp. Causing Green Mold Disease of Oyster Mushroom (*Pleurotus sajor-caju*). *Research Journal of Microbiology*, 8, 13-24. <http://doi.org/10.3923/JM.2013.13.24>
- Salas, V. (2015). Determinación del antagonismo *in vitro* de *Bacillus* spp. aislado del suelo de los cultivos de banano de la región costa del Ecuador frente al hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense raza tropical 1:. Tesis de grado Universidad Católica del Ecuador. <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/10162/Salas%20Veronica.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Sánchez, A., Barrera, V., Reybet, G., & Sosa, M. (2015). Biocontrol con *Trichoderma* spp. de *Fusarium oxysporum* causal del “mal de almácigos” en pre y post emergencia en cebolla. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 114(1), 61-70. <http://revista.agro.unlp.edu.ar/index.php/revagro/article/view/396>.
- Sánchez, B., Espinosa, E., Villordo, E., Rodríguez, R., & Mora, M. (2017). Identificación molecular y evaluación antagónica *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre hongos fitopatógenos de raíz en frijol (*Phaseolus*



*vulgaris* L.) cv. Montcalm. *Agrociencia*, 51(1), 1-17.  
<http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v51n1/1405-3195-agro-51-01-00063.pdf>.

Sánchez, M. C. (2016). Evaluación de aislados nativos de *Trichoderma* spp para el manejo de hongos causantes de mal del talluelo en tomate (*Solanum lycopersicom* L.). Managua. Tesis de Maestria Universidad Nacional Agraria. <https://repositorio.una.edu.ni/3496/>.

Sarmiento, Y., Hazel, A., & Cárdenas, D. (2013). Evaluación de la estabilidad de *Trichoderma* sp. y *Azotobacter* sp. conservados por diferentes métodos. *Colomb. Biotecnol.*, 15(1), 150-158.  
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/21329>.

Silva, A. (2018). Acción *in vitro* de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. como controladores biológicos conjuntos contra *Fusarium oxysporum* en uvilla (*Physalis peruviana*), ecotipo colombiano, en la sierra norte y centro del Ecuador. Tesis de grado Pontificia Universidad Catolica del Ecuador. <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/14680>.

Snyder, & Hansen, H. (1940). Index Fungorum. Obtenido de <http://www.indexfungorum.org/Names/NamesRecord.asp?RecordID=100056>.

Terrero, P., Peñaherrera, S., Solis, Z., Vera, D., Navarrete, J., & Herrera, M. (2018). Compatibilidad *in vitro* de *Trichoderma* spp., con fungicidas de uso comun en cacao (*Theobrama cacao* L). Repositorio Iniap. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5320>.

Vargas, H., & Gilchrist, E. (2015). Producción de enzimas hidrolíticas y actividad antagonica de *Trichoderma asperellum* sobre dos cepas de *Fusarium* aisladas de cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*). *Revista Mexicana de Micologia*, 42, 9-16. <https://www.redalyc.org/pdf/883/88343040003.pdf>.

- Veintimilla, I. (2018). Propagación *in vitro* de Banano (*Musa acuminata* cv. "Gran enano") en diferentes condiciones de incubación Tesis de grado. Universidad Zamorano: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6421/1/CPA-2018-T098.pdf>.
- Vézina, A., Bergh, I. V., Crichton, R., & Ruas, M. (2018). Planta de banano cultivar Gros Michel. Promusa. [http://www.promusa.org/Gros+Michel?page\\_ref\\_id=107#Morphological\\_characteristics](http://www.promusa.org/Gros+Michel?page_ref_id=107#Morphological_characteristics).
- Wu, Q., Sun, R., Ni, M., Yu, J., Yu, C., & Dou, K. (2017). Identification of a novel fungus, *Trichoderma asperellum* GDFS1009, and comprehensive evaluation of its biocontrol efficacy. Plos one, 1-3. <https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0179957&type=printable>.
- Zapata, S. (2019). Desarrollo de estrategias de control del fitopatógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* (Foc) a partir de la diversidad microbiana. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/76940>

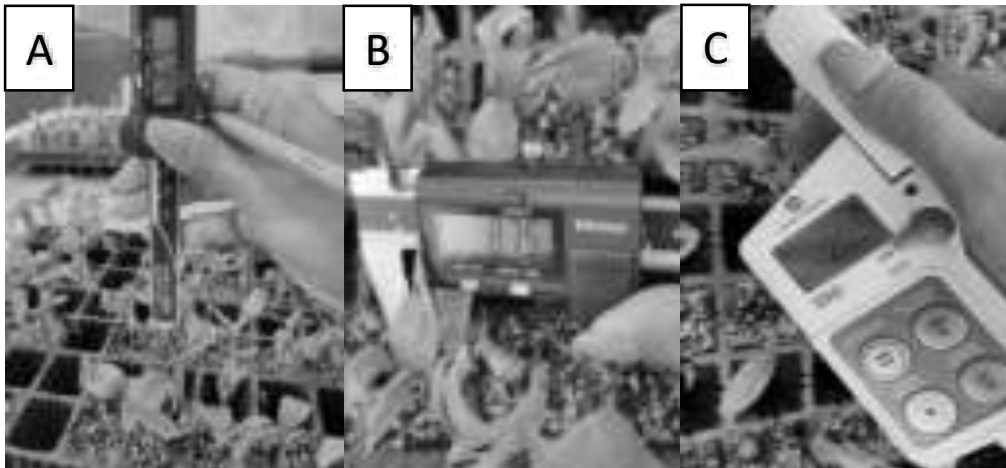
## ANEXO

Anexo 1. Georreferenciación del área a realizar el proyecto.



Autor: (Google Earth, 2019).

Anexo 2. Variables de medición



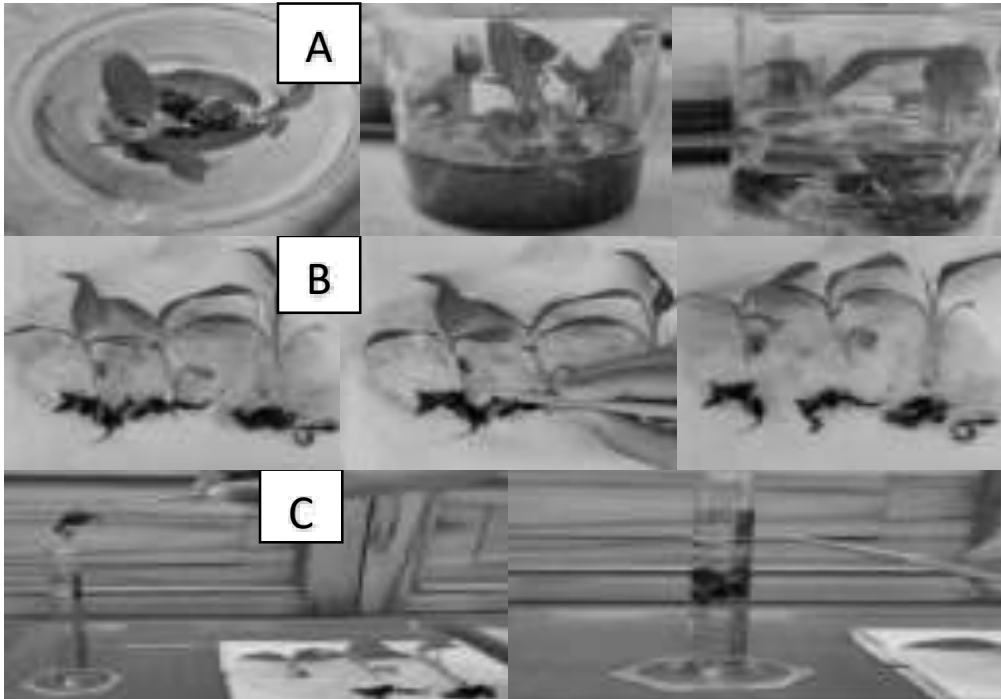
Fuente: Mayorga (2021)

A. Altura de la planta.

B. Diámetro del pseudotallo.

C. Medición de Clorofila

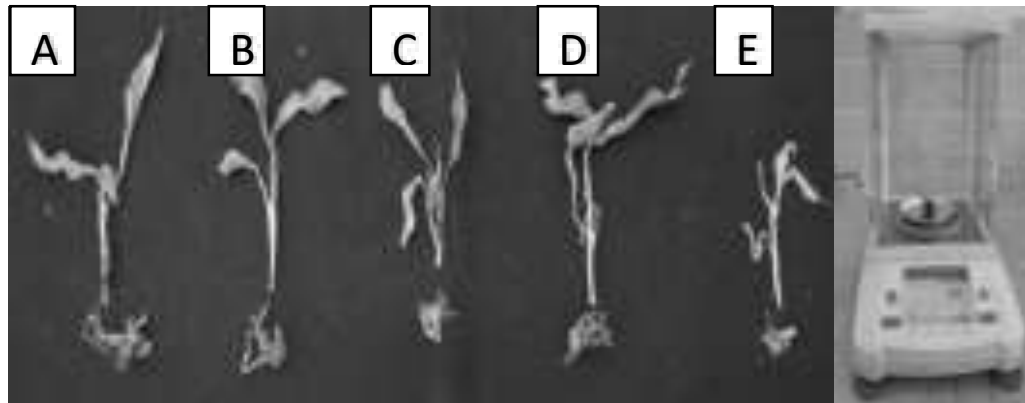
### Anexo 3. Volumen radicular.



Fuente: Mayorga (2021)

- A. lavado y enjuague de las raíces
- B. Separación de la raíz de la planta.
- C. Medición del volumen radicular.

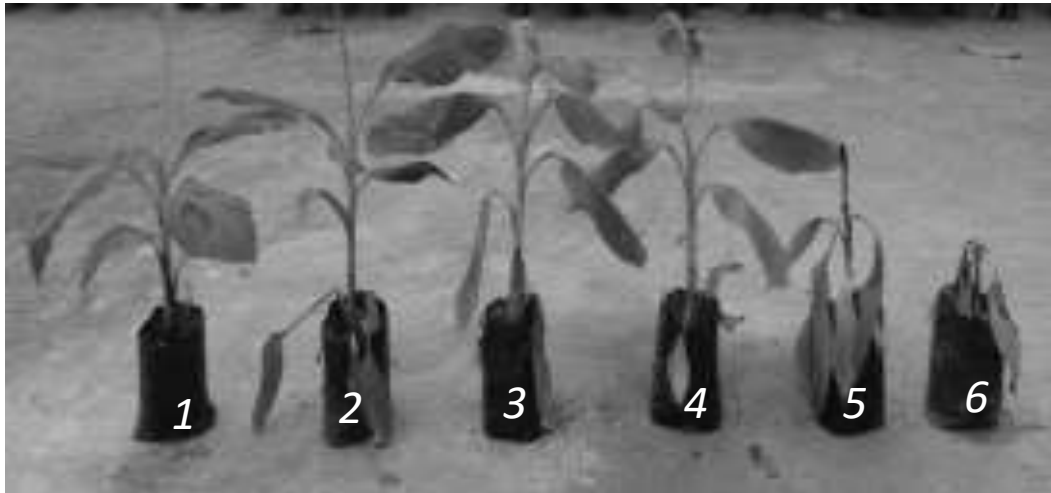
### Anexo 4. Peso seco de las plantas con cada uno de los tratamientos.



Fuente: Mayorga (2021)

- A.T. *asperellum*.
- B. T. *harzianum*.
- C. T. *virens*.
- D. Mix.
- E. Testigo

#### Anexo 5. Escala de Severidad para Foc.



Fuente: Mayorga (2021)

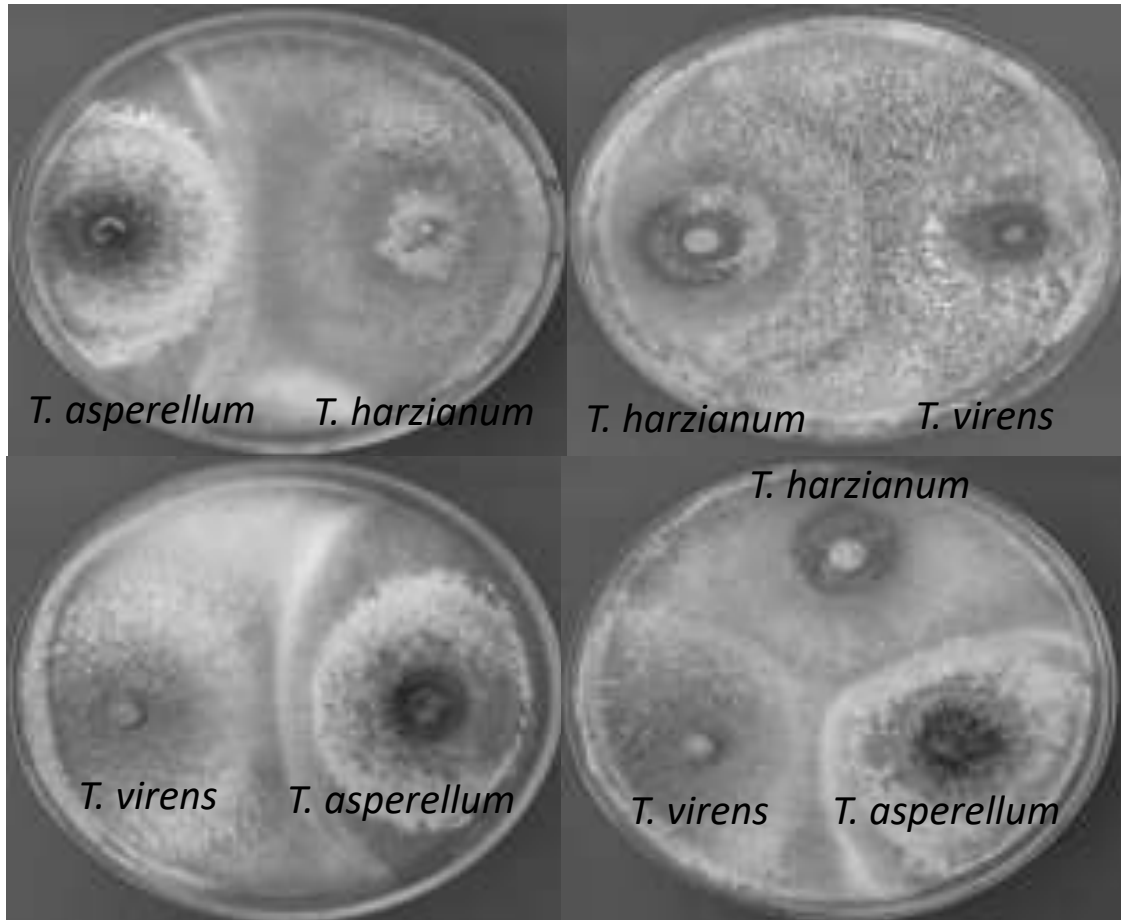
1. Ausencia de la enfermedad.
2. Amarillamiento en hojas viejas.
3. Amarillamiento en hojas bajas.
4. Amarillamiento en hojas jóvenes.
5. Severo marchitamiento.
6. Muerte de la planta.

#### Anexo 6. Activación de las cepas de *Trichoderma* spp.



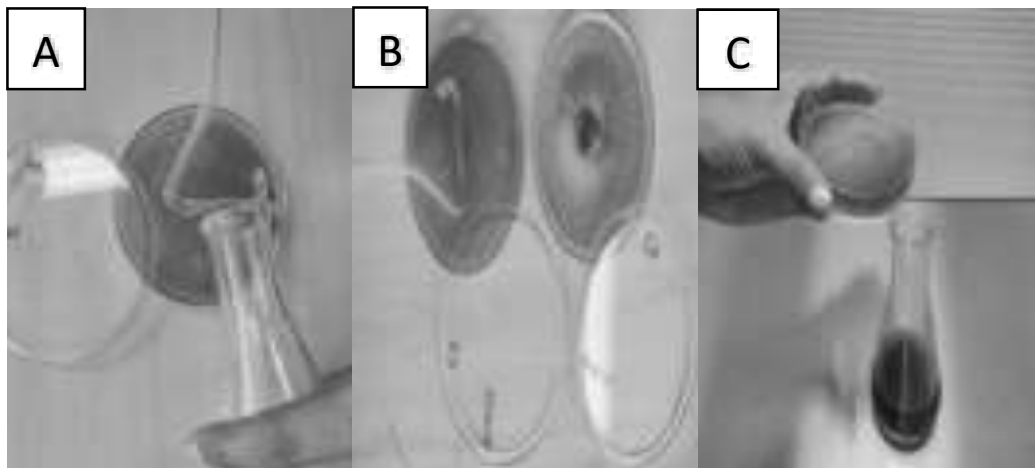
Fuente: Mayorga (2021)

Anexo 7. Compatibilidad entre cepas de *Trichoderma* spp.



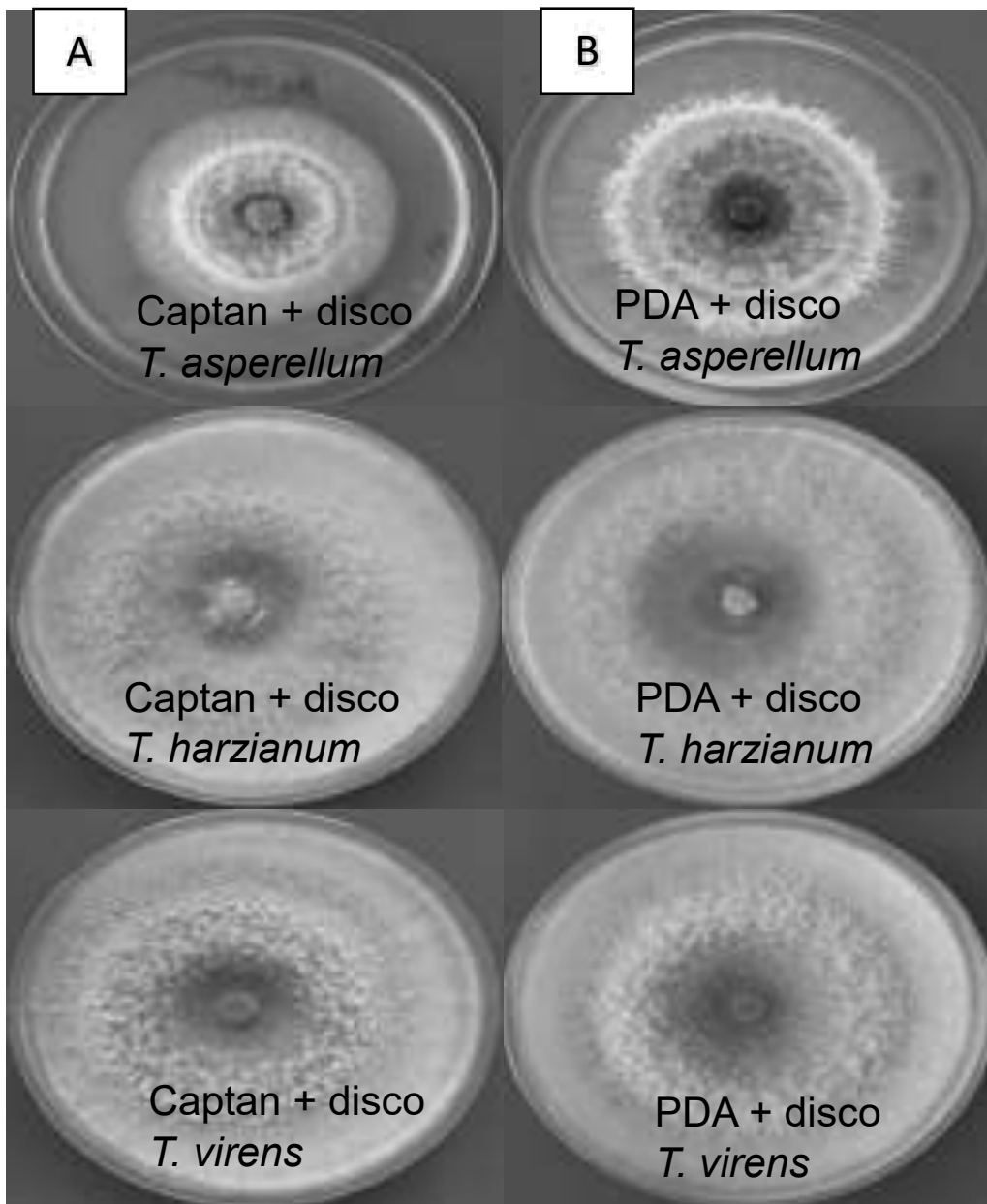
Fuente: Mayorga (2021)

Anexo 13. Preparación del Inoculo de *Trichoderma* spp.



Fuente: Mayorga (2021)

Anexo 8. Compatibilidad de *Trichoderma* spp., con fungicida captan.



Fuente: Mayorga (2021)

A. Captan + disco de *Trichoderma* spp.

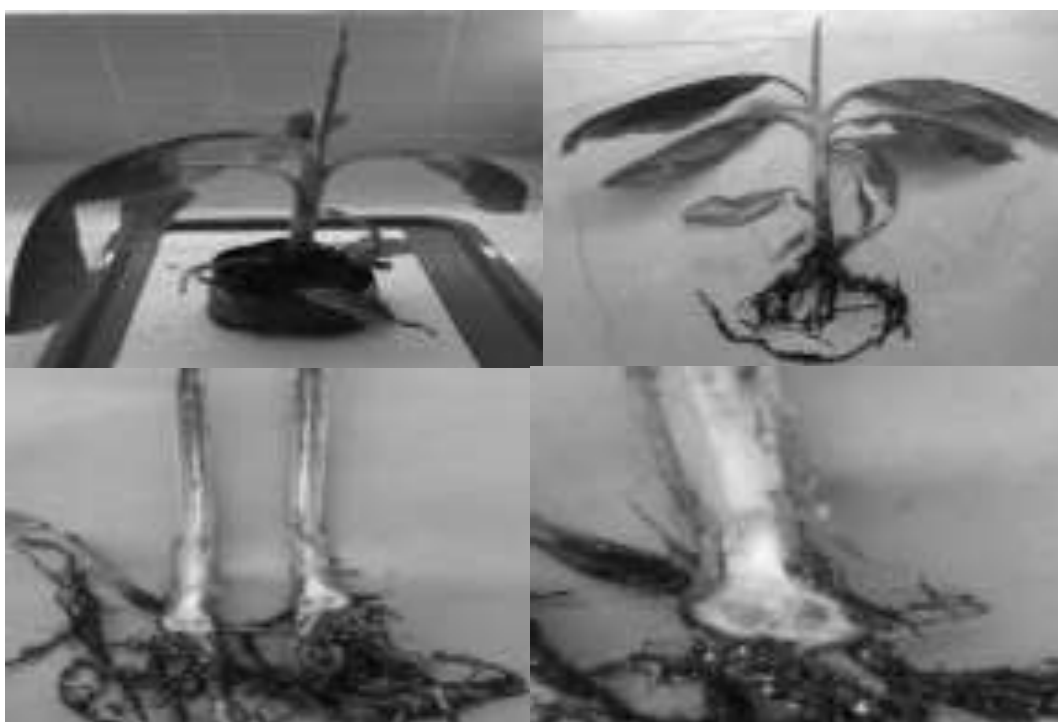
B. PDA + disco de *Trichoderma* spp.

Anexo 9. Vitroplantas en pre- aclimatación.



Fuente: Mayorga (2021)

Anexo 10. . Planta con sintomatología de *Foc*.



Fuente: Mayorga (2021)

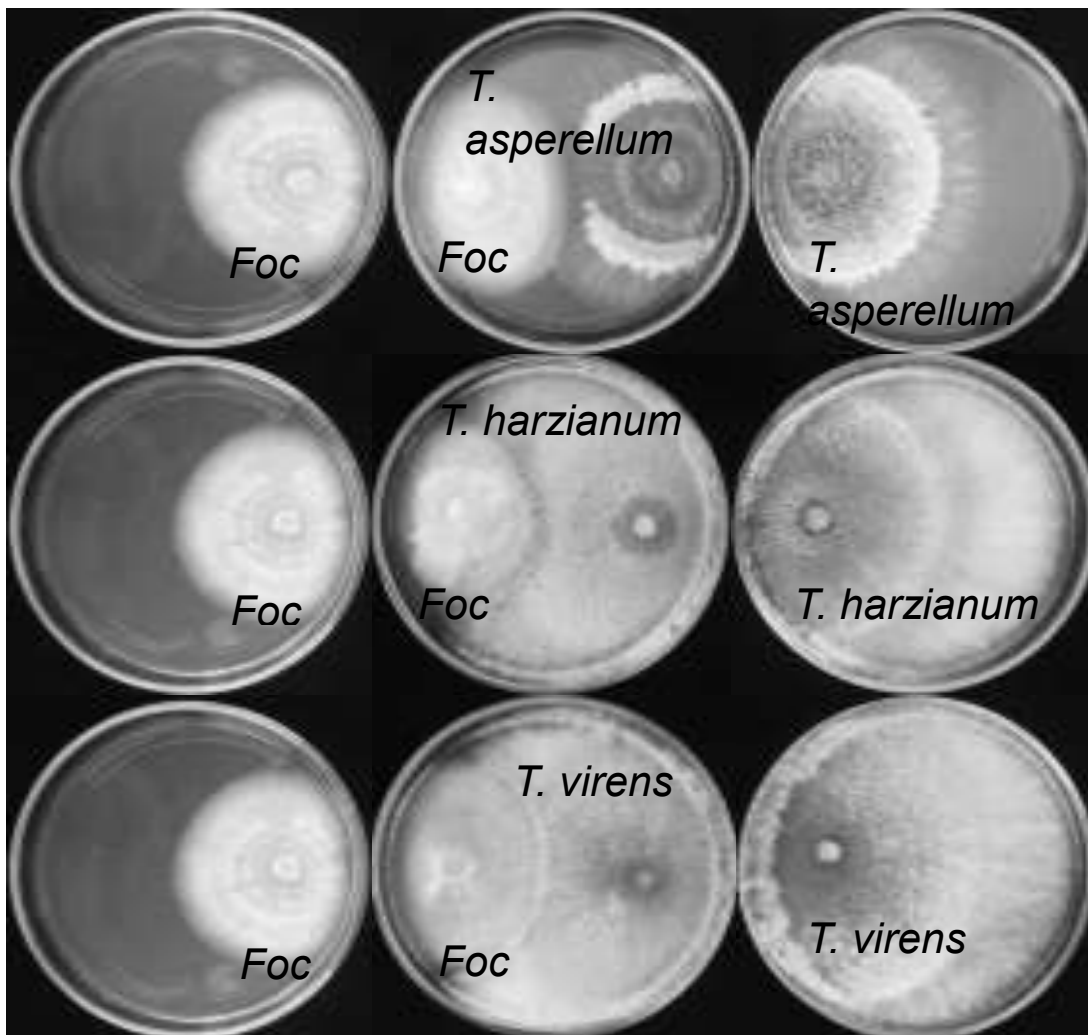


Anexo 11. Proceso de siembra para identificar *Foc*.



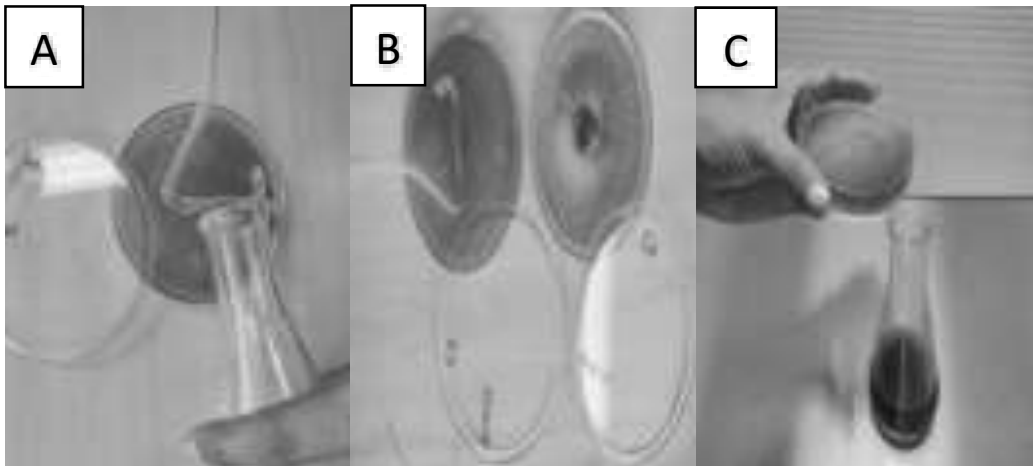
Fuente: Mayorga (2021)

Anexo 12. Confrontación de cepas de *Trichoderma* spp., contra *Foc*.



Fuente: Mayorga (2021)

Anexo 13. Preparación del Inoculo de *Trichoderma* spp.



Fuente: Mayorga (2021)

A. Se agrega el agua en la caja Petri con micelio.

B. se remueve con una aza hasta que todo el micelio este disuelto.

C. Se vasa en un Erlenmeyer esterilizado.

Anexo 14. Inoculación de vitroplantas con *Trichoderma* spp.



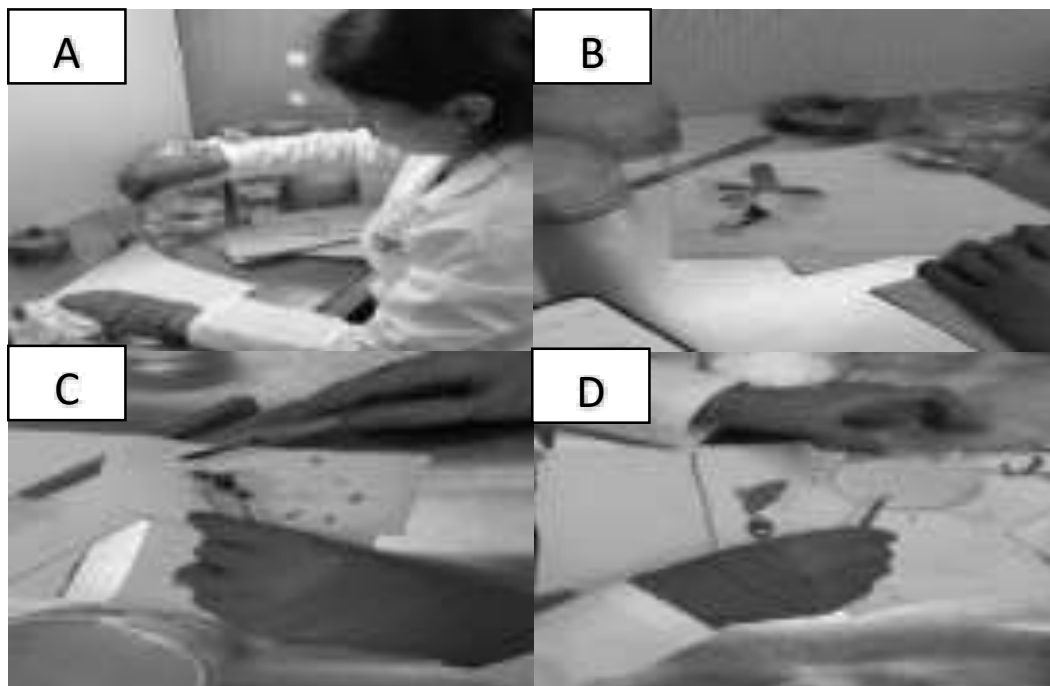
Fuente: Mayorga (2021)

Anexo 15. Inoculación de *Foc* a plantas inoculadas con *Trichoderma* spp.



Fuente: Mayorga (2021)

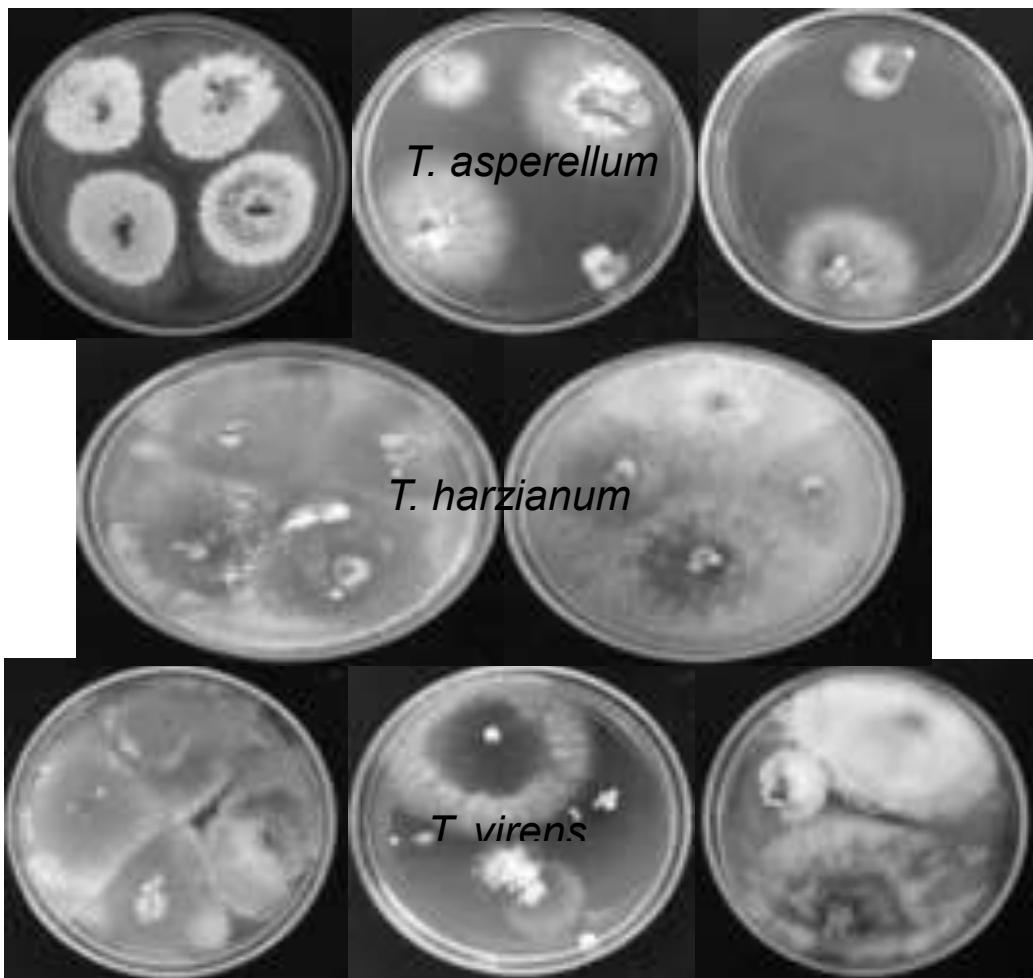
Anexo 16. Siembra para la identificación de *Trichoderma* spp.



Fuente: Mayorga (2021)

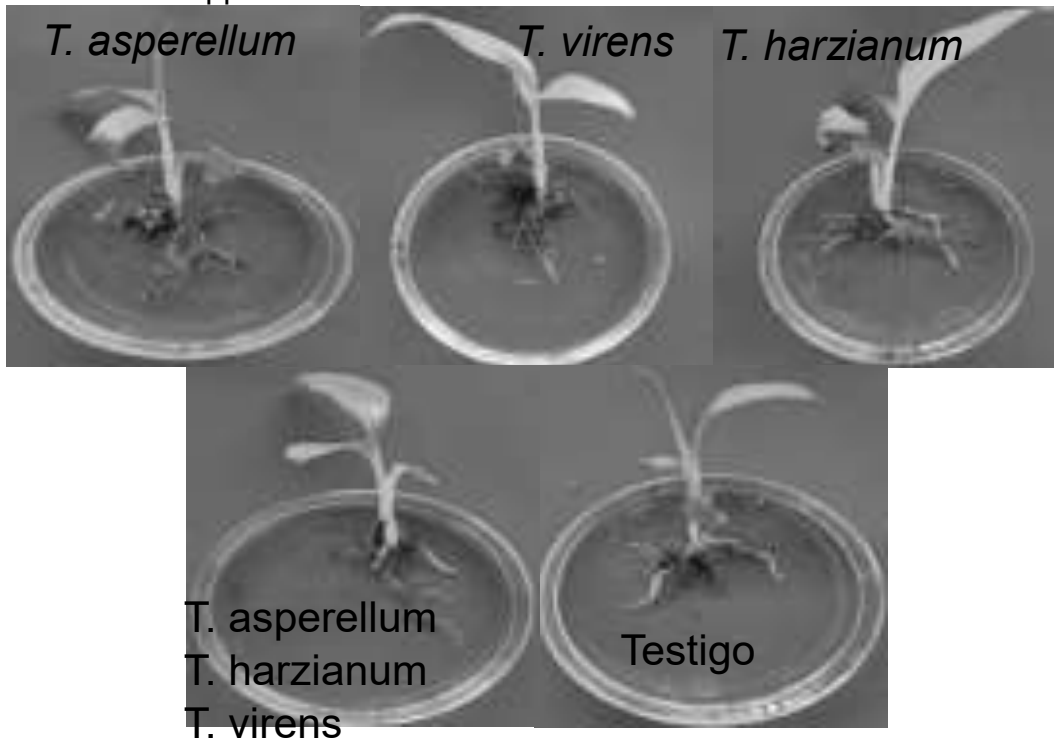
- A. Lavado de las plantas
- B. Secado de las plantas
- C. Corte y selección.
- D. Siembra de los trozos de la planta

Anexo 17. Recuperación de *Trichoderma* spp.



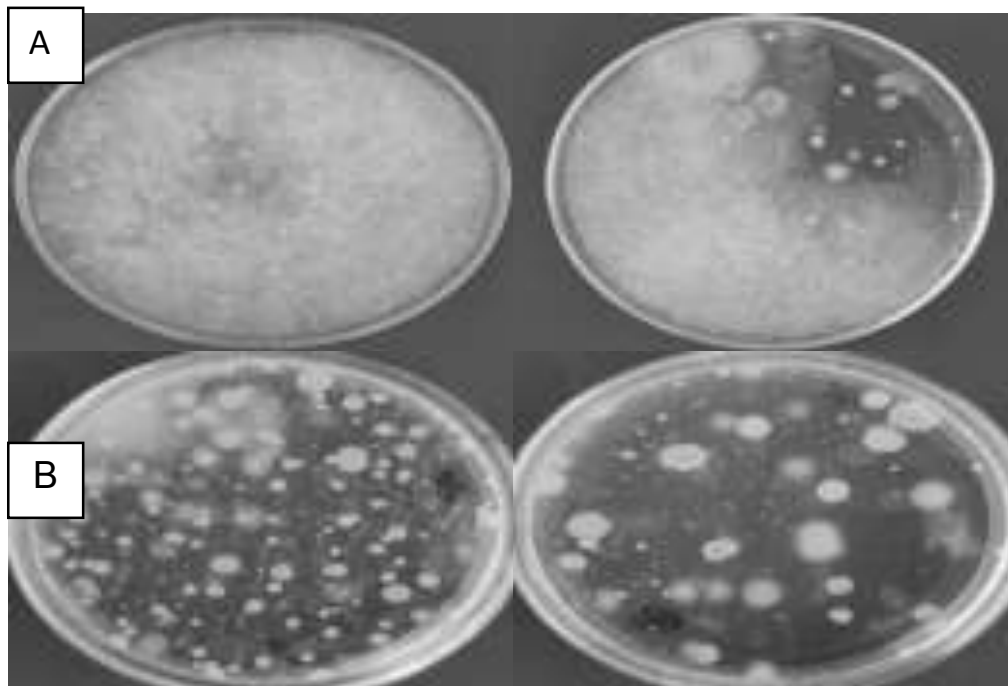
Fuente: Mayorga (2021)

Anexo 18. Volumen radicular de las vitroplantas inoculadas con cepas de *Trichoderma* spp.



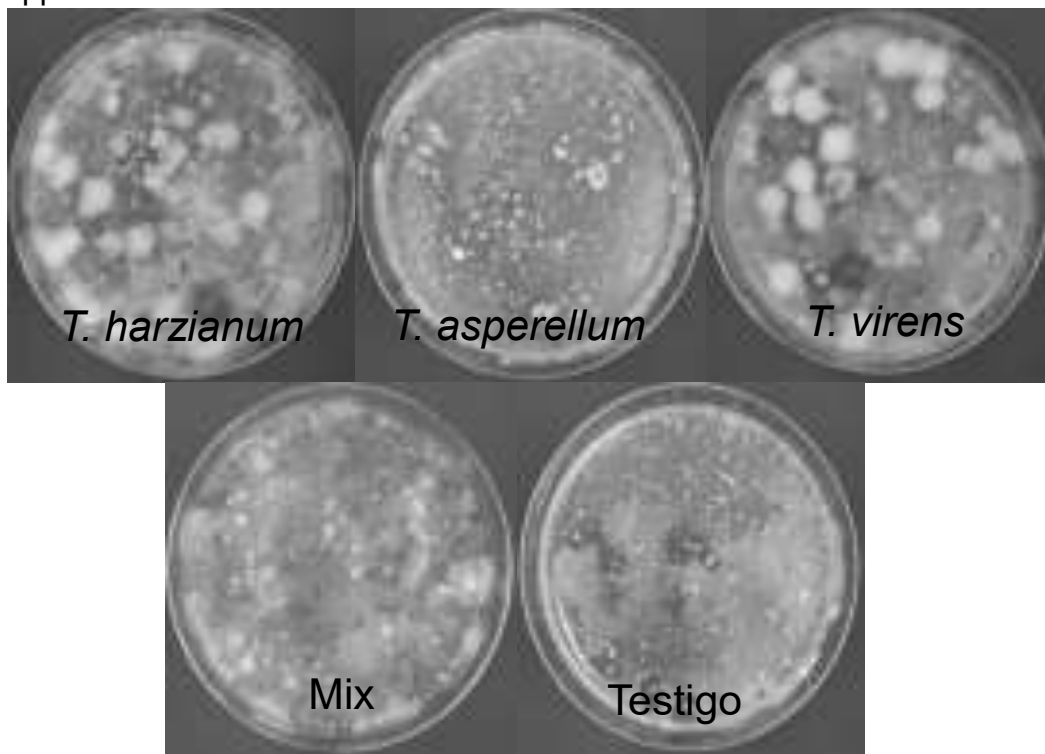
Fuente: Mayorga (2021)

Anexo 19. Dilución  $30 \times 10^{-5}$  del suelo usado para los ensayos.



Fuente: Mayorga (2021)

Anexo 20. Dilución  $30 \times 10^{-5}$  del suelo de las plantas inoculadas con *Trichoderma* spp.



Fuente: Mayorga (2021)

## APENDICES

Tabla 29. Análisis de varianza del crecimiento micelial (mm) in vitro de la compatibilidad entre cepas de *Trichoderma spp.*, durante tres días.

F. V	G. L	C.M		
		Crecimiento (mm) día 1	Crecimiento (mm) día 2	Crecimiento (mm) día 3
<b>Total</b>	134			
<b>Tratamiento</b>	26	50,34	189,97	585,46
<b>Error</b>	104	6,75	8,03	7,47
<b>Promedio C. V</b>		11,33	10,69	8,99

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 30. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición del fungicida Captan + *Trichoderma spp.*, durante tres días a nivel de laboratorio.

F. V	G. L	C.M		
		%Inhibición día 1	%Inhibición día 2	%Inhibición día 3
<b>Total</b>	29			
<b>Tratamiento</b>	5	258,17	200,12	3,38
<b>Error</b>	20	21,7	19,95	1,46
<b>Promedio C. V</b>		78,69	117,11	189,71

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 31. Análisis de varianza del crecimiento micelial (mm) de las cepas de *Trichoderma spp.*, + el fungicida Captan durante tres días a nivel de laboratorio.

F. V	G. L	C.M		
		Crecimiento (mm) día 1	Crecimiento (mm) día 2	Crecimiento (mm) día 3
<b>Total</b>	29			
<b>Tratamiento</b>	5	164,48	736,64	5,88
<b>Error</b>	20	3,29	15,28	1,65
<b>Promedio C. V</b>		6,11	5,67	1,65

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 32. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición de las cepas de *Trichoderma* spp., hacia *Foc* durante dos días a nivel in vitro.

F. V	G. L	C.M	
		%Inhibición día 1	%Inhibición día 2
<b>Total</b>	19		
<b>Tratamiento</b>	3	5,44	159,41
<b>Error</b>	12	2,58	3,37
<b>Promedio C. V</b>		108,75	25,64

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 33. Análisis de varianza del crecimiento micelial (mm) de las cepas de *Trichoderma* spp., y *FOC* confrontadas durante dos días a nivel in vitro.

F. V	G. L	C.M	
		Crecimiento (mm) día 1	Crecimiento (mm) día 2
<b>Total</b>	49		
<b>Tratamiento</b>	9	68,62	211,77
<b>Error</b>	36	0,66	0,49
<b>Promedio C. V</b>		5,58	2,48

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 34. Análisis de varianza de la altura y diámetro del pseudotallo de vitroplantas de banano Gros Michel y Cavendish con los tratamientos de *Trichoderma* spp., a los 12 y 26 días después de la siembra en bandeja a nivel de umbráculo.

F. V	G. L	C.M			
		Altura (cm) 12 días	Diámetro (mm) 12 días	Altura (cm) 26 días	Diámetro (mm) 26 días
<b>Total</b>	539				
<b>Tratamiento</b>	17	702,13	2,6	1163,81	8,41
<b>Error</b>	520	194,21	1,02	470,94	2,36
<b>Promedio C. V</b>		24,79	23,65	34,9	32,19

Fuente: Mayorga (2021)



Tabla 35. Análisis de varianza para el volumen de raíz (ml) de las vitroplantas de Gros michel y Cavendish con los tratamientos de *Trichoderma* spp., a los 30 días después de la siembra en bandeja.

F. V	G. L	C.M
Volumen radicular (ml)		
<b>Total</b>	89	
<b>Tratamiento</b>	9	0,21
<b>Error</b>	78	0,02
<b>Promedio C. V</b>		32,39

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 36. Análisis de varianza del peso seco en gramos de las vitroplantas (raíz, planta y peso total) de Gros michel y Cavendish con los tratamientos de *Trichoderma* spp., a los 30 días después de la siembra en bandeja.

F. V	G. L	C.M		
		P. seco planta (g) 30 días	P. seco raíz (g) 30 días	P. seco total planta (g) 30 días
<b>Total</b>	89			
<b>Tratamiento</b>	9	7168,65	7032,58	26514,29
<b>Error</b>	78	959,45	1472,82	4328,97
<b>Promedio C. V</b>		36,88	46,68	39,59

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 37. Análisis de varianza de la producción de clorofila de las vitroplantas de Gros michel y Cavendish con los tratamientos de las cepas de *Trichoderma* spp., a los 15 y 28 días después de la siembra en bandeja.

F. V	G. L	C.M	
		Clorofila (SPAD) 15 días	Clorofila (SPAD) 28 días
<b>Total</b>	215		
<b>Tratamiento</b>	17	75,17	111,84
<b>Error</b>	196	58,63	68,38
<b>Promedio C. V</b>		24,05	19,44

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 38. Análisis de varianza del porcentaje de incidencia de los tratamientos de *Trichoderma* spp., con *Foc* en plantas Gros michel considerando tres evaluaciones 2da, 7ma y 9na semana después de la inoculación con *Foc*.

F. V	G. L	C.M		
		% Incidencia sem 2	% Incidencia sem 7	% Incidencia sem 9
<b>Total</b>	23			
<b>Tratamiento</b>	7	702,38	1445,24	3047,62
<b>Error</b>	14	130,95	186,31	163,69
<b>Promedio C. V</b>		72,27	65,52	51,18

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 39. Análisis de varianza de la severidad de los tratamientos de *Trichoderma* spp., con *Foc* en las plantas de Gros michel.

F. V	G. L	C.M			
		Escala severidad sem 2	Escala severidad sem 6	Escala severidad sem 8	Escala severidad sem 9
<b>Total</b>	239				
<b>Tratamiento</b>	7	2,7	5,94	32,66	76,71
<b>Error</b>	230	1,11	1,8	1,45	1,3
<b>Promedio C.V</b>		77,05	88,13	68,73	58,43

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 40. Análisis de varianza de la producción de clorofila de las vitroplantas de Gros michel con los tratamientos de *Trichoderma* spp., y *Foc* en la 2da y 8va semana después de la inoculación con *Foc*.

F. V	G. L	C.M	
		Clorofila (SPAD) 2 <sup>da</sup> sem	Clorofila (SPAD) 8 <sup>va</sup> sem
<b>Total</b>	71		
<b>Tratamiento</b>	7	132,91	2198,41
<b>Error</b>	62	23,63	24,14
<b>Promedio C. V</b>		9,89	8,84

Fuente: Mayorga (2021)

Tabla 41. Análisis de varianza de la altura de la planta (cm) al finalizar el ensayo a nivel de umbráculo

<b>F. V</b>	<b>G. L</b>	<b>C.M</b> <b>Altura de planta</b> <b>(cm)</b>
<b>Total</b>	239	
<b>Tratamiento</b>	7	4464,23
<b>Error</b>	230	91,85
<b>Promedio C. V</b>		32,48

Fuente: Mayorga (2021)