



## FICHA TÉCNICA **CB-32**

### **ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE CEPAS NATIVAS DE *Trichoderma* CONTRA LA FUSARIOSIS DE LAS MUSÁCEAS**

CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA FITOSANITARIA  
DEPARTAMENTO DE CONTROL BIOLÓGICO

#### **INTRODUCCIÓN**

La Fusariosis de las musáceas causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (Foc) ha sido catalogada a nivel mundial como una de las enfermedades más destructivas del cultivo de banano y plátano (Ibarra-Zapata *et al.*, 2021). Inicialmente la Raza 1 (Foc R1) y la Raza 2 (Foc R2) fueron reconocidas por causar enfermedad en plantas de banano y plátano. Posteriormente, se reconoció que la Raza 3 (Foc R3) está restringida a la familia Heliconiaceae. Actualmente, se reporta que *Fusarium* Raza 4 Tropical (Foc R4T), representa una gran amenaza para las variedades del subgrupo Cavendish.

En este sentido, el uso de microorganismos antagonistas para la protección de cultivos agrícolas es una realidad; en especial, algunas especies de *Trichoderma* spp. las cuales han acaparado la atención como agentes de control biológico contra hongos fitopatógenos del suelo, como Foc (Michel-Aceves *et al.*, 2013). Su eficacia es atribuida a su rápido crecimiento, alta capacidad de colonización y a la producción de metabolitos con actividad antimicrobiana (González-León *et al.*, 2022). Muchos microorganismos han sido evaluados y reportados como posibles agentes de control biológico de Foc, siendo *Trichoderma* el género fúngico más utilizado y destacado (Guzmán-Guzmán *et al.*, 2023).

Bajo este contexto, Taribuka *et al.* (2017) evaluaron la capacidad de *Trichoderma* como endófito para inducir la resistencia de las plantas contra la marchitez por *Fusarium*. Los resultados mostraron que la capacidad de antagonismo de *Trichoderma gamsii*, contra *F. oxysporum* f.sp. *cubense* fue de un 60.61%.

En otro estudio, Catambacan & Cumagun (2021) determinaron la actividad antagonista de hongos endófitos contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* R4T (Foc R4T), los cuales fueron aislados de malezas que crecían en fincas bananeras Cavendish. De acuerdo con sus resultados, se observó que el 13.72% de los hongos endófitos aislados de las raíces de malas hierbas mostró actividad antagonista sobre Foc R4T. Entre los endófitos que mostraron inhibición significativa se encuentran *Lasiodiplodia theobromae* TDC029 (99.31%), *Trichoderma asperellum* TDC075 (87.09%) y *Ceratobasidium* sp. TDC037 (80.63%).

Por lo tanto, el control biológico a través del uso de aislados nativos de *Trichoderma*, representa una excelente alternativa para el manejo integrado de la enfermedad, implementar acciones preventivas contra el fitopatógeno y mejorar la salud del suelo agrícola.

#### **CONCEPTOS**

**Aislamiento.** Es la obtención de un cultivo fúngico puro, extraído de un ambiente a otro mediante técnicas de laboratorio, con la finalidad de inducir su crecimiento en medios de cultivo artificiales para su identificación (SENASICA, 2020).

**Antagonista.** Microorganismo que ejerce un efecto de control biológico sobre diferentes fitopatógenos de interés agrícola (Hernández-Lauzardo *et al.*, 2007).

**Antibiosis.** Es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos que son producidos por un microorganismo sobre otro sensible (Infante *et al.*, 2009).

**Cepa nativa.** Son aquellas que provienen de un entorno nativo y que presentan buena adaptación y eficiencia para competir con otros microorganismos del suelo (Bongiovani, 2015).

**Competencia.** El comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes) (Infante *et al.*, 2009).

**Endófito:** Es un microorganismo que habita dentro de la planta sin causar síntomas aparentes de enfermedad (Sánchez-Fernández *et al.*, 2013).

**Fitopatógeno.** Microorganismo capaz de causar una enfermedad en plantas (Monge-Pérez, 2021).

**Micoparasitismo.** Es la interacción antagonista-fitopatógeno, que ocurre en cuatro etapas: crecimiento quimiotrófico, reconocimiento, adhesión y enrollamiento de una hifa. Dentro de este mecanismo se ven involucradas enzimas extracelulares de tipo quitinasas y celulasas (Cruz-Díaz, 1994).

## OBTENCIÓN DE AISLADOS NATIVOS DE *Trichoderma*

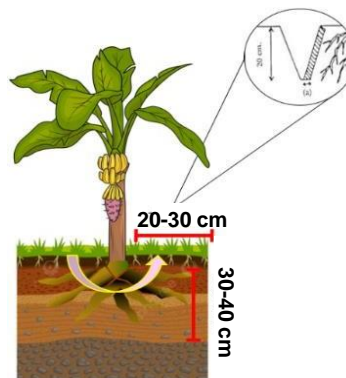
### Colecta de suelo rizosférico

- Tomar muestras de suelo simples en al menos 20 puntos por hectárea (Técnica de 5 de oros).
- Eliminar la capa superficial de materia orgánica y de suelo (aprox. 5 cm) con una pala.
- Muestrear a una distancia de 20-30 cm alrededor del pseudotallo y a una profundidad de 30-40 cm (Fig. 1).

- Cada punto o muestra simple, deberá conformar una muestra compuesta de 1 kg.
- Guardar la muestra en doble bolsa plástica; entre cada una situar una etiqueta con los datos correspondientes al sitio de muestreo.

Se recomienda:

- No muestrear plantas enfermas.
- Evitar sectores de paso o caminos.
- Evitar suelos muy secos o muy húmedos.
- Evitar la desecación de la muestra o exposición directa al sol.
- Procesar las muestras dentro de los primeros 5 días (d).



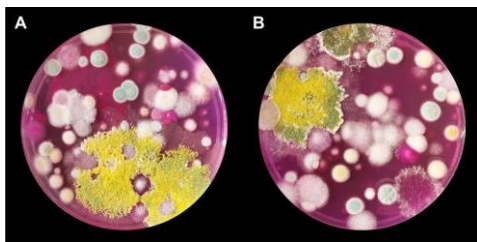
**Figura 1.** Esquema para la toma de muestras de suelo en *Musa* spp.

### Técnica de dilución en placa

El aislamiento de suelo se realizará de acuerdo con el protocolo descrito por de Souza *et al.* (2003):

1. A partir de muestras compuestas, pesar 25 g de suelo en una balanza.
2. Agregar 25 g de suelo en 225 mL de agua destilada estéril (dilución de 1:10).
3. Agitar la muestra durante 30 min en placa de agitación orbital hasta obtener una suspensión de suelo homogénea.

4. Dejar sedimentar las partículas grandes de la primera suspensión de suelo y con una micropipeta tomar un 1 mL de la dilución y transferir a un nuevo matraz con 99 mL de agua destilada estéril para la obtención de una dilución 1:1000 ( $10^{-3}$ ).
5. Agregar 1 mL de la suspensión de suelo  $10^{-3}$  a cada caja de Petri y vaciar 20 mL de medio Rosa de Bengala (0.20 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.90 g de  $K_2HPO_4$ , 1 g de  $NH_4NO_3$ , 0.15 g de KCl, 0.15 g de rosa de bengala, 3 g de glucosa y 20 g de agar en 1 L de agua destilada; esterilizar a 121 °C, por 15 min) (Covacevich & Consolo, 2014), a una temperatura de 45 °C.
6. Incubar a  $27 \pm 2$  °C durante 72 h. Se sugiere revisar constantemente hasta observar la formación de colonias (**Fig. 2**).



**Figura 2.** Microbioma del suelo. A) Veracruz; B) Tabasco.

La purificación de las colonias de *Trichoderma* será realizada por punta de hifa en medio Papa Dextrosa Agar (PDA) (SENASICA, 2022). Incubar bajo las condiciones descritas en el apartado 6, hasta observar el crecimiento puro y la esporulación del aislamiento.

#### Identificación de aislados de *Trichoderma*

Las características macroscópicas de *Trichoderma* que deberán ser tomadas en cuenta son (Salazar *et al.*, 2012; Bismar-Hernández, 2022):

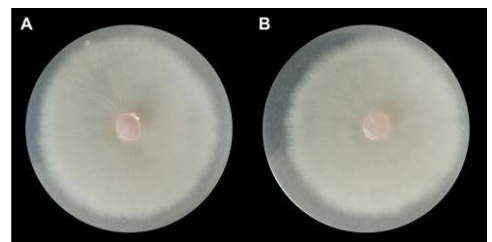
- Color del micelio (blanco, verde, amarillo) al anverso y reverso de la colonia;
- Forma de la colonia;
- Presencia de anillos concéntricos;
- Aspecto (algodonosa, polvosa, esporulante);
- Pigmentación de la colonia.

Se recomienda observar diariamente la morfología de la colonia, registrar los cambios de coloración y tomar evidencia fotográfica para documentar y tener un registro de los resultados obtenidos.

Para la observación microscópica de los antagonistas se considerarán estructuras como fiálides, conidióforos, conidios, hifas y floretes (árboles). Las claves taxonómicas utilizadas para la identificación de *Trichoderma* a nivel de género taxonómico fueron las descritas por Barnett y Hunter (1998).

#### Modelo fitopatogénico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Como modelos patogénicos serán utilizadas dos razas de Foc: Foc R1 y Foc R2 presentes en México (SENASICA, 2022). La reactivación de ambos aislados se realizará en medio PDA (**Fig. 3**).



**Figura 3.** Aislados de los fitopatógenos. A) Foc R1; B) Foc R2.

## PROCEDIMIENTO DEL BIOENSAYO

### Evaluación del antagonismo *in vitro*

Las pruebas de antagonismo consistirán en la siembra de discos de 9 mm con el micelio de *Trichoderma* en un extremo de la placa de Petri y, del otro lado, discos de Foc R1 o Foc R2, manteniendo una distancia de 4-4.5 cm entre ellos.

Como controles, serán utilizados discos de Foc R1 y Foc R2 sin confrontar. Los aislados confrontados y sus controles, deberán ser incubados a 27 °C ± 2 °C durante 7 d o hasta que el micelio del tratamiento control cubra por completo la placa de Petri.

El número de replicas será de cuatro por tratamiento y los experimentos deberán ser repetidos independientemente dos veces. El porcentaje de inhibición del crecimiento de micelio (PICM) de Foc R1 y Foc R2, se calculará utilizando la siguiente fórmula desarrollada por Matarese *et al.* (2012):

$$\text{PICM (\%)} = \left[ \frac{|R_1 - R_2|}{R_1} \right] \times 100$$

Donde:

R1= Crecimiento radial del control sin confrontar (fitopatógeno)

R2= Crecimiento radial del control (fitopatógeno) en confrontación con *Trichoderma*.

La capacidad antagónica de *Trichoderma* sobre las cepas patogénicas de Foc se determinará a través de la escala de Bell *et al.* (1982).

## LITERATURA CITADA

- Barnett, H. L., & B. B. Hunter.** 1998. Illustrated genera of imperfect fungi (4ed.). Minesota: Prentice-Hall, INC.).
- Bell, K., Wells, D., y Markham, R.** 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*, 72: 379-382
- Bismar-Hernández, P.** 2022. Caracterización de aislados nativos de *Trichoderma* spp para el control de hongos de suelo, Olancho Honduras, 2019 (Tesis de grado). Universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua.
- Bongiovani, N. S.** 2015. Evaluación del potencial de una cepa nativa de *Nannochloropsis oceanica* CCALA 978 (Eustigmatophyta) como fuente de materia prima para la producción de biodiesel (Tesis de grado). Universidad Nacional del Sur. Argentina.
- Catambacan, D. G., & C. J. R. Cumagun.** 2021. Weed-associated fungal endophytes as biocontrol agents of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* TR4 in cavendish banana. *Journal of Fungi*, 7(3): 224
- Covacevich, F., & V. F. Consolo.** 2014. Manual de protocolos: herramientas para el estudio y manipulación de Hongos Micorrízicos Arbusculares y *Trichoderma* (1 ed.) . Argentina: INTA.
- Cruz-Díaz, J. D. L.** 1994. Purificación y caracterización de hidrolasas implicadas en el microparasitismo de *Trichoderma harzianum*.
- De Souza, J. T., M. De Boer., P. De Waard., T. A. Van Beek., & J. M. Raaijmakers.** 2003. Biochemical, genetic, and zoosporicidal properties of cyclic lipopeptide surfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12): 7161-7172.
- González-León, Y., J. Ortega-Bernal., M.A. Anducho-Reyes., & Y. Mercado-Flores.** 2022. *Bacillus subtilis* y *Trichoderma*: Características generales y su aplicación en la agricultura. TIP. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 25.

- 
- Guzmán-Guzmán, P., A. Kumar., S. de Los Santos-Villalobos., F. I. Parra., M. D. Orozco., A. E. Fadji., S. Hyder., O. B. Oluranti., & G. Santoyo. 2023.** *Trichoderma* species: our best fungal allies in the biocontrol of plant diseases—a review. *Plants*, 12(3): 432.
- Hernández-Lauzardo, A. N., S. Bautista-Baños., M. G. Velázquez-del Valle., & A. Hernández-Rodríguez. 2007.** Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades postcosecha en frutos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 25(1): 66-74.
- Ibarra-Zapata, E., E. Ibarra-Zapata., C. A. Aguirre-Salado., L. Miranda-Aragón., M. Escoto-Rodríguez., C. Loredó-Osh., G. Mora-Aguilera., M. Casiano-Domínguez., A. I. Aguirre-Salado., C. Ramos-Méndez., N. Villegas-Jiménez., C. R. Urías-Morales., & R. González-Gómez. 2021.** Análisis geoespacial fitosanitario de la Fusariosis de las Musáceas a nivel global, con énfasis en América Pantropical. *Investigaciones Geográficas*, 106: 1-17.
- Infante, D., B. Martínez., N. González., & Y. Reyes. 2009.** Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de protección vegetal*, 24(1): 14-21.
- Matarese, F., S. Sarrocco., S. Gruber., V. Seidl-Seiboth., & G. Vannacci. 2012.** Biocontrol of *Fusarium* head blight: interactions between *Trichoderma* and mycotoxigenic *Fusarium*. *Microbiology*, 158(1): 98-106.
- Michel-Aceves, A. C., M. A. Otero-Sánchez., R. Ariza-Flores., A. Barrios-Ayala., & N. Alarcón-Cruz. 2013.** Eficiencia biológica de cepas nativas de *Trichoderma* spp., en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc., en cacahuete. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 17(3): 89-107.
- Monge-Pérez, J. E. 2021.** Hongos fitopatógenos. Universidad de Costa Rica.
- Sánchez-Fernández, R. E., B. L. Sánchez-Ortiz., Y. K. M. Sandoval-Espinosa., Á. Ulloa-Benítez., B. Armendáriz-Guillén., M. C. García-Méndez., & M. L. Macías-Rubalcava. 2013.** Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP Revista especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16(2): 132-146.
- Salazar, L. A., G. Y. Aponte., M. D. J. Alcano., N. H. Sanabria., & J. J. Guzmán. 2012.** Importancia de las especies de *Trichoderma* para el control de *Macrophomina phaseolina* en las áreas agrícolas del estado Aragua, Venezuela. *Agronomía tropical*, 62(1-4): 007-016.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2020.** Panorama internacional de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 4 tropical. Análisis Estratégico de Riesgos Sanitarios. México.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2022.** Protocolo de diagnóstico: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 4 tropical (marchitez por Fusarium). Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. México.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). 2023.** Panorama internacional de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* raza 4 tropical (fusariosis de las musáceas). México.
- Taribuka, J., A. Wibowo., S. M. Widyastuti., & C. Sumardiyono. 2017.** Potency of six isolates of biocontrol agents endophytic *Trichoderma* against *Fusarium* wilt on banana. *Journal of Degraded and Mining Lands Management*, 4(2): 723-731.

---

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Nohemí García Ortiz y al Dr. Miguel Ángel Ayala Zermeño por la revisión previa a esta publicación.

Dr. Víctor M. Villalobos Arámbula  
**SECRETARIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL**  
Ing. Francisco Javier Calderón Elizalde  
**DIRECTOR EN JEFE DEL SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD,  
INOCUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA**  
M. en B. Francisco Ramírez y Ramírez  
**DIRECTOR GENERAL DE SANIDAD VEGETAL**  
M. en C. Guillermo Santiago Martínez  
**DIRECTOR DEL CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA FITOSANITARIA**  
M. en C. Jorge Antonio Sánchez González  
**JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CONTROL BIOLÓGICO**

### Elaboraron:

Ing. Yulissa Guadalupe Paredes Jurado  
Dra. Alba P. Suaste Dzul

### DEPARTAMENTO DE CONTROL BIOLÓGICO

KM 1.5 CARRETERA TECOMÁN-ESTACIÓN FFCC. C.P.  
28110 TECOMÁN, COLIMA.

TEL. (313) 32 4 07 41 y 45

<https://www.gob.mx/senasica/acciones-y-programas/centro-nacional-de-referencia-de-control-biologico-103097>

### Sugerencia de como citar esta ficha:

Paredes-Jurado, Y. G., y A. P. Suaste-Dzul. 2023. Actividad antifúngica de cepas nativas de *Trichoderma* contra la fusariosis de las musáceas. Departamento de Control Biológico, Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria, Dirección General de Sanidad Vegetal, SENASICA. Ficha Técnica CB-32, 6p.