

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
Facultad de Ingeniería



Evaluación del potencial antagonico de *Trichoderma sp.* capturado por métodos artesanales para el control de *Fusarium sp.* en plantaciones de café de finca Santa Rita Guatemala

Trabajo de graduación presentado por Daniela María Avila Cortez  
para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería  
en Biotecnología Industrial

Guatemala  
2024



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
Facultad de Ingeniería




Evaluación del potencial antagonico de *Trichoderma sp.* capturado por métodos artesanales para el control de *Fusarium sp.* en plantaciones de café de finca Santa Rita Guatemala

Trabajo de graduación presentado por Daniela María Avila Cortez  
para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería  
en Biotecnología Industrial

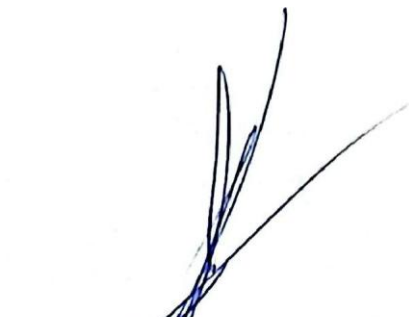
Guatemala  
2024


Vo. Bo.:


(D)   
\_\_\_\_\_

Lic. Carlo Martínez

Tribunal  
examinador:

  
\_\_\_\_\_ (f)  
Ing. Gamaliel Giovanni Zambrano Ruano, M.Sc

  
\_\_\_\_\_ (f)  
Ing. Carmen Alicia Ortiz Pineda, M.A

(f)   
\_\_\_\_\_

Lic. Carlo Martínez

Fecha de aprobación: Guatemala 10 de diciembre de 2024

## PREFACIO

El desarrollo de este trabajo de graduación ha sido un proceso que, más allá del ámbito académico, ha representado un reto personal y profesional. A lo largo de esta investigación, me he enfrentado a múltiples desafíos, desde la planificación experimental hasta la obtención de resultados concluyentes, lo que me ha permitido crecer y aprender en cada etapa. Como todo proyecto, no ha estado exento de limitaciones. La complejidad del trabajo de campo, la variabilidad de las condiciones experimentales y la disponibilidad de recursos fueron factores que influyeron en los tiempos y en algunos resultados, pero estos obstáculos también me ofrecieron valiosas lecciones sobre la resiliencia y la adaptabilidad, cualidades indispensables en la vida profesional. A pesar de estas dificultades, me siento satisfecha con los logros obtenidos y con el impacto que este trabajo puede generar en el control biológico de patógenos en cultivos de café.

En este arduo camino, reconozco que cada paso fue posible gracias a una fuente de fuerza superior que me sostuvo en los momentos más desafiantes. A Dios, quien ha sido mi roca, mi refugio y mi constante fuente de fortaleza. En cada paso, he sentido su mano guiándome y dándome la fuerza necesaria para superar cualquier obstáculo. Todo lo que soy y todo lo que he logrado es gracias a Su infinita misericordia y amor. Sin Su luz en mi vida, este sueño no habría sido posible. Le ofrezco este trabajo como un testimonio de su presencia constante en mi vida.

Asimismo, quiero expresar mis más profundos agradecimientos a todas las personas e instituciones que, de una u otra forma, contribuyeron a la realización de este trabajo:

A la Universidad Rafael Landívar, por brindarme la oportunidad y los recursos necesarios para llevar a cabo la parte experimental de esta investigación.

A la Asociación Nacional de Café (ANACAFÉ), por proporcionar la cepa del hongo patógeno, pieza clave para el desarrollo de este estudio.

A la Finca Santa Rita, por permitirme realizar el trabajo de campo y ofrecerme el espacio necesario para llevar a cabo esta investigación, contribuyendo de manera significativa al éxito del proyecto.

Al Ingeniero Alexander Schmidt del Instituto Tecnológico de Costa Rica (TEC), cuyo valioso asesoramiento en el proceso de aislamiento de *Trichoderma sp.* y pruebas de antagonismo fue fundamental para el éxito de esta investigación.

A la Universidad del Valle de Guatemala, por ser la institución donde me formé académicamente y por inculcar en mí los valores de rigor científico y ética profesional.

A MSc. Ing. Manuel Fernando Luna Lemus, mi asesor externo, quien no solo me brindó su apoyo académico, sino que también ha sido un pilar en mi vida personal, académica y económica. Su constante respaldo ha sido incondicional, y es una persona a quien siempre llevaré en mi corazón.

A Lic. Carlo Martínez, por su asesoría durante todo el proceso de este trabajo de graduación.

A MSc. Ing. Gamaliel Zambrano, por su apoyo y sus valiosas orientaciones académicas.

A las Ingenieras Pamela Andrea Camarero Barreda de Quiñonez y Diana Michelle Sandoval Ovalle, quienes fueron los instrumentos que Dios utilizó para llevar a cabo el proceso experimental en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Ambientales. Su ayuda fue invaluable para la culminación exitosa de este trabajo.

A MSc. Inga. Luz María Cortez Dávila, mi tía, cuyo apoyo incondicional y preocupación constante siempre han sido una fuente de fuerza y motivación en mi vida. Su presencia en cada etapa de mi camino ha sido un regalo que agradezco profundamente.

A mi amada Mamita Irma, Irma Violeta Dávila Ibarra de Cortez, mi abuelita, quien ha sido mi roca y mi fuerza. Su amor incondicional y su ejemplo de valentía y sabiduría han sido fundamentales para mi crecimiento personal. Gracias por siempre estar a mi lado y por enseñarme el verdadero significado de la familia y el sacrificio.

A mi amada mamá, Wendy Rogelia Anabella Cortez Dávila, quien ha sido mi todo. Su amor incondicional ha sido mi mayor refugio y su apoyo constante, mi mayor fortaleza. Mamá, eres el ejemplo más grande de sacrificio, generosidad y valentía que he conocido. Gracias por estar a mi lado en cada momento, por guiarme con tu sabiduría y por enseñarme a soñar en grande, pero con los pies en la tierra. Todo lo que soy es gracias a ti, y las metas que he alcanzado son el reflejo de tu amor y dedicación inquebrantable. Siempre serás mi mayor inspiración y razón para seguir adelante.

A mi hermana, María Alejandra Avila Cortez, mi compañera de vida, gracias por tu apoyo y por ser mi refugio en los momentos difíciles. Tu alegría y optimismo son un faro en mi vida, y estoy eternamente agradecido por tenerte como hermana.

A la familia Cortez Menéndez, gracias por el cariño y el apoyo que siempre me han brindado. Su presencia en mi vida ha sido una bendición invaluable.

A la familia Cortez Barahona, quienes siempre me han apoyado en cada etapa de mi vida. Su amor y compañía son una parte fundamental de mi historia.

A la familia Moreira Cortez, por su constante aliento y amor. Ustedes han sido una fuente de fuerza y motivación.

A la familia Luna Cortez, por estar siempre a mi lado, apoyándome en cada paso de este camino. Su cariño y respaldo han sido esenciales para llegar hasta aquí.

A mi amada bisabuelita, Mama Mina, cuyo amor y ejemplo sigue guiando mi camino.

Ing. Juan José Méndez Aquino, tío Juan (†), un hombre de corazón generoso. Su presencia, siempre discreta pero llena de afecto. Gracias por enseñarme, con tu ejemplo, que la verdadera grandeza está en la bondad.

Finalmente, a mis compañeras de universidad, con quienes he compartido momentos de aprendizaje, esfuerzo y compañerismo. Su apoyo y amistad han sido cruciales durante este proceso. Juntas hemos superado muchos desafíos, y estoy agradecido por haber compartido esta etapa con ustedes. Este trabajo es también de ustedes.

## ÍNDICE

PREFACIO.....	v
LISTADO DE CUADROS .....	x
LISTADO DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. JUSTIFICACIÓN.....	3
III. OBJETIVOS .....	5
IV. MARCO TEÓRICO.....	6
A. TRICHODERMA SP.....	6
B. PRODUCCIÓN DE ENZIMAS Y METABOLITOS SECUNDARIOS .....	7
C. ENZIMAS CELULOLÍTICAS .....	7
D. METABOLITOS SECUNDARIOS .....	8
E. MECANISMOS DE ACCIÓN DE <i>TRICHODERMA SP.</i> COMO AGENTE DE BIOCONTROL.....	9
F. MICOPARASITISMO.....	9
G. COMPETENCIA POR ESPACIO Y NUTRIENTES .....	10
PRODUCCIÓN DE METABOLITOS INHIBITORIOS.....	11
H. INDUCCIÓN DE RESISTENCIA SISTÉMICA EN PLANTAS.....	11
I. TRICHODERMA HARZIANUM .....	11
J. FUSARIUM SP .....	13
K. FUSARIUM EN PLANTAS.....	14
L. TÉCNICAS DE LABORATORIO EN MICROBIOLOGÍA .....	15
M. MEDIOS DE CULTIVO .....	16
N. SUELO PARA CULTIVOS DE CAFÉ .....	19
O. ENFERMEDADES EN PLANTACIONES DE CAFÉ .....	20
P. CONTROL BIOLÓGICO .....	23
Q. MÉTODOS DE CONTROL BIOLÓGICO .....	23
R. BENEFICIOS DEL CONTROL BIOLÓGICO.....	24

<b>S. PRUEBAS DE ANTAGONISMO .....</b>	<b>24</b>
<b>T. BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL .....</b>	<b>26</b>
<b>U. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE CAJA Y BIGOTES.....</b>	<b>27</b>
<b>V. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE KRUSKAL WALLIS.....</b>	<b>27</b>
<b>W. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PRUEBA DE DUNN.....</b>	<b>28</b>
<b>V. ANTECEDENTES .....</b>	<b>29</b>
<b>VI. METODOLOGÍA.....</b>	<b>31</b>
<b>VII. RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
<b>VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS .....</b>	<b>41</b>
<b>IX. CONCLUSIONES .....</b>	<b>45</b>
<b>X. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>46</b>
<b>XI. REFERENCIAS .....</b>	<b>47</b>
<b>XII. ANEXOS .....</b>	<b>53</b>
<b>A. CÁLCULO DE MUESTRA.....</b>	<b>53</b>
<b>B. DATOS DE PLACA .....</b>	<b>54</b>
<b>C. DATOS ORIGINALES .....</b>	<b>54</b>
<b>D. DATOS CALCULADOS.....</b>	<b>55</b>
<b>E. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>	<b>57</b>
<b>F. FOTOGRAFÍAS.....</b>	<b>57</b>
<b>XIII. GLOSARIO.....</b>	<b>79</b>

## LISTADO DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Coordenadas de localización de trampas de arroz.....	32
<b>Cuadro 2.</b> Capturas de Trichoderma sp. utilizando trampas de arroz artesanales .....	37
<b>Cuadro 3.</b> Aislamiento de Trichoderma sp. de trampa 11 .....	38
<b>Cuadro 4.</b> Porcentajes de inhibición de cada cepa de Trichoderma sp. aislada .....	39
<b>Cuadro 5.</b> Análisis estadístico de Kruskal - Wallis.....	40
<b>Cuadro 6.</b> Datos técnicos de incubadora de laboratorio.....	54
<b>Cuadro 7.</b> Datos técnicos de autoclave de laboratorio .....	54
<b>Cuadro 8.</b> Diámetros obtenidos en hongo antagonista y hongo patógeno .....	54
<b>Cuadro 9.</b> Áreas obtenidas para el hongo patógeno de cada cepa aislada.....	55
<b>Cuadro 10.</b> Áreas obtenidas para el hongo antagonista de cada cepa aislada .....	56

## LISTADO DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>Trichoderma sp.</i> cultivado en PDA durante una semana a temperatura ambiente. El ángulo de las ramas secundarias que se unen a las ramas primarias y los fiálidos surgen de conidióforos cercanos a los 90°. Los conidios tienen forma subglobosa (flecha). Observado bajo microscopio óptico con un aumento de 400x. ....	7
<b>Figura 2.</b> Mecanismo de acción de <i>Trichoderma sp.</i> en el control de enfermedades fúngicas de las plantas.....	9
<b>Figura 3.</b> Micro parasitimos por <i>Trichoderma</i> . <b>A</b> , Diagrama que representa los pasos iniciales (antes del contacto) de la interacción entre colonias de <i>Trichoderma</i> y una presa fúngica. <b>C</b> , Diagrama que describe los principales factores y estructuras utilizadas por <i>Trichoderma</i> y su presa durante su interacción antagónica. ROS, especies reactivas de oxígeno; CWDE, enzimas degradantes de la pared celular; y SM, metabolitos secundarios. <b>B</b> y <b>D</b> , Invasión del huésped. Micrografías electrónicas de transmisión de <i>T. atroviride</i> parasitando <i>Rhizoctonia solani</i> . Barra de escala 500 nm. <b>B</b> , <i>T. atroviride</i> (T) penetra <i>R. solani</i> (R). <b>D</b> , <i>T. atroviride</i> (T) crece dentro de la hifa de <i>R. solani</i> (R). ....	10
<b>Figura 4.</b> Conidios y conidióforos de <i>Trichoderma sp.</i> .....	12
<b>Figura 5.</b> Estructura microscópica y macroscópica de <i>Trichoderma Harzanium</i> . (A): <i>Trichoderma Harzanium</i> cultivado en PDA a 25 después de 7 días de incubación, (B): Características microscópicas de los hongos <i>Trichoderma</i> con azul de lactofenol (40X). ..	13
<b>Figura 6.</b> Hifas de <i>Fusarium sp.</i> ....	14
<b>Figura 7.</b> Plántula de café arábica contaminada con <i>Fusarium Oxysporum</i> .....	15
<b>Figura 8.</b> Daño en hoja de café ocasionado por roya. ....	22
<b>Figura 9.</b> Antagonismo de <i>Trichoderma viride</i> contra patógeno <i>Fusarium sp.</i> .....	25
<b>Figura 10.</b> Mapa de ubicación de trampas artesanales en finca Santa Rita.....	32
<b>Figura 11.</b> Morfología de <i>Trichoderma sp.</i> en microscopio con aumento 40x.....	35
<b>Figura 12.</b> Análisis estadístico de caja y bigotes .....	40
<b>Figura 13.</b> Prueba de Dunn.....	57
<b>Figura 14.</b> Trampa artesanal de arroz .....	57
<b>Figura 15.</b> Pesado de arroz para trampa artesanal .....	58
<b>Figura 16.</b> Trampas artesanales de arroz finalizadas .....	58
<b>Figura 17.</b> Finca Santa Rita, lote La Platanera .....	59
<b>Figura 18.</b> Finca Santa Rita, lote La Aldea.....	59
<b>Figura 19.</b> Finca Santa Rita, lote El puente.....	60
<b>Figura 20.</b> Finca Santa Rita, lote Los Guajes .....	60
<b>Figura 21.</b> Finca Santa Rita, lote Cafetales .....	61
<b>Figura 22.</b> Finca Santa Rita, lote El Cauce.....	61
<b>Figura 23.</b> Trampa 4 enterrada en lote La Platanera.....	62
<b>Figura 24.</b> Trampa 5 enterrada en lote El Puente .....	62
<b>Figura 25.</b> Trampa 12 enterrada en lote Beneficio de Pulpa .....	63
<b>Figura 26.</b> Trampa 8 enterrada en lote Los Guajes.....	63
<b>Figura 27.</b> Trampa 10 enterrada al lado de los Guajes .....	64

<b>Figura 28.</b> Trampa 11 enterrada en lote El Pinar.....	64
<b>Figura 29.</b> Trampa artesanal de arroz 7 colonizada por un coctel de hongos de suelo .....	65
<b>Figura 30.</b> Trampa artesanal de arroz 9 colonizada por un coctel de hongos de suelo .....	65
<b>Figura 31.</b> Trampa artesanal de arroz 10 colonizada por un coctel de hongos de suelo .....	66
<b>Figura 32.</b> Trampa artesanal de arroz 11 colonizada por un coctel de hongos de suelo.....	66
<b>Figura 33.</b> Trampa artesanal de arroz 6 colonizada por un coctel de hongos de suelo .....	67
<b>Figura 34.</b> Trampa artesanal de arroz 4 colonizada por un coctel de hongos de suelo .....	67
<b>Figura 35.</b> Trampa artesanal de arroz 12 colonizada por un coctel de hongos de suelo .....	68
<b>Figura 36.</b> Trampa artesanal de arroz 1 colonizada por un coctel de hongos de suelo .....	68
<b>Figura 37.</b> Trampa artesanal de arroz 3 colonizada por un coctel de hongos de suelo .....	69
<b>Figura 38.</b> Trampa artesanal de arroz 5 colonizada por un coctel de hongos de suelo .....	69
<b>Figura 39.</b> Aislamiento de <i>Trichoderma</i> sp. de trampa 11, cepa DMAC 1 .....	70
<b>Figura 40.</b> Aislamiento de <i>Trichoderma</i> sp. de trampa 11, cepa DMAC 2 .....	70
<b>Figura 41.</b> Aislamiento de <i>Trichoderma</i> sp. de trampa 11, cepa DMAC 3 .....	71
<b>Figura 42.</b> Aislamiento de <i>Trichoderma</i> sp. de trampa 11, cepa DMAC 4 .....	71
<b>Figura 43.</b> Aislamiento de <i>Trichoderma</i> sp. de trampa 11, cepa DMAC 5 .....	72
<b>Figura 44.</b> Identificación de esporas y estructura morfológica de cepa DMAC 1 de <i>Trichoderma</i> sp. vista en aumento 40x.....	72
<b>Figura 45.</b> Identificación de esporas y estructura morfológica de cepa DMAC 2 de <i>Trichoderma</i> sp. vista con lactofenol azul en aumento 40x.....	73
<b>Figura 46.</b> Identificación de esporas y estructura morfológica de cepa DMAC 4 de <i>Trichoderma</i> sp. vista con lactofenol azul en aumento 40x.....	73
<b>Figura 47.</b> Identificación de esporas y estructura morfológica de cepa DMAC 4 de <i>Trichoderma</i> sp. vista con lactofenol azul en aumento 40x.....	74
<b>Figura 48.</b> Identificación de esporas y estructura morfológica de cepa de <i>Fusarium</i> sp. vista con lactofenol azul en aumento 40x .....	74
<b>Figura 49.</b> Prueba de antagonismo dual entre cepa DMAC 2.3 de <i>Trichoderma</i> sp. y <i>Fusarium</i> sp. después de 8 días de incubación .....	75
<b>Figura 50.</b> Prueba de antagonismo dual entre cepa DMAC 6 de <i>Trichoderma</i> sp. y <i>Fusarium</i> sp. después de 8 días de incubación .....	75
<b>Figura 51.</b> Prueba de antagonismo dual entre cepa DMAC 7 de <i>Trichoderma</i> sp. y <i>Fusarium</i> sp. después de 8 días de incubación .....	76
<b>Figura 52.</b> Prueba de antagonismo dual entre cepa DMAC 8 de <i>Trichoderma</i> sp. y <i>Fusarium</i> sp. después de 8 días de incubación .....	76
<b>Figura 53.</b> Prueba de antagonismo dual entre cepa DMAC 8 de <i>Trichoderma</i> sp. y <i>Fusarium</i> sp. después de 4 días de incubación .....	77
<b>Figura 54.</b> Cepa control de <i>Trichoderma</i> sp. para prueba de antagonismo dual después de 5 días en incubación .....	77
<b>Figura 55.</b> Cepa control de <i>Fusarium</i> sp. para prueba de antagonismo dual después de 5 días de incubación.....	78

## RESUMEN

El control biológico de enfermedades en plantaciones de café es fundamental para la agricultura sostenible. En este estudio, se evaluó el potencial antagónico de *Trichoderma sp.*, capturado mediante trampas artesanales de arroz, para el control de *Fusarium sp.*, un hongo patógeno que afecta las plantaciones de café en la finca Santa Rita, Guatemala. Se capturaron ocho cepas de *Trichoderma sp.* y se realizaron pruebas de antagonismo dual con *Fusarium sp.* bajo condiciones controladas. Los resultados mostraron que las cepas DMAC 3 y DMAC 7 presentaron los mayores porcentajes de inhibición, alcanzando hasta un 95.71% y 94.83%, respectivamente, sobre el crecimiento de *Fusarium sp.* Estos resultados sugieren que *Trichoderma sp.* tiene un alto potencial como agente de control biológico, con un porcentaje de inhibición superior al 89% en todas las cepas evaluadas. El análisis estadístico no paramétrico de Kruskal-Wallis mostró diferencias significativas entre las cepas. El análisis de caja y bigotes reveló que mientras las cepas DMAC 2, DMAC 3, DMAC 5, DMAC 7 y DMAC 8 no mostraron diferencias significativas entre sí, las cepas DMAC 1, DMAC 4 y DMAC 6 se diferenciaron estadísticamente, lo que sugiere que estas cepas podrían tener un comportamiento particular que requiere mayor investigación. Este estudio contribuye a la reducción del uso de fungicidas químicos y al fomento de prácticas agrícolas sostenibles en las plantaciones de café, promoviendo el uso de agentes biológicos nativos como alternativa eficaz para el manejo de plagas y enfermedades. El uso de cepas nativas de *Trichoderma sp.* ofrece una ventaja adicional, ya que su adaptación a las condiciones locales puede mejorar su eficacia en el control de patógenos como *Fusarium sp.*, contribuyendo así al manejo integrado de plagas y a la preservación del ecosistema agrícola.

## ABSTRACT

Biological control of diseases in coffee plantations is essential for sustainable agriculture. In this study, the antagonistic potential of *Trichoderma sp.*, captured using artisanal rice traps, was evaluated for the control of *Fusarium sp.*, a pathogenic fungus affecting coffee plantations in the Santa Rita farm, Guatemala. Eight strains of *Trichoderma sp.* were captured, and dual antagonism tests with *Fusarium sp.* were conducted under controlled conditions. The results showed that strains DMAC 3 and DMAC 7 had the highest inhibition percentages, reaching up to 95.71% and 94.83%, respectively, on the growth of *Fusarium sp.* These findings suggest that *Trichoderma sp.* has great potential as a biological control agent, with inhibition percentages exceeding 89% across all evaluated strains. The non-parametric Kruskal-Wallis statistical analysis revealed significant differences between the strains. The box plot analysis showed that while strains DMAC 2, DMAC 3, DMAC 5, DMAC 7, and DMAC 8 did not exhibit significant differences, strains DMAC 1, DMAC 4 and DMAC 6 were statistically distinct, suggesting that these strains may exhibit unique behavior that warrants further investigation. This study contributes to reducing the use of chemical fungicides and promotes sustainable agricultural practices in coffee plantations by encouraging the use of native biological agents as an effective alternative for pest and disease management. The use of native *Trichoderma sp.* strains offers an additional advantage, as their adaptation to local conditions may enhance their efficacy in controlling pathogens such as *Fusarium sp.*, thereby contributing to integrated pest management and the preservation of agricultural ecosystems.

# I. INTRODUCCIÓN

La producción de café en Guatemala es uno de los pilares en la economía agrícola de Guatemala. Sin embargo, la industria cafetalera presenta grandes desafíos debido a la aparición de enfermedades fúngicas las cuales afectan el rendimiento y calidad del producto. La principal amenaza fúngica que se encuentran en las plantaciones de café es *Fusarium sp.*, un hongo causante de la enfermedad llamada fusariosis o marchitez vascular. Esta afecta la salud de las plantas y por lo tanto pérdidas económicas.

El control de *Fusarium* al igual que otros patógenos se basa en el uso de fungicidas químicos. Sin embargo, el abuso de aplicación de este tipo de productos ha provocado que surjan cepas resistentes aportando efectos sobre la salud de los seres humanos, así como un impacto ambiental negativo. El uso de agentes biológicos tales como hongos del género *Trichoderma*, surge como una alternativa competente para el control de plagas y enfermedades en cultivos, que al mismo tiempo promueven la sostenibilidad agrícola. (Pérez, 2019)

Con relación a *Trichoderma sp.* este es un hongo saprófito que es ampliamente reconocido por su capacidad como bio-controlador contra diversos fitopatógenos. *Trichoderma* es un microorganismo que puede encontrarse de forma natural en suelos y también es conocido por su capacidad de inhibición en el crecimiento de otros hongos patógenos por medio de múltiples mecanismos de acción. Entre estos mecanismos se encuentra micro parasitismo, en el cual *Trichoderma* invade y degrada las paredes celulares de los hongos patógenos por medio de la secreción de enzimas hidrolíticas como quitinasas, proteasas y glucanasas (Gary E. Harman, 2004). Por otro lado, este también tiene actividad competitiva por espacio y nutrientes en la rizosfera. Coloniza ágilmente las raíces de las plantas y crea un entorno nocivo para los patógenos.

*Trichoderma* también es capaz de introducir resistencia sistémica en las plantas para reforzar las defensas naturales de estas contra ataques de fitopatógenos. Este aspecto se logra por medio de la activación de rutas de señalización que se encuentran relacionadas con el ácido jasmónico y etileno. Estos dos compuestos son fundamentales con relación a las respuestas de defensa de las plantas. Asimismo, el hongo presenta propiedades que promueven el crecimiento vegetal por medio de la disponibilidad de nutrientes en el suelo y la estimulación en la producción de fitohormonas como ácido indolacético. (Contreras-Cornejo & Macías-Rodríguez, 2018)

La implementación de *Trichoderma sp.* en la agricultura ha tenido relevancia en los últimos años debido a su contribución con relación a la sostenibilidad ambiental y la efectividad que tiene en el control biológico. Al utilizar este hongo antagónico como parte de este proceso aporta a la reducción de uso de agroquímicos. De esta forma, se practican los principios relacionados con agricultura sostenible donde se busca el equilibrio entre la

producción agrícola con la conservación de los recursos naturales. Con relación a plantaciones de café *Trichoderma* presenta una solución económicamente viable para el control de *Fusarium sp* así como otros fitopatógenos.

El uso de trampas de arroz es un método artesanal que facilita la captura de cepas locales que se encuentran adaptadas a esas condiciones. Este tipo de prácticas es útil especialmente en regiones donde las condiciones climáticas varían considerablemente. Al tener cepas nativas del hongo antagonista la colonización del suelo y sus mecanismos de acción suelen ser más eficientes. Dentro del ámbito biotecnológico, el uso de *Trichoderma sp.* como controlador biológico presenta interés sobre la reducción de agroquímicos en cultivos especialmente plantaciones de café además de económico.

La presente investigación pretende aislar cepas de *Trichoderma sp.* y evaluar su capacidad antagonista frente a *Fusarium sp.* por medio de pruebas de antagonismo dual. Estos ensayos permiten cuantificar la capacidad de inhibición de *Trichoderma* sobre el crecimiento del patógeno, proporcionando una visión clara sobre su potencial como agente de control biológico en plantaciones de café en finca Santa Rita. Además, este estudio contribuye al conocimiento sobre el uso de agentes biológicos en la agricultura sostenible, alineándose con los principios de la agroecología y la reducción del uso de fungicidas químicos.

## II. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo con estimaciones de la FAO, entre el 20 y el 40% de los cultivos a nivel mundial se pierden cada año a causa de plagas y enfermedades que afectan a las plantas (Unidas, 2015). Dentro de los grupos de patógenos que causan estas pérdidas agrícolas, los hongos fitopatógenos destacan por su impacto destructivo. *Fusarium sp.* es un hongo fitopatógeno responsable de importantes pérdidas en la producción agrícola, afectando principalmente el sistema radicular de las plantas. Este hongo ataca las raíces de las plántulas, provocando marchitez y reduciendo la capacidad de absorción de agua y nutrientes del suelo, lo que disminuye considerablemente el rendimiento de los cultivos (Dinolfo, Castañares, & Stenglein, 2017). Además, las especies de *Fusarium sp.* pueden producir micotoxinas, las cuales representan un riesgo para la salud tanto de animales como de humanos.

En la finca Santa Rita, como parte de los avances en prácticas agrícolas sostenibles, se está implementando el uso de agentes biológicos como *Trichoderma sp.*, una alternativa prometedora para el control de plagas y enfermedades. *Trichoderma sp.* ha demostrado ser eficaz debido a su capacidad para ejercer antibiosis, micro parasitismo, competencia por espacio y nutrientes, y producción de metabolitos secundarios. Además, tiene un rápido crecimiento, tolera condiciones ambientales extremas y ayuda a mejorar la microbiota del suelo, promoviendo el crecimiento de las plantas mediante la producción de hormonas y la inducción de resistencia sistémica (Martínez-Martínez, y otros, 2020).

En el caso específico de las plantaciones de café, *Fusarium sp.* puede causar pudrición radicular, necrosis y marchitez en las plántulas, afectando gravemente el desarrollo de las plantas desde la etapa de vivero (Julio Mora, 2013). La infección por *Fusarium sp.* no solo reduce el sistema radicular, sino que también deja a las plantas susceptibles a otros patógenos y factores abióticos, lo que impacta negativamente el crecimiento y rendimiento de los cultivos. (Doan Thi Van, 2023)

El uso de *Trichoderma sp.* como agente biológico es una herramienta eficaz para el manejo de plagas y enfermedades en plantaciones de café. *Trichoderma sp.* coloniza rápidamente la rizosfera, compite por recursos y secreta enzimas que degradan las paredes celulares del hongo patógeno, inhibiendo su crecimiento (Harman G. E., 2004). Además, su uso reduce la dependencia de agroquímicos, contribuyendo a la preservación de la biodiversidad microbiana y la sostenibilidad agrícola.

La implementación de trampas de arroz para la captura de cepas nativas de *Trichoderma sp.* representa una estrategia accesible dentro de las prácticas agrícolas sostenibles. Este método consiste en preparar granos de arroz medio cocido y colocarlos en frascos de vidrio de 9 onzas, los cuales se esterilizan para eliminar microorganismos competidores, cubiertos con una gasa sujeta con una banda elástica para prevenir contaminación. Los frascos son ubicados estratégicamente en suelos agrícolas, permitiendo la colonización del hongo en

condiciones controladas de temperatura y humedad. Este procedimiento facilita la obtención de cepas adaptadas a las condiciones climáticas locales, lo que incrementa su eficacia como agente biológico (Contreras-Cornejo & Macías-Rodríguez, 2018). Además, el uso de trampas de arroz reduce la dependencia de productos comerciales, contribuyendo al desarrollo de alternativas económicas que promueven la biotecnología verde y fortalecen la sostenibilidad agrícola mediante el aprovechamiento de recursos locales.

La investigación propuesta tiene como objetivo capturar cepas locales de *Trichoderma sp.* y evaluar su potencial antagonico frente a *Fusarium sp.* mediante ensayos de antagonismo. Dada la ausencia de estudios específicos sobre la actividad antagonica de *Trichoderma sp.* en la región, los resultados de esta investigación proporcionarán datos valiosos que contribuirán al manejo de enfermedades en plantaciones de café, mejorando la sostenibilidad agrícola en la finca Santa Rita. Este avance permitirá identificar cepas con alto potencial antagonista, lo que puede contribuir al desarrollo de estrategias de control biológico más efectivas y adaptadas a las condiciones locales, beneficiando a largo plazo la productividad agrícola y la biodiversidad.

### **III. OBJETIVOS**

#### **A. Objetivo general**

- Evaluar el potencial antagonico de *Trichoderma sp.* como controlador del patógeno *Fusarium* en suelos agrícolas de plantaciones de café en finca Santa Rita.

#### **B. Objetivos específicos**

- Realizar capturas por métodos artesanales de cepas de *Trichoderma sp.* en ecosistemas naturales de finca Santa Rita empleando técnicas de muestreo especializadas.
- Aislar *Trichoderma sp.* realizando cultivos de las capturas obtenidas de las trampas de arroz por medio de métodos microbiológicos.
- Realizar ensayos de antagonismo dual entre *Trichoderma sp.* y *Fusarium sp.* por medio de la cuantificación de la inhibición del hongo patógeno para determinar la actividad antagonica de *Trichoderma sp.*

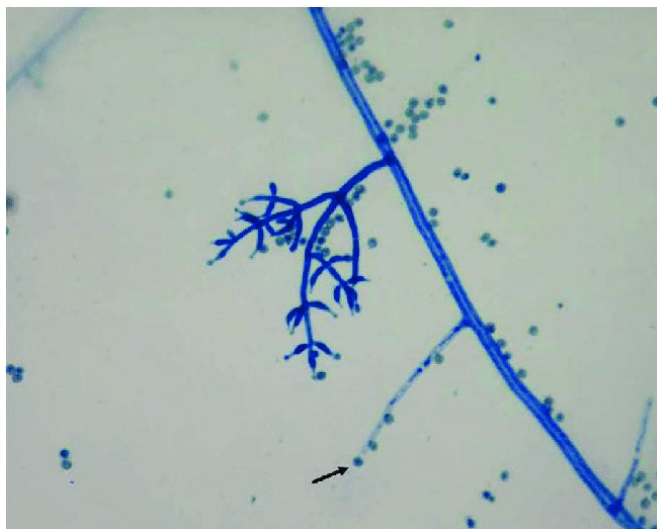
## IV. MARCO TEÓRICO

### A. TRICHODERMA SP.

El género *Trichoderma* es uno de los hongos que más se ha estudiado debido que tiene versatilidad ecológica y capacidad de adaptación a diferentes entornos. Este hongo ascomiceto de coloración verde se puede encontrar naturalmente en suelo de todo el mundo, habitando principalmente en áreas donde la materia vegetal en descomposición es abundante. Además, es un excelente colonizador, pero también se ha demostrado que es un antagonista eficaz contra diversos fitopatógenos actuando como agente de control biológico en la protección de plantas. La eficacia de este hongo radica en un conjunto de mecanismos que incluyen competencia por nutrientes y espacio, producción de enzimas degradadoras de la pared celular y síntesis de metabolitos secundarios con actividad antifúngica y antibacteriana. (Andre Schuster, 2010)

Este hongo es anaerobio y es utilizado como control biológico debido a su capacidad de adaptación a diferentes condiciones medio ambientales. Tiene como característica un comportamiento saprófito o parásito y entre las especies más comunes se encuentra *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma Koningii* y *Trichoderma hamatum*. Es exitosamente utilizado como bio-control debido a su capacidad reproductiva, es un organismo que sabe perfectamente cómo utilizar sus nutrientes, tiene capacidad de alterar la rizósfera. (Intagri, 2016)

Los diversos tipos de *Trichoderma* emplean una variedad de estrategias para el control biológico, tales como la competencia directa por recursos, la producción de metabolitos antibióticos, la desactivación de enzimas patógenas, la modificación del entorno, la generación de compuestos que estimulan el crecimiento de las plantas y el mico-parasitismo.



**Figura 1.** *Trichoderma sp.* cultivado en PDA durante una semana a temperatura ambiente. El ángulo de las ramas secundarias que se unen a las ramas primarias y los fiálidos surgen de conidióforos cercanos a los 90°. Los conidios tienen forma subglobosa (flecha). Observado bajo microscopio óptico con un aumento de 400x. (Kummalue, Fungladda, & Jiratchariyakul., 2010)

La biotecnología actualmente ha aprovechado las propiedades de *Trichoderma* con relación a la protección de cultivos y en la producción de enzimas con interés industrial. Dentro de las especies que más se han estudiado se encuentra *Trichoderma reesei*, utilizada principalmente en la producción de celulasas y hemicelulasas; estas enzimas son importantes para la degradación de biomasa vegetal y esenciales para la producción de biocombustibles. Este hongo tiene la capacidad de producir también metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas y antifúngicas, por lo tanto, le ha dado valor en la biotecnología agrícola. (Andre Schuster, 2010)

## **B. PRODUCCIÓN DE ENZIMAS Y METABOLITOS SECUNDARIOS**

*Trichoderma* tiene la capacidad de producir variedad de enzimas hidrolíticas y metabolitos secundarios que puede ser aplicados en la industria. Las enzimas más destacadas que produce este género son celulasas, hemicelulasas, quitinasas y glucanasas. Como su nombre lo indica todas degradan celulosa, hemicelulosa y quitina los cuales son componentes que se encuentran en la pared celular de las plantas y hongos.

## **C. ENZIMAS CELULOLÍTICAS**

Las celulasas son uno de los productos más importantes de *Trichoderma*, especialmente de la especie *Trichoderma reesei*, que es el principal productor industrial de estas enzimas. Las celulasas degradan la celulosa, el polímero principal en las paredes celulares vegetales, y permiten la conversión de biomasa en azúcares fermentables, esenciales para la producción de bioetanol. Este proceso es clave en el desarrollo de biocombustibles a partir de residuos lignocelulósicos, lo que ha posicionado a *Trichoderma* como un organismo industrial esencial en el ámbito de las energías renovables (Diego Martinez, 2008).

La producción de celulasas por *T. reesei* ha sido optimizada mediante mejoras genéticas, lo que ha permitido alcanzar altos niveles de producción de enzimas, con una eficiencia de hasta 100 g/L de enzima en cultivos industriales. Esta optimización ha sido fundamental para reducir los costos en la producción de bioetanol, haciéndolo más competitivo frente a los combustibles fósiles. Las quitinasas y glucanasas producidas por *Trichoderma* desempeñan un papel crucial en la biodegradación de los hongos patógenos (Diego Martínez, 2008). Estas enzimas hidrolizan la quitina y glucanos, que son los principales componentes de las paredes celulares de los hongos, lo que permite a *Trichoderma* atacar y destruir efectivamente a sus competidores en el ambiente.

## D. METABOLITOS SECUNDARIOS

Además de las enzimas, *Trichoderma* es un productor prolífico de metabolitos secundarios, muchos de los cuales tienen propiedades antimicrobianas y antifúngicas. Estos metabolitos incluyen una amplia gama de compuestos como los peptaiboles, las pironas, los terpenoides y los compuestos volátiles orgánicos.

Peptaiboles: Estos péptidos antimicrobianos son quizás los metabolitos secundarios más estudiados en *Trichoderma*. Los peptaiboles, como el paracelsin, son péptidos lineales que contienen aminoácidos inusuales, como la  $\alpha$ -aminoisobutirato. Estos compuestos muestran propiedades antimicrobianas al formar poros en las membranas celulares de otros microorganismos, lo que provoca la pérdida de la integridad celular y, en última instancia, la muerte de las células patógenas. La producción de peptaiboles es altamente regulada y está influenciada por factores ambientales como la luz, el pH y la disponibilidad de nutrientes. (Harman G. E., 2005)

Pirona 6-pentil- $\alpha$ : Este compuesto volátil es uno de los metabolitos más representativos producidos por *Trichoderma*. La pirona 6-pentil- $\alpha$  es conocida no solo por su aroma característico a coco, sino también por sus propiedades antifúngicas y antibacterianas. Este metabolito ha sido objeto de investigaciones para optimizar su producción en sistemas de fermentación, donde se ha logrado alcanzar concentraciones superiores a 7 g/L en cultivos de *Trichoderma atroviride*. Su actividad antimicrobiana lo convierte en un compuesto de interés para aplicaciones tanto en la agricultura como en la industria alimentaria, como un potencial conservante natural. (Harman G. E., 2005)

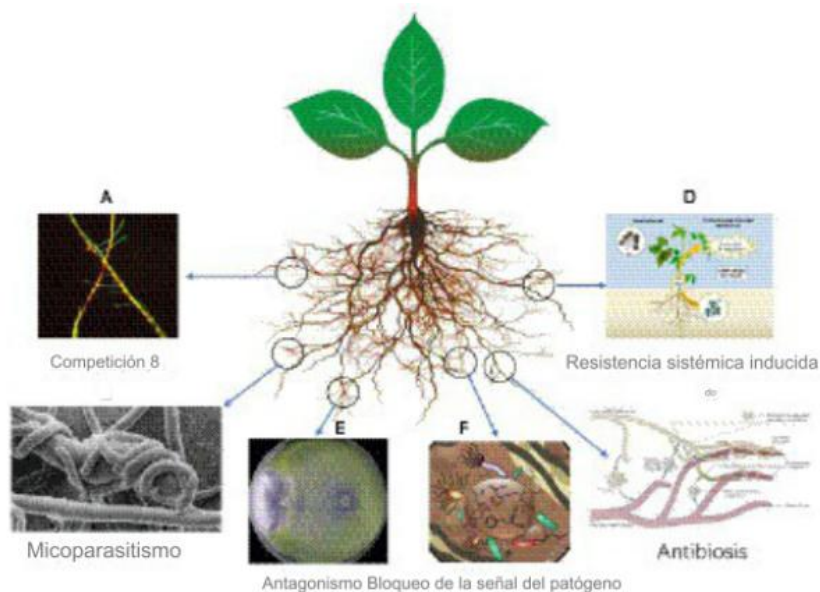
Terpenos y otros metabolitos secundarios: *Trichoderma* también es capaz de producir terpenos y poliquétidos, que son compuestos con diversas propiedades biológicas, incluyendo la actividad antifúngica y antibacteriana. Estos compuestos son útiles para la protección de las plantas y también se están investigando como posibles agentes en la producción de antibióticos. La capacidad de *Trichoderma* para sintetizar un amplio rango de metabolitos secundarios le otorga una ventaja competitiva en su ambiente natural, permitiéndole dominar su nicho ecológico y desplazar a otros microorganismos competidores. (Harman G. E., 2005)

Compuestos volátiles orgánicos (COVs): Los compuestos volátiles producidos por *Trichoderma* han ganado una atención creciente debido a su capacidad para actuar como

señales químicas en el ambiente y su rol en la inhibición del crecimiento de patógenos. Estos COVs pueden interferir con la fisiología de otros hongos patógenos a través de mecanismos indirectos, lo que representa una estrategia adicional de defensa de *Trichoderma*. La combinación de la secreción de enzimas y metabolitos volátiles convierte a este hongo en un candidato robusto para aplicaciones en biocontrol, donde se busca una acción sinérgica entre estos factores. (Harman G. E., 2005)

## E. MECANISMOS DE ACCIÓN DE *TRICHODERMA SP.* COMO AGENTE DE BIOCONTROL

*Trichoderma* es un hongo biocontrolador altamente efectivo, y su éxito se debe a una combinación de mecanismos de acción que le permiten inhibir el crecimiento de patógenos fúngicos y bacterianos. Estos mecanismos incluyen el micoparasitismo, la competencia por nutrientes y espacio, la producción de metabolitos inhibitorios, y la inducción de resistencia sistémica en plantas.

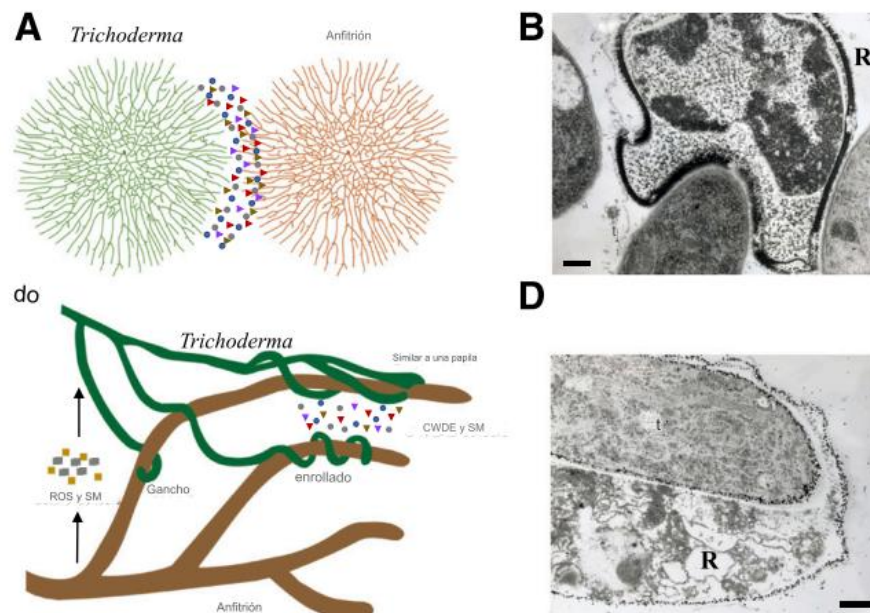


**Figura 2.** Mecanismo de acción de *Trichoderma sp.* en el control de enfermedades fúngicas de las plantas. (Xin Yao, 2023)

## F. MICOPARASITISMO

Uno de los mecanismos de acción más destacados de *Trichoderma* es su capacidad para parasitar a otros hongos, un proceso conocido como micoparasitismo. En este proceso, *Trichoderma* se adhiere a las hifas de los hongos patógenos, como *Fusarium sp.*, y libera una batería de enzimas degradantes de la pared celular, incluyendo quitinasas y glucanasas, que descomponen la estructura celular del hongo patógeno. Esta acción no solo debilita a los patógenos, sino que también permite a *Trichoderma* acceder a los nutrientes contenidos dentro de las células del hongo parasitado. (Andre Schuster, 2010)

Este mecanismo ha sido particularmente efectivo contra patógenos como *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium*, que afectan a una amplia gama de cultivos. La capacidad de *Trichoderma* para atacar una amplia variedad de fitopatógenos mediante el micoparasitismo lo convierte en una herramienta valiosa para la protección de cultivos agrícolas.



**Figura 3.** Micro parasitismo por *Trichoderma*. **A**, Diagrama que representa los pasos iniciales (antes del contacto) de la interacción entre colonias de *Trichoderma* y una presa fúngica. **C**, Diagrama que describe los principales factores y estructuras utilizadas por *Trichoderma* y su presa durante su interacción antagónica. ROS, especies reactivas de oxígeno; CWDE, enzimas degradantes de la pared celular; y SM, metabolitos secundarios. **B** y **D**, Invasión del huésped. Micrografías electrónicas de transmisión de *T. atroviride* parasitando *Rhizoctonia solani*. Barra de escala 500 nm. **B**, *T. atroviride* (T) penetra *R. solani* (R). **D**, *T. atroviride* (T) crece dentro de la hifa de *R. solani* (R).

(Paula Guzmá Guzmán, 2019)

## G. COMPETENCIA POR ESPACIO Y NUTRIENTES

Además del micoparasitismo, *Trichoderma* es un competidor altamente eficiente en su ambiente natural. Al colonizar rápidamente las raíces de las plantas y los sustratos orgánicos, *Trichoderma* desplaza a los patógenos potenciales, privándolos de acceso a los nutrientes y el espacio necesarios para su crecimiento. Esta competencia es especialmente relevante en el control de enfermedades fúngicas en el suelo, donde *Trichoderma* puede formar una barrera protectora alrededor de las raíces de las plantas (Andre Schuster, 2010).

El rápido crecimiento de *Trichoderma*, junto con su capacidad para secretar enzimas que descomponen la materia orgánica, le otorgan una ventaja sobre los patógenos más lentos y menos adaptados a la competencia por recursos limitados. Este mecanismo es particularmente útil en sistemas agrícolas donde la alta carga patógena en el suelo puede representar una amenaza para la producción de cultivos.

## PRODUCCIÓN DE METABOLITOS INHIBITORIOS

Como se mencionó anteriormente, *Trichoderma* produce una amplia gama de metabolitos secundarios con propiedades antimicrobianas, como los peptaiboles, las pironas y los terpenos. Estos compuestos no solo actúan directamente sobre los patógenos, inhibiendo su crecimiento y desarrollo, sino que también pueden alterar el entorno químico, dificultando la supervivencia de los organismos competidores.

La producción de estos metabolitos es una parte clave del arsenal de defensa de *Trichoderma* y le permite mantener un control eficaz sobre los patógenos en una amplia gama de condiciones ambientales. Además, algunos de estos metabolitos, como los compuestos volátiles orgánicos (COVs), pueden tener un efecto a distancia, inhibiendo el crecimiento de patógenos sin la necesidad de contacto directo (Andre Schuster, 2010).

## H. INDUCCIÓN DE RESISTENCIA SISTÉMICA EN PLANTAS

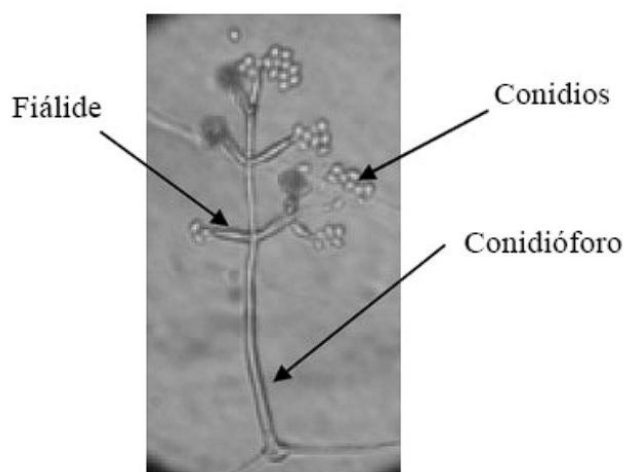
*Trichoderma* no solo actúa directamente sobre los patógenos, sino que también interactúa con las plantas para inducir una respuesta defensiva mejorada. Este fenómeno, conocido como resistencia sistémica inducida (ISR) ocurre cuando *Trichoderma* coloniza las raíces de una planta y estimula su sistema inmunológico, lo que le permite resistir mejor los ataques de patógenos futuros (Harman G. E., 2005). El mecanismo detrás de la ISR implica la producción de señales químicas por parte de *Trichoderma*, que desencadenan la activación de genes defensivos en la planta. Estos genes están asociados con la producción de proteínas relacionadas con la defensa, como quitinasas y glucanasas, así como con la producción de compuestos antimicrobianos. Como resultado, las plantas tratadas con *Trichoderma* no solo tienen una mejor capacidad para resistir infecciones, sino que también experimentan un mejor crecimiento y una mayor absorción de nutrientes (Harman G. E., 2005).

## I. TRICHODERMA HARZIANUM

El género *Trichoderma* es uno de los más dominantes con relación a control biológico. Este presenta buenas cualidades para controlar otros hongos los cuales enferman a las plantas. Entre los géneros que más combate se encuentran *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium* entre otros. Debido a su forma de accionar como antagonistas hoy día se encuentran dentro de los principales microorganismos utilizados para la formulación de bio-fungicidas.

Este tipo de hongos actúa como hiperparásitos competitivos los cuales producen metabolitos secundarios y enzimas hidrolíticas. Por lo tanto, provoca cambio estructural como vacuolización, lisis celular, desintegración de citoplasma, y demás. Debido a su forma de accionar, los hongos del género *Trichoderma* son ampliamente utilizados en el control biológico de enfermedades vegetales causadas por hongos fitopatógenos. Estos hongos se caracterizan por su ubicuidad, facilidad de aislamiento y cultivo, rápido crecimiento en diversos sustratos, y su inocuidad para las plantas superiores. (Mohammed Ezziyyani, 2004)

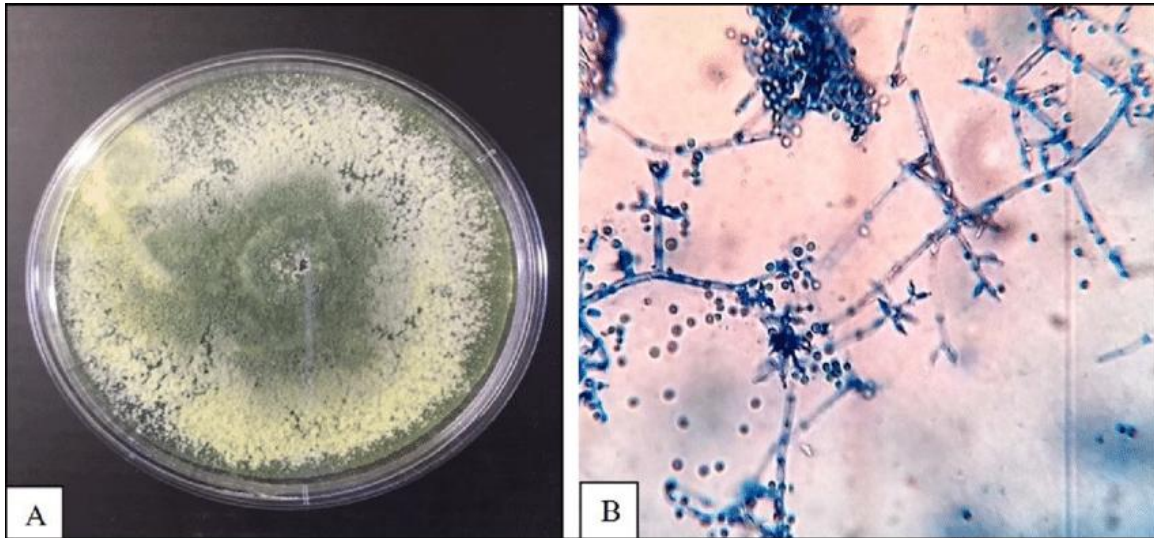
Algunos estudios han demostrado que *Trichoderma* es eficaz en el control de una amplia gama de enfermedades vegetales, las cuales son pudrición de raíz, enfermedades de la hoja y enfermedades del fruto (José López-Bucio, 2015). Dentro del ámbito biotecnológico, *Trichoderma* es uno de los agentes de control biológico más exitosos en la agricultura, y se utiliza en más del 60% de los biofungicidas registrados a nivel mundial. Este microorganismo tiene diversas funciones en el mercado, como bioplaguicida, biofertilizante, promotor del rendimiento y crecimiento vegetal, solubilizador de nutrientes en campos agrícolas y descomponedor de materia orgánica. Las formulaciones de *Trichoderma* se presentan en estado sólido o líquido, con inóculo viable (hifas, clamidosporas y conidias), diseñadas para su uso como agente de biocontrol. (Hernández-Melchor, Ferrera-Cerrato, & Alarcón, 2019)



**Figura 4.** Conidios y conidióforos de *Trichoderma* sp.  
(Danay Infante, 2009)

Ambas formulaciones requieren procesos de secado para lograr productos estables con una vida de anaquel prolongada, siendo el secado por aspersión la técnica más utilizada a nivel industrial debido a su eficiencia y bajo costo. Las especies predominantes en estos bioformulados son *T. viride*, *T. virens* y, en mayor proporción, *T. harzianum*. (Hernández-Melchor, Ferrera-Cerrato, & Alarcón, 2019)

Para garantizar el éxito de *Trichoderma* como bio-controlador, se enfoca en la inmovilización del microorganismo en portadores específicos y en la preparación de formulaciones de fácil aplicación, almacenamiento, comercialización y aplicación en campo. Como producto comercial existen presentaciones como polvo, Pyrex-biomasa, pellets de alginato, entre otras. Sin embargo, cada presentación exterioriza desafíos específicos entre los cuales se encuentran desecación de conidios lo cual afecta la viabilidad de los propágulos después de tres o seis meses de almacenamiento entonces repercute en la eficacia y comercialización. Debido a estos inconvenientes, se tiene como alternativa, los aerosoles foliares que favorecen la supervivencia del agente fúngico durante períodos más prolongados. (Hernández-Melchor, Ferrera-Cerrato, & Alarcón, 2019)



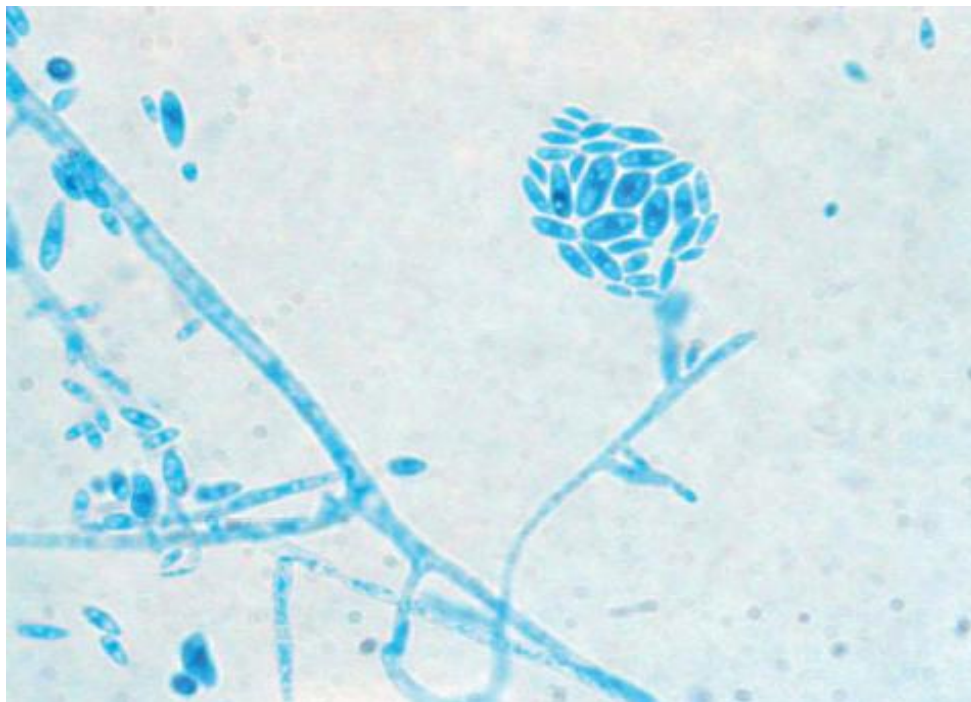
**Figura 5.** Estructura microscópica y macroscópica de *Trichoderma Harzanium*. (A): *Trichoderma Harzanium* cultivado en PDA a 25 después de 7 días de incubación, (B): Características microscópicas de los hongos *Trichoderma* con azul de lactofenol (40X). (Khayat & Al-araji, 2020)

## J. FUSARIUM SP

*Fusarium sp.* es un hongo filamentoso comúnmente presente en áreas tropicales y subtropicales, aunque también puede habitar en climas fríos. Es conocido por su capacidad de actuar como patógeno de plantas y, en casos oportunistas, puede causar infecciones en humanos. Las especies más representativas incluyen *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium verticillioides* y *Fusarium moniliforme*. En condiciones de laboratorio, crece rápidamente en agar Sabouraud a 25 °C, formando colonias algodonosas, planas y con apariencia estrellada. El color de las colonias varía según la especie, mientras que el reverso de estas puede presentar tonalidades incoloras, rojas, púrpuras o cafés.

Microscópicamente, se observan hifas septadas e hialinas, acompañadas de macroconidias multicelulares con forma de banana o canoa, que se agrupan en estructuras globulares adheridas a la hifa. Estas características morfológicas son distintivas del género *Fusarium*. En términos de su impacto en la salud, *Fusarium* puede producir un amplio espectro de infecciones, cuya gravedad y expresión clínica dependen directamente del estado inmunológico del huésped y de la vía de entrada del patógeno. En personas inmunocompetentes, las infecciones suelen estar relacionadas con traumas, como en el caso de la queratitis fúngica. En individuos inmunocomprometidos, especialmente aquellos con neutropenias profundas y prolongadas o con deficiencias en las células T, *Fusarium* puede provocar infecciones diseminadas, con una mortalidad que alcanza hasta el 75%.

En cuanto a su susceptibilidad a antifúngicos, *Fusarium* presenta concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) elevadas frente a fluocitosina y azoles, lo que refleja una resistencia intrínseca a estos fármacos. También es intrínsecamente resistente a las equinocandinas, mientras que mantiene una sensibilidad moderada a la anfotericina B, con CIMs relativamente bajas para este compuesto.



**Figura 6.** Hifas de *Fusarium sp.*

(Benadof, 2010)

## **K. FUSARIUM EN PLANTAS**

A diferencia del café arábigo, el café robusto presenta menores afecciones por hongos debido a su localidad. La mayoría de patógenos no soporta las condiciones ambientales para desarrollarse. Sin embargo, una de las enfermedades que se presenta mucho es Fusarium.

Fusarium es un hongo que se encuentra en el suelo y que no solamente ataca plantas, también animales por tanto lo convierte en uno de los más complicado en controlar. Existe una gran diversidad de cepas de *Fusarium spp.*, de las cuales algunas son patogénicas y su gran mayoría son saprófitas pueden ser utilizadas como controladores biológicos. De acuerdo con estudios, se han identificado 76 especies de este microorganismo que enferman a plantas. Dentro de los cuales son tres principales que afectan directamente el sistema vascular de la planta siendo estos *Ceratocystis spp.*, *Verticillium spp.* y *Fusarium spp.* (Castillo, 2001)

La enfermedad principal que provoca este organismo es Fusariosis o marchitez vascular. La enfermedad produce una desintegración o pudrición de las raíces, lo que puede provocar la muerte de la planta. La Fusariosis se ha reportado en semilleros y viveros de café, donde puede causar pérdidas de plantas hasta el 50%. Cuando los daños son severos, el hongo *Fusarium oxysporum* puede destruir el sistema radical en más del 90%. Los síntomas de la Fusariosis en el café incluyen amarillamiento y marchitamiento de las hojas, caída de las hojas y muerte de la planta. (Cenicafé, 2023)

La enfermedad se propaga a través del suelo y de las raíces de las plantas infectadas. Los factores que favorecen la aparición de la Fusariosis incluyen temperaturas cálidas y húmedas,

suelos compactados o mal drenados y uso de plantas infectadas. El control de la Fusariosis en el café se basa en la prevención y el tratamiento. Las medidas preventivas incluyen uso de variedades resistentes a la enfermedad, cultivo de café en suelos bien drenados, rotación de cultivos, entre otros. El tratamiento de la Fusariosis es difícil y costoso. Las medidas que se pueden tomar incluyen uso de fungicidas y trasplante de las plantas afectadas. La Fusariosis es una enfermedad grave que puede causar pérdidas significativas en la producción de café. Por lo tanto, es importante tomar medidas para prevenir y controlar la enfermedad. (FAO, 2022)



**Figura 7.** Plántula de café arábica contaminada con *Fusarium Oxysporum* (Revilla-Medina, Vuelta-Lorenzo, & Guerrero-Barriel, 2020)

En ciertas investigaciones se ha identificado una forma más económica de combatir este tipo de enfermedad. Por lo cual se obtiene a *Trichoderma harzianum* presentando un mecanismo de acción bastante agresivo (Danay Infante, 2009). Este mecanismo consiste en colonizar el sistema radicular, llamada competencia en la rizósfera. El hongo crece y se desarrolla mejor cuando hay abundancia de raíces saludables, atacando, parasitando y obteniendo nutrientes de otros hongos y favoreciendo el desarrollo de la planta y raíz. *Trichoderma harzianum* produce más endoquitinasa y enzimas que le permite consumir hongos patógenos en un proceso llamado micoparasitismo. De acuerdo con estudios, se provoca exolisis. La exolisis es la disolución de la pared y membrana celular seguido por derrame del contenido celular de la hifa del patógeno que provoca la muerte. *Trichoderma harzianum* produce sustancias de tipo antibiótico tales como tricodermin y harzianopiricon que causan un efecto antagónico sobre el fitopatógeno. (Castillo, 2001)

## **L. TÉCNICAS DE LABORATORIO EN MICROBIOLOGÍA**

Para identificar la presencia de patógenos en sustratos, se pueden realizar diferentes análisis desde los más simples hasta los más complejos e incluso algunos pueden ser más

precisos. Como métodos de aislamiento se encuentran siembras en cajas Petri, diluciones seriadas, cultivo en tubo de ensayo. También se encuentran métodos de cuantificación los cuales pueden ser más precisos entre los cuales se encuentran Reacción de Cadena Polimerasa (PCR), Reacción de Cadena Polimerasa (PCR) en tiempo real, microscopía y turbidimetría. Otro tipo de método es el biológico, entre los cuales se encuentra inhibición de crecimiento, prueba de antagonismo y prueba de producción de antibiótico.

De las pruebas mencionadas, las PCR presentan resultados más exactos debido que puede amplificar y analizar directamente el ADN del organismo. Dentro de las características principales se encuentran:

- Reproducir secciones seleccionadas de ADN o ARN utilizando la técnica de PCR.
- Es posible obtener resultados tanto cualitativos como cuantitativos.
- Los métodos de prueba pueden ser sensibles y rápidos, predominantemente cuando se combinan con un pre-enriquecimiento.
- Los resultados de la prueba se pueden obtener en un plazo de 24 a 48 horas. Este marco de tiempo también incluye tiempo para el pre-enriquecimiento. La reacción cruzada con otros microorganismos no objetivo es rara si el método de prueba está validado.

(Farm, 2021)

## **M. MEDIOS DE CULTIVO**

Los microorganismos, necesitan de ciertos sustratos nutritivos para poder crecer los cuales son llamados medios de cultivo. Estos deben ser preparados estérilmente para que estos puedan crecer y proliferar. El propósito de estos medios de cultivo es el aislamiento de organismos específicos para que puedan ser identificados y utilizados específicamente para análisis y estudios científicos. Dentro de los componentes que deben tener los medios de cultivo son macroelementos, microelementos y factores de crecimiento debido que son factores que les brindan energía y contienen elementos químicos que permiten la síntesis de componentes celulares. (Berríos & Ilabaca, 2018)

Los macroelementos, como bien lo expresa el nombre son lo que se requieren en mayor cantidad y dentro de los cuales se encuentran carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo, azufre, potasio, magnesio, sodio, calcio y hierro. De los mencionados, el que más se puede encontrar en las células es el carbono. Los microelementos, comúnmente son metales, se requieren en cantidades más pequeñas sin embargo son necesarias para que funciones las células especialmente como cofactores enzimáticos y entre los cuales se encuentran cromo, cobalto, cobre, manganeso, níquel, selenio, vanadio, zinc, molibdeno y wolframio. Como factores de crecimiento se encuentran las vitaminas, aminoácidos, purinas y pirimidinas debido que son compuestos orgánicos que se necesitan en pequeñas cantidades y solamente por algunas células. (Berríos & Ilabaca, 2018)

Los medios de cultivo requieren de temperaturas específicas para obtener una buena tasa de crecimiento y proceso metabólico en los microorganismos. Por lo tanto, depende del tipo de microorganismo con el que se trabaje para colocar la temperatura de crecimiento. Estos pueden ser psicrófilos, mesófilos y termófilos. Los psicrófilos crecen en rangos de

temperatura entre los 0°C – 30°C, mesófilos entre 25°C – 40°C y termófilos crecen a temperaturas mayores de 50°C. Se toma como temperatura de crecimiento la que se encuentra entre las primeras 12 y 24 horas. (Berríos & Ilabaca, 2018)

Asimismo, se encuentra el pH óptimo de crecimiento el cual depende si el organismo es una bacteria o levaduras u hongos. Se requiere de un pH neutro o levemente alcalino que se encuentre entre 6.5 – 7.5 para bacterias y pH ácido que se encuentre en 5.0 para levaduras y hongos. Previo a utilizar el medio de cultivo, se requiere que este sea esterilizado y por lo tanto se necesita de una autoclave para llevarlo a cabo. Cada medio de cultivo requiere de una temperatura y tiempo diferente para que se esterilice por completo.

Debido que hay gran variedad de medios de cultivo, algunas de sus utilidades son:

- Clasificación bacteriana por medio del estudio de propiedades bioquímicas especialmente en medio de cultivo diferenciales.
- Producción de toxinas para investigación de sus características.
- Aislamiento de bacterias, levaduras u hongos.
- Creación de cepario, es decir, identificación de cepas.
- Cultivo y cosechas de bacterias para crear o elaborar productos biológicos como vacunas, antígenos, toxoides, entre otros.
- Estudio de la morfología de especies bacterianas y hongos.
- Estudios microscópicos de los microorganismos.

(Berríos & Ilabaca, 2018)

Los medios de cultivos pueden ser clasificados de acuerdo con su naturaleza o composición, estado físico, utilidad práctica. De acuerdo con su naturaleza o composición estos se subclasifican en:

- Complejos o indefinidos: están compuestos por sustancias de origen animal o vegetal y no se conoce las concentraciones de los nutrientes entre los cuales se encuentran leche, carne, sangre, extractos vegetales, entre otros. (Berríos & Ilabaca, 2018)
- Sintéticos o definidos: se encuentran compuestos por sustancias químicas y son formulados por compuestos altamente purificados entre estos medios se encuentran caldo Luria, agar MIO, entre otros. (Berríos & Ilabaca, 2018)

De acuerdo con su estado físico se subclasifican en:

- Medio líquidos: debido que son medio que se encuentran en solución acuosa no contienen el polisacárido Agar-Agar el cual es el que permite que el sustrato se solidifique. El medio, facilita la obtención de suspensiones y favorece el crecimiento bacteriano principalmente de células estresadas porque permiten su movilidad asimismo presentan presencia de oxígeno de acuerdo con sus necesidades de crecimiento. Entre los medios líquidos se encuentran caldo nutritivo, caldo cerebro de corazón, caldo Sabouraud, entre otros. (Berríos & Ilabaca, 2018)
- Medio sólidos: estos son utilizados para obtener colonias de microorganismos las cuales son grandes poblaciones de estas. Las colonias pueden obtenerse solamente de un microorganismo. Para obtener este tipo de colonias generalmente es de 18-24 horas. En este tipo de medio, es posible identificar macroscópicamente las especies de acuerdo con sus características morfológicas, tamaño, forma, color, entre otras. Es importante destacar que este tipo de medio proviene del medio líquido y por lo tanto

para que tenga consistencia sólida, se le agregan el polisacárido Agar-Agar o gelatina. Estos solidificantes pueden proceder de especies de algas marinas rojas como *Gelidium*. Para esterilizarlos se requieren temperaturas de 121°C, pero depende de cada medio, tiene capacidad de retención de agua y por lo tanto se pueden almacenar por largos periodos de tiempo a temperaturas de 4°C. Entre estos tipos de medio se encuentran Agar PDA, Agar nutritivo, Agar McConkey, Agar rosa de bengala, entre otros. (Berríos & Ilabaca, 2018)

- Medio semisólido: este tipo no se solidifica por completo. Por lo tanto, contiene menor cantidad de agar a diferencia de los medios sólidos. Generalmente, se utilizan para estudios relacionados a la motilidad de los microorganismos. Algunos de estos medios son Agar MIO, Agar SIM, entre otros. (Berríos & Ilabaca, 2018)

Dentro de la clasificación según su utilidad práctica, se encuentran subclasificados como

- Medios corrientes: son medios que presentan mínimos nutrientes para que puedan crecer microorganismos que no requieren tanto. La base de este tipo de medios son los medios especiales como caldo nutritivo, agar nutritivo, entre otros.
- Medios especiales: son los que presentan gran valor nutritivo debido que son bacterias que requieren de más nutrientes para desarrollarse. Son clasificados como especiales debido que contienen sustancias químicas que permiten el diagnóstico de un microorganismo. (Berríos & Ilabaca, 2018)

De acuerdo con esta subclasificación, los medios especiales se pueden clasificar en medios enriquecidos, medios selectivos y medios indicadores o diferenciales.

- Medios enriquecidos: estos medios contienen alto valor nutritivo entre las sustancias se encuentra sangre desfibrilada, suero, extractos animales y vegetales que son elementos que proporcionan condiciones beneficiosas para que bacterias con mayores exigencias puedan crecer. Las sustancias presentes, se coagulan en presencia de calor debido que son proteicas y por lo tanto deben esterilizarse por filtración o agregarse a medios previamente esterilizados siempre manteniendo condiciones asépticas. Entre los medios enriquecidos se encuentran Agar PDA, Agar sangre, entre otros. (Berríos & Ilabaca, 2018)
- Medios selectivos: estos tienen como objetivo estimular el desarrollo de especies microbianas y simultáneamente prohíbe el crecimiento de otros y por lo tanto permite el aislamiento e identificación de microorganismos de interés. La inhibición de otro crecimiento celular es debido que presenta sustancias como colorantes anilinas, sales biliares y antibióticos. Entre los cuales se encuentran Agar McConkey, Agar rosa de bengala, Agar Salmonella-Shigella, entre otros. (Berríos & Ilabaca, 2018)
- Medios indicadores o diferenciales: son medios de cultivo a los cuales se les agregan reactivos químicos los cuales presentan propiedades bioquímicas específicas de algunas especies bacteriana como ácidos, producción de gas y fuentes de carbono. Estos elementos permiten que el medio sea diferencial debido que diferencia velozmente la especie bacteriana o micológica. Entre estos se encuentra Agar Rambach, Agar sangre, Agar McConkey, entre otros. (Berríos & Ilabaca, 2018)

Los elementos básicos de los medios de cultivo son peptonas (hidrolizado de proteínas) las cuales son fuentes de aminoácidos para síntesis de componentes celulares, extractos de levaduras o carne que son las fuentes de proteínas de bajo peso molecular y factores de

crecimiento. Los productos biliares son agentes inhibidores, los carbohidratos que es un factor importante debido que son las fuentes de energía para el microorganismo. Productos bioquímicos los cuales son solamente para medios diferenciales o selectivos debido que estos son agentes diferenciales o selectivos. Por último, se encuentran los colorantes e indicadores que son los agentes bacteriostáticos o como comúnmente se le conoce como inhibidores del crecimiento, también permiten visualizar cambios de color en el medio por reacciones químicas los cuales provocan cambios en el pH de medio. (Berríos & Ilabaca, 2018)

## **N. SUELO PARA CULTIVOS DE CAFÉ**

El café de alta calidad se cultiva en suelos que ofrecen un buen drenaje y una adecuada ventilación, combinados con un nivel nutricional óptimo y un elevado contenido de materia orgánica. Es importante evitar suelos con características como arcillas pesadas o aquellos compuestos por arenas y gravas que permitan una lixiviación rápida, ya que estos no son favorables para el cultivo. La textura y la estructura del suelo deben ser tales que faciliten el desarrollo de un extenso sistema radicular, lo que permitirá a la planta acceder a reservas de agua durante las épocas de sequía. La profundidad de las raíces varía en función de las condiciones del suelo; las raíces pivotantes, por ejemplo, suelen alcanzar una profundidad aproximada de 3 a 4 metros, mientras que las raíces laterales, que brindan soporte adicional, pueden extenderse hasta 2 metros alrededor del tronco.

Sin embargo, se estima que más del 80% de las raíces que nutren la planta se encuentran concentradas en los primeros 20 a 30 centímetros de profundidad, y se extienden hasta un metro desde el tronco. Por esta razón, la fertilización se concentra principalmente en esta zona, ya que así se maximiza la absorción de nutrientes. Un drenaje adecuado es fundamental para permitir que el agua de lluvia se drene eficazmente fuera de la zona radicular. El rango de pH más favorable para el cultivo de café oscila entre 5.2 y 6.3, aunque en la práctica, este cultivo también se desarrolla en suelos con pH tan bajos como 4.0 y tan altos como 8.0. En suelos con un pH bajo, es necesario realizar aplicaciones de cal para asegurar una buena disponibilidad de nutrientes esenciales.

La aplicación de materia orgánica como cobertura del suelo es una práctica común entre los agricultores, quienes suelen devolver al cafetal la pulpa y otros residuos orgánicos fermentados. Esta técnica ayuda a conservar la humedad del suelo, mejora su contenido orgánico y facilita el reciclaje de nutrientes. Sin embargo, es importante tener precaución al utilizar mantillo en plantas jóvenes provenientes de viveros, ya que los mantillos poco fermentados pueden liberar amoníaco y causar quemaduras.

Es crucial estimar adecuadamente las necesidades hídricas del cultivo del café, ya que una deficiencia en el suministro de agua puede afectar significativamente el crecimiento de la planta, incluso sin que está presente síntomas visibles de estrés hídrico, como la marchitez. El consumo de agua por parte del cafeto se mide en términos de la evapotranspiración del cultivo en relación con la evapotranspiración de referencia ( $E_{Tc}/E_{T0}$ ), conocido también como el coeficiente del cultivo ( $K_c$ ).

Los beneficios del riego se optimizan cuando los sistemas de irrigación son gestionados de manera que el suministro de agua se ajuste a las necesidades específicas del cultivo. Una buena gestión del riego es esencial no solo para conservar agua, sino también para mantener el rendimiento del cultivo. Además, determinar con precisión el momento adecuado para realizar el riego es fundamental para una gestión eficiente del agua. Contar con estimaciones precisas de las necesidades hídricas del café es vital, ya que una insuficiencia en el suministro de agua puede limitar significativamente el desarrollo de la planta, aun cuando no se presenten síntomas evidentes de estrés por falta de humedad. (Yara, 2024)

## **O. ENFERMEDADES EN PLANTACIONES DE CAFÉ**

El cultivo de café enfrenta desafíos considerables debido a su susceptibilidad a una variedad de plagas y enfermedades, que no solo afectan la cantidad de la producción, sino también la calidad del grano, impactando de manera directa en el perfil sensorial del café. Estas plagas y enfermedades representan un riesgo constante para los caficultores, quienes deben enfrentarlas con estrategias integradas de manejo y control.

Las enfermedades del café, en su mayoría, son causadas por hongos patógenos, aunque en menor medida también pueden ser originadas por bacterias y virus. Según un informe del investigador Fabienne Ribeyre del centro de investigación agrícola CIRAD en Francia, los hongos patógenos son responsables de algunas de las enfermedades más devastadoras que pueden atacar incluso a árboles aparentemente sanos, sin signos de debilidad fisiológica (Ribeyre & Avelino, 2012). Ejemplos claros de estas enfermedades incluyen la podredumbre de las raíces, las royas, y diversas enfermedades de la cereza del café. Sin embargo, muchas otras enfermedades tienden a atacar a árboles que ya presentan debilidades fisiológicas, exacerbando los problemas y reduciendo significativamente el rendimiento. (Perfect Daily Grind, 2019)

Existen múltiples factores que incrementan la vulnerabilidad de los cafetos a estas plagas y enfermedades. Entre ellos, la genética del cultivo juega un papel crucial. Algunas variedades de café son más susceptibles a ciertas enfermedades que otras. Por ejemplo, se ha documentado que la variedad Bourbon Pointu es extremadamente vulnerable a la roya del café, un hongo que se ha convertido en una de las mayores amenazas para la producción cafetera a nivel mundial. La selección de variedades resistentes es, por tanto, una estrategia preventiva fundamental para reducir los riesgos asociados.

Otro factor determinante es el ambiente en el que se cultiva el café. Las condiciones climáticas y la altitud a la que se encuentra la plantación influyen directamente en la proliferación de plagas y enfermedades. Por ejemplo, la broca del café, uno de los insectos más destructivos para el cultivo, prospera en ambientes húmedos. Esta plaga, que se encuentra presente en casi todos los países productores de café, es particularmente agresiva en regiones donde la humedad relativa es alta, como sucede cuando se cultiva café Arábica a bajas altitudes. La broca no solo reduce el rendimiento al hacer que las cerezas jóvenes caigan prematuramente, sino que también afecta la calidad del grano, introduciendo sabores indeseables como el amargor y afectando la uniformidad del tueste. (Perfect Daily Grind, 2019)

Además de la genética y las condiciones ambientales, el manejo del cultivo es otro factor crítico en la prevención y control de plagas y enfermedades. Un manejo agronómico deficiente puede convertir un cultivo saludable en un blanco fácil para infecciones y ataques de plagas. Por ejemplo, la falta de una adecuada fertilización puede llevar a una debilidad estructural en los cafetos, haciéndolos más susceptibles a enfermedades fúngicas. Del mismo modo, prácticas inadecuadas como dejar hojas caídas en el suelo pueden aumentar la posibilidad de desarrollo de moho, lo que a su vez puede brindar refugio a diversas plagas.

La economía también juega un rol crucial en la gestión de plagas y enfermedades. Los caficultores que no tienen los recursos económicos suficientes para invertir en sus fincas se enfrentan a mayores riesgos de infestación. Este problema puede generar un ciclo vicioso: la falta de recursos impide la compra de insumos agrícolas necesarios, como fertilizantes y pesticidas, lo que a su vez incrementa la incidencia de plagas y enfermedades, reduciendo aún más el rendimiento y, por ende, los ingresos del productor. Este círculo de pobreza puede llevar a la ruina a pequeños productores que no pueden mejorar sus prácticas agronómicas debido a la falta de capital.

En términos de plagas específicas, algunas de las más comunes incluyen la broca del café, el minador de la hoja, las cochinillas y los nemátodos. La broca del café es un insecto ampliamente distribuido que perfora las cerezas del café, disminuyendo la densidad del grano y comprometiendo la calidad del café, tanto en sabor como en aroma. El minador de la hoja, por su parte, es una plaga que ataca las hojas del cafeto, reduciendo su capacidad fotosintética y, por lo tanto, afectando el crecimiento y maduración de los frutos. Las cochinillas son insectos que se alimentan de la savia del cafeto, segregando una sustancia pegajosa que promueve la formación de moho negro, lo que limita la fotosíntesis y reduce la productividad. Los nemátodos, parásitos microscópicos que atacan el sistema radicular de las plantas, también representan una amenaza significativa, ya que impiden la correcta absorción de agua y nutrientes, resultando en plantas débiles y de bajo rendimiento. (Perfect Daily Grind, 2019)

En cuanto a las enfermedades, la roya del café es una de las más prevalentes y dañinas. Esta enfermedad, causada por un hongo, provoca la caída de las hojas y limita la producción de nuevos tallos, afectando tanto la producción del año en curso como la del siguiente. La roya se propaga fácilmente a través del viento y la lluvia, y es especialmente común en regiones con temperaturas alrededor de 21 °C, condiciones que son típicas en muchas zonas cafeteras. Otra enfermedad importante es la marchitez del cafeto, que impide la circulación de agua y nutrientes dentro del árbol, llevando a la muerte de las ramas y la maduración prematura de las cerezas, lo que afecta negativamente la calidad del grano. El mal rosado, una infección fúngica que se manifiesta como una costra rosada en las ramas, también es una enfermedad preocupante, particularmente en Brasil, donde ha causado pérdidas significativas en la producción.



**Figura 8.** Daño en hoja de café ocasionado por roya.  
(Hernández, López, & Sánchez, 2021)

El manejo adecuado de estas plagas y enfermedades requiere de un enfoque agronómico integral. La selección de variedades resistentes, el manejo de la sombra, la nutrición adecuada de las plantas, y el uso selectivo de pesticidas son prácticas esenciales para minimizar los riesgos. Por ejemplo, el uso de fungicidas preventivos como la mezcla Bordeaux, un fungicida a base de cobre ha demostrado ser efectivo en la prevención de enfermedades sin generar resistencia. Además, la poda regular y el mantenimiento de la higiene en las plantaciones son fundamentales para evitar la propagación de infecciones fúngicas. (Perfect Daily Grind, 2019)

El monitoreo constante es otra estrategia clave. Los caficultores deben estar atentos a los primeros signos de infestación o enfermedad para poder actuar de manera oportuna. El registro de la floración, la dosis y ritmo de fertilización, así como el análisis regular del suelo, son prácticas recomendadas para asegurar que las plantas reciban los nutrientes necesarios y que cualquier problema sea detectado a tiempo. Asimismo, el control de factores como la sombra, la lluvia y la humedad es esencial para crear un ambiente que no sea propicio para la proliferación de plagas y enfermedades.

Finalmente, aunque los pesticidas pueden ser necesarios en algunos casos, es importante utilizarlos de manera sensata y como parte de un programa de manejo integrado de plagas. El uso indiscriminado de pesticidas puede llevar a la contaminación ambiental y la creación de resistencia en las plagas, lo que podría empeorar la situación a largo plazo. En lugar de depender exclusivamente de pesticidas, los caficultores pueden considerar métodos alternativos como el control biológico. Un ejemplo exitoso es el uso de avispas como depredadores naturales para controlar la broca del café, una práctica que ha permitido mantener bajos niveles de infestación en algunas regiones. (Perfect Daily Grind, 2019)

## P. CONTROL BIOLÓGICO

El control biológico es una estrategia utilizada alrededor del mundo en el cual los protagonistas son los organismos vivos con el propósito de disminuir las poblaciones de plagas. Dentro de estos se pueden encontrar depredadores, parasitoides, patógenos o competidores que atacan a las plagas reduciendo el impacto en cultivos. Con relación a plantaciones de café, el control biológico se ha utilizado como una herramienta fundamental con la cual se maneja controladamente diversas plagas las cuales afectan la productividad y calidad del café. Entre las plagas se encuentran la broca del café causada por *Hypothenemus hampei*, marchitez de las plántulas causada por *Fusarium sp.* entre otras.

Los controladores biológicos en la caficultura permiten la disminución del uso de químicos promoviendo más prácticas agrícolas sostenibles para el medio ambiente. La aplicación de esta metodología presenta ciertas ventajas a largo plazo, como la reducción de costos en insumos y la menor generación de resistencia en las plagas frente a los controles. Conforme el transcurso de los años se han detallado diversas especies de microorganismos y patógenos que son claves para el manejo de plagas en plantaciones de café. (Botero & Jiménez, 2020)

## Q. MÉTODOS DE CONTROL BIOLÓGICO

Para cultivos de café, se pueden utilizar tres estrategias principales:

- Conservación: es una técnica que se basa en preservar y promover los hábitats naturales de los bio-controladores en el entorno de los cultivos. Se enfoca en la preservación y protección de las poblaciones de enemigos naturales ya presentes en el ecosistema. Para lograr esto, es crucial identificar y mitigar los factores que limitan estas poblaciones, lo que requiere un conocimiento profundo de la biología de las especies involucradas. Algunas medidas incluyen la introducción de plantas que produzcan néctar y polen, proporcionando recursos alimenticios para los enemigos naturales. Además, la reducción del uso de pesticidas y la implementación de prácticas agrícolas sostenibles pueden favorecer la conservación de estos agentes biológicos. Este método es esencial para mantener un equilibrio ecológico y reducir la dependencia de métodos químicos de control de plagas.
- Aumentación: se centra en aumentar significativamente la cantidad de enemigos naturales en un área afectada por plagas. Este método puede llevarse a cabo de dos maneras; liberación por inundación la cual consiste en la liberación masiva de individuos en el área afectada, similar al uso de insecticidas, proporcionando un control rápido y eficaz. Este método es ideal para cultivos de ciclo corto o anual, como los cultivos bajo invernadero. La segunda es inoculación que implica la liberación periódica de un número menor de individuos, adecuada cuando la plaga aún no ha alcanzado niveles críticos. Si la plaga supera estos niveles, se recomienda la liberación por inundación o el uso de insecticidas. Este enfoque es útil en sistemas agrícolas donde se busca un control sostenido a lo largo del tiempo.
- Introducción de nuevas especies: implica la introducción de un enemigo natural en un nuevo ambiente con el objetivo de que se establezca y controle la plaga objetivo. Este método es particularmente útil cuando una plaga ha invadido una nueva área

donde sus enemigos naturales no están presentes. Sin embargo, no siempre es posible implementar este tipo de control en todas las áreas, ya que la especie introducida puede no adaptarse o establecerse adecuadamente. Este método se utiliza comúnmente en ambientes estables como bosques, áreas naturales, cultivos frutales y forestales, donde la vegetación no sufre cambios constantes.

(Botero & Jiménez, 2020)

## **R. BENEFICIOS DEL CONTROL BIOLÓGICO**

El control biológico ofrece numerosas ventajas en comparación con los métodos tradicionales de manejo de plagas, especialmente en cultivos como el café. Una de las principales ventajas es la sostenibilidad ambiental, ya que al disminuir o eliminar el uso de plaguicidas químicos, se promueve la conservación de la biodiversidad y la salud de los ecosistemas agrícolas. Además, aunque la implementación inicial del control biológico puede tener ciertos costos, a largo plazo se reduce la necesidad de aplicaciones recurrentes de insumos, lo que resulta en ahorros significativos para los productores. (Botero & Jiménez, 2020)

Otro beneficio importante del control biológico es la prevención de la resistencia en plagas. El uso continuo de insecticidas químicos puede llevar a la aparición de plagas resistentes, lo que complica su manejo. En cambio, el control biológico utiliza múltiples estrategias y organismos, lo que disminuye el riesgo de que las plagas desarrollen resistencia. Estos beneficios hacen del control biológico una opción viable y efectiva para el manejo sostenible de plagas en la agricultura. (Botero & Jiménez, 2020)

## **S. PRUEBAS DE ANTAGONISMO**

Las pruebas de antagonismo son fundamentales para evaluar las interacciones entre especies fúngicas y el potencial que presentan para inhibir el crecimiento mutuo. Estas pruebas normalmente se realizan bajo condiciones controladas en laboratorio. Por lo tanto, permite observar directamente los efectos de un hongo sobre otro sin complejidades influyentes del entorno natural. El método más utilizado es el cultivo dual, en el cual se inocula dos especies de hongos en el mismo medio de cultivo y durante un lapso se observa su crecimiento e interacción. (Espino-Cerda, Morales-García, & Pedraza-Santos, 2017)



	%
<b>Trichoderma viride</b>	<b>100 %</b>
<b>Fusarium sp.</b>	<b>0%</b>

**Figura 9.** Antagonismo de *Trichoderma viride* contra patógeno *Fusarium sp.* (Manayay Guevara, Cordova Rojas, Garcia López, & Vázquez Vázquez, 2016)

Este método permite la identificación de la inhibición y las posibles interacciones competitivas entre los hongos. Otro enfoque que habitual es el método de difusión en agar el cual consiste en la inoculación de un hongo en medio sólido y se colocan discos que contienen esporas del hongo antagonista. La medición de los halos de inhibición alrededor de los discos permite la evaluación de la actividad antifúngica. Las pruebas *in vitro* son fundamentales para la identificación de hongos con potencial de biocontrol.

Diferentes estudios han demostrado que existen diversos hongos antagonistas contra fitopatógenos. Entre estos hongos se encuentran los géneros de *Trichoderma*, *Cladosporium* y *Paecilomyces*. Sin embargo, las pruebas de antagonismo son esenciales para evaluar la eficacia de los antagonistas en condiciones más objetivas. Al realizar estas pruebas, es crucial considerar diferentes factores que pueden ser influyentes en los resultados tales como condiciones ambientales, contaminación, replicación de experimentos, entre otros. (Sanjuán, Rivera-Coto, Villalobos-Moya, Orozco-Rodríguez, & Orozco-Cayasso, 2017)

Las pruebas *in vitro* también se utilizan para la evaluación de sensibilidad de hongos en diferentes fungicidas, pero a diferencia de los otros métodos estos siguen métodos estandarizados como los propuestos por CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) y EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Las técnicas *in vitro*, presentan diversas aplicaciones en el campo biotecnológico y agrícola. En el control biológico de fitopatógenos, la identificación de hongos antagonistas efectivos ha llevado al desarrollo de estrategias sostenibles para el manejo de enfermedades en cultivos. Además, el estudio de la sensibilidad a fungicidas ayuda a identificar cepas resistentes y guía el desarrollo de nuevos productos biológicos. En el ámbito de la investigación ecológica, comprender las dinámicas entre diferentes especies fúngicas proporciona información valiosa sobre la biodiversidad y el funcionamiento de los ecosistemas. Asimismo, el estudio del antagonismo fúngico ha revelado el potencial de estos organismos para la producción de

metabolitos bioactivos con aplicaciones en medicina y agricultura. (Lou, López, & Puga, 2020)

## T. BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

La biotecnología verde, centrada en la creación de soluciones sostenibles para la agricultura y la gestión ambiental, desempeña un papel crucial en el desarrollo de estrategias más limpias y efectivas para el control de plagas y enfermedades en los cultivos. Dentro de este enfoque, el control biológico se presenta como una de las alternativas más prometedoras, ya que emplea organismos vivos, como bacterias, hongos y nematodos, para reducir la incidencia de patógenos y plagas sin recurrir a pesticidas químicos que impactan negativamente el medio ambiente (Selvi Permandy Kandasamy, 2010). Esta estrategia se alinea con los principios de la biotecnología verde, que busca minimizar los efectos adversos de la agricultura intensiva, promoviendo prácticas agrícolas sostenibles y seguras para los ecosistemas.

Uno de los enfoques más destacados de la biotecnología verde en el control biológico es el uso de microorganismos benéficos como *Trichoderma sp.*, un hongo que ha demostrado ser altamente eficaz en el control de patógenos de plantas como *Fusarium sp.*, *Phytophthora sp.*, y *Rhizoctonia solani*. *Trichoderma* actúa por medio de la colonización del sistema radicular de las plantas y la producción de compuestos antimicrobianos que suprimen el desarrollo de los patógenos. Además, estimula las defensas naturales de las plantas mediante la inducción de resistencia sistémica, lo que permite a las plantas defenderse de futuras infecciones. Este enfoque se ha consolidado como una alternativa sostenible a los agroquímicos tradicionales, disminuyendo la incidencia de enfermedades y mejorando el rendimiento de los cultivos (Laila Naher, 2014).

Recientes avances en biotecnología microbiana han permitido el desarrollo de cepas mejoradas de *Trichoderma sp.*, capaces de producir mayores cantidades de metabolitos secundarios con propiedades antifúngicas y de promover un mayor crecimiento de las plantas. Estas cepas modificadas genéticamente son más eficientes en la inhibición de patógenos específicos y permiten un control más preciso de las enfermedades, reduciendo la necesidad de fungicidas químicos. Esta mejora en la capacidad de bio-control no solo fortalece la lucha contra plagas y enfermedades, sino que también contribuye a la sostenibilidad de los sistemas agrícolas al reducir el impacto ambiental de la producción de alimentos (Sharifah Farhana Syed Ab Rahman, 2018).

El impacto de la biotecnología verde en el control biológico también es evidente en el uso de biopesticidas microbianos. Estos productos, basados en la acción de organismos naturales, están ganando terreno como una alternativa a los pesticidas sintéticos. Los biopesticidas elaborados a partir de cepas de *Trichoderma sp.* y otros microorganismos han demostrado ser efectivos en la protección de cultivos y en la mejora de la salud del suelo, promoviendo un crecimiento más saludable y resiliente en las plantas (Renganathan Seenivasagan, 2021). Este enfoque no solo disminuye el impacto ambiental, sino que también mejora la rentabilidad para los agricultores, al reducir los costos asociados con los agroquímicos y permitir la obtención de productos más limpios y seguros para el consumo.

Con relación a la sostenibilidad agrícola, el control biológico basado en la biotecnología verde ha mostrado un gran potencial para enfrentar los desafíos actuales del sector agrícola. Los avances en el uso de agentes microbianos, como *Trichoderma sp.*, han permitido desarrollar soluciones que no solo controlan las plagas de manera eficaz, sino que también contribuyen a la mejora del ecosistema agrícola, preservando la biodiversidad y mejorando la calidad de los suelos (Youssef, 2021). Esta integración de la biotecnología en la agricultura es clave para hacer frente a la creciente demanda de alimentos de manera sostenible, asegurando al mismo tiempo la protección de los recursos naturales y la salud pública.

## **U. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE CAJA Y BIGOTES**

El análisis de caja y bigotes, comúnmente conocido como boxplot, es una herramienta gráfica fundamental en la estadística descriptiva que permite resumir y visualizar la distribución de un conjunto de datos de forma clara y efectiva. Fue introducido por el estadístico John Tukey en la década de 1970, el boxplot se ha convertido en una de las representaciones gráficas más utilizadas en diferentes disciplinas, incluyendo la biología, psicología, economía, entre otras.

Un boxplot se compone de varios elementos clave donde la "caja", que representa el rango intercuartílico (IQR), abarcando desde el primer cuartil (Q1) hasta el tercer cuartil (Q3). La línea que se encuentra dentro de la caja indica la mediana del conjunto de datos, proporcionando una medida de tendencia central. Los "bigotes" se extienden desde la caja hasta los valores máximos y mínimos que no son considerados como valores atípicos. Los valores atípicos, son aquellos puntos que se encuentran a más de 1.5 veces el IQR por encima del tercer cuartil o por debajo del primer cuartil, y se representan como puntos individuales en el gráfico (Wilcox, 2012).

El uso de este análisis estadístico es especialmente valioso en estudios comparativos, donde se desea evaluar la distribución de diferentes grupos. Además, los boxplots son útiles para detectar asimetrías en los datos. Si la mediana se encuentra más cerca de uno de los cuartiles, o si los bigotes tienen longitudes desiguales, esto puede indicar que los datos no son simétricos. Este tipo de análisis es crucial en la investigación, ya que la asimetría puede afectar la validez de los resultados y las conclusiones (Wilcox, 2012).

## **V. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE KRUSKAL WALLIS**

La prueba de Kruskal-Wallis es un método estadístico no paramétrico que se utiliza para determinar si existen diferencias significativas entre tres o más grupos independientes. Esta prueba es especialmente útil en situaciones donde los datos no cumplen con los supuestos de normalidad requeridos para el análisis de varianza (ANOVA). A diferencia del ANOVA, que asume que los datos son distribuidos normalmente y que las varianzas son homogéneas, la prueba de Kruskal-Wallis se basa en rangos, lo que la hace más robusta (William H. Kruskal, 1952).

El procedimiento de la prueba de Kruskal-Wallis comienza con la asignación de rangos a todos los datos, independientemente de su grupo original. Luego, se calculan las sumas de

los rangos para cada grupo. La hipótesis nula establece que las distribuciones de los grupos son iguales, mientras que la hipótesis alternativa sugiere que al menos uno de los grupos presenta una distribución diferente. El estadístico de Kruskal-Wallis se calcula a partir de las sumas de los rangos y se compara con una distribución chi-cuadrado para determinar la significancia estadística (William H. Kruskal, 1952).

Si se rechaza la hipótesis nula, esto indica que al menos uno de los grupos es significativamente diferente. Sin embargo, la prueba de Kruskal-Wallis no identifica qué grupos son diferentes entre sí. Por lo tanto, es común realizar pruebas post-hoc, como la prueba de Dunn o la prueba de Conover, para determinar las diferencias específicas entre los grupos.

## **W.ANÁLISIS ESTADÍSTICO PRUEBA DE DUNN**

La prueba de Dunn es una técnica estadística post-hoc que se utiliza para realizar comparaciones múltiples después de haber encontrado diferencias significativas en la prueba de Kruskal-Wallis. Esta prueba es esencial cuando se desea identificar específicamente cuáles grupos son significativamente diferentes entre sí. La prueba de Dunn se basa en rangos y proporciona un enfoque sistemático para comparar todos los pares de grupos, ajustando el nivel de significancia para controlar el error tipo I, que es el riesgo de rechazar incorrectamente la hipótesis nula (Dunn, 2012).

El procedimiento de la prueba de Dunn implica calcular los rangos de las diferencias entre las medianas de los grupos y luego aplicar un ajuste, como la corrección de Bonferroni, para los múltiples contrastes.

## V. ANTECEDENTES

De acuerdo con estudios anteriores se ha demostrado la importancia de la aplicación del género de *Trichoderma* en plantaciones de café debido a su adaptación en diferentes condiciones ambientales. De acuerdo con lo reportado por (Andrade-Hoyos, Luna-Cruz, Molina-Gayosso, & Landero-Valenzuela, 2019), la evaluación de tres especies de *Trichoderma* frente a tres agentes fitopatógenos permiten demostrar su capacidad antagónica para posterior uso como control biológico. En este estudio, se evaluaron tres aislamientos de *Trichoderma* provenientes de las rizosferas de árboles de aguacate, *T. viride*, *T. harzianum* y *T. asperellum* y tres aislamientos de los fitopatógenos *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* obtenidos de las raíces de plantas de chile con síntomas de la marchitez. Los aislamientos se caracterizaron morfológicamente para su identificación. Los tres hongos antagonistas presentaron alto porcentaje de inhibición, *T. asperellum* mostró el 88.25%, *T. viride* 87.22% y *T. harzianum* con 87.8%. En las condiciones del estudio, *T. asperellum*, *T. viride* y *T. harzianum*, resultaron microorganismos antagónicos eficientes contra los fitopatógenos.

El manejo de enfermedades que son causadas por *Fusarium sp.* en cultivos como café es un gran desafío dentro de la producción sostenible. Este fitopatógeno se encarga de provocar marchitez y pudrición radicular generando pérdidas económicas (Miguel Ángel Matas Baca, 2023). Dentro del contexto de la aplicación de *Trichoderma sp.* como agente biológico debido a su capacidad de antagonista ha emergido como una alternativa eficiente y eficaz para el control de hongos patógenos. Estudios recientes han demostrado que *Trichoderma sp.* es un organismo que utiliza la competencia por espacio y nutrientes como uno de sus mecanismos de acción. También la producción de enzimas hidrolíticas y compuestos antimicrobianos que inhiben el crecimiento del agente patógeno (László Kredics, 2024). Por otro lado, también promueve el crecimiento de las plantas por medio de la estimulación de la resistencia sistémica y por lo tanto mejora su absorción de nutrientes en donde se refuerza su relevancia en la biotecnología y sistemas agrícolas sostenibles.

La aplicación de *Trichoderma sp.* como una herramienta de bio-control tiene diversas ventajas en comparación con el uso de cualquier otro agroquímico. Como una de las ventajas se encuentra es que es una opción ecológicamente segura que aporta a la reducción con relación a la contaminación del suelo y agua, por tanto, minimizan el desarrollo de resistencia en patógenos (Xin Yao, 2023). En el ámbito de biotecnología, se han desarrollado cepas de *Trichoderma* más eficientes por medio de la ingeniería genética con el propósito de mejorar su capacidad de bio-controladores por medio de la sobreproducción de enzimas y otros compuestos (Miriam Schalamun, 2022). Con estos avances se permite la integración de este hongo antagonista en plantaciones de café en donde también puede combatir otros fitopatógenos (Xin Yao, 2023).

Asimismo, en otro estudio realizado se utilizó la técnica de cultivo dual en platos Petri con Agar Sabouraud, se evaluaron competencia por nutrientes y espacio, micoparasitismo y porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), empleando un diseño estadístico factorial 2x6x1 con arreglo completamente aleatorio. Se obtuvieron tres aislamientos nativos de *T. harzianum* (TCN-009, TCN-010, TCN-014) de suelo de Palma de Aceite (*Elaeis guineensis*) de la E.E Caribia, y se compararon con tres aislamientos comerciales (TCC-001, TCC-005, TCC-006). TCC-001 y TCN-014, reportaron ser más competentes por nutrientes y espacio, con el mayor radio de crecimiento de 7,50 y 7,32 cm el día 10, comparado a FSM-011 en el cual solo fue de 2,30 cm. Aunque, TCN-014 mostró mico parasitismo grado 4 con ambos aislamientos de *Fusarium solani* y TCC-005 únicamente con FSM-012, el cual fue más susceptible a ser mico parasitado. En cuanto al PICR, los tratamientos con mejores porcentajes de inhibición fueron TA-9, TA-12 y TA-6 con valores de 70,56, 68,52 y 65,32% respectivamente. El aislamiento del patógeno mayormente inhibido fue FSM-011. Todos estos resultados demuestran que hubo antagonismo *in vitro* al utilizar los aislamientos nativos y comerciales de *T. harzianum* sobre *F. solani*. (Meza, Barbosa, Valero, Carrillo, & Redondo, 2008)

Por otro lado, en otra investigación se evaluó el efecto antagónico de una cepa de *Trichoderma sp.*, sobre *Fusarium sp.*, en plantas de tomate cultivadas en invernadero; además de comparar la acción biocontroladora de la cepa de *Trichoderma sp* con una alternativa química de control dada por el fungicida Benomilo y con una formulación comercial de *Trichoderma viride*. La cepa comercial de *Trichoderma viride* presentó una alta eficiencia protectora, con un 90% de sobrevivencia de plantas, la cual fue siempre superior a la cepa de *Trichoderma sp*, que alcanzó al 70% de sobrevivencia. El fungicida benomilo ofreció una amplia protección de las plantas de tomate al ataque del hongo *Fusarium sp* siendo mayor al ejercido por la cepa *Trichoderma viride*. Cuando los biocontroladores fueron mezclados con el fungicida benomilo, éste produjo un efecto detrimental en la acción tanto de la cepa *Trichoderma sp* como de la formulación comercial cepa de *Trichoderma viride*; siendo mucho más acentuado en este último. (Manayay Guevara, Cordova Rojas, García López, & Vázquez Vázquez, 2016)

En Guatemala se han realizado estudios sobre biocontrol entre el cual se encuentra el estudio realizado por (Aguirre, 2015) en el cual se evaluó la productividad de la cepa Magdalena sobre diferentes sustratos sólidos: grano quebrado de maíz, grano de arroz, grano de sorgo, olote de maíz y olote de maíz + melaza (10%) en laboratorios de producción masiva con condiciones de humedad y temperatura (26 OC) constantes, en donde el sustrato grano de sorgo fue el mejor ya que presentó mayor rendimiento ( $1.3 \times 10^8$  conidios/g) con una tasa de crecimiento en producción de 0.5418, mientras que el menor fue grano quebrado de maíz ( $3.7 \times 10^7$  conidios/g) con una tasa de crecimiento en producción de 0.1908; todos los sustratos sin diferencias significativas en la viabilidad de conidios, superior al 90% en todos los sustratos, para el almacenamiento, el grano quebrado de maíz, grano de arroz y grano de sorgo requieren de 10 días para humedad requerida, menor al 15%, según control de calidad. Posteriormente se determinó la tasa de decrecimiento de viabilidad de conidios durante el almacenamiento en condiciones de refrigeración (2OC) y en condiciones ambientales normales, en donde el mejor sustrato fue el grano de sorgo en refrigeración con -0.22% de decrecimiento y viabilidad de 91.4% a los 40 días de almacenamiento.

## VI. METODOLOGÍA

La presente investigación se llevó a cabo en dos fases principales, campo y laboratorio. La fase de campo se desarrolló en la finca Santa Rita, situada en el municipio de Fraijanes del departamento de Guatemala. El lugar se encuentra a una altura de 1641 m lo cual facilita el cultivo de café. Durante esta fase se realizaron las capturas de *Trichoderma sp.* por medio de métodos artesanales los cuales son adecuados para asegurar viabilidad de las muestras en su hábitat natural. La climatología de la región se caracteriza por temperaturas medias las cuales oscilan entre los 13°C y 27°C con precipitaciones variables. Los meses en los que hay más sequía son de noviembre a abril y el periodo lluvioso se encuentra en los meses de mayo a octubre. Las condiciones ambientales son esenciales para la captura y evaluación de *Trichoderma sp.* en su hábitat natural.

La fase de laboratorio se desarrolló en los laboratorios de la facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas de la Universidad Rafael Landívar. El laboratorio cuenta con el equipo adecuado para realizar el estudio de interacciones microbiológicas. En estos laboratorios se aisló y cultivó la cepa de *Trichoderma sp.* a partir de las trampas empleadas. La evaluación antagónica se realizó bajo condiciones controladas permitiendo demostrar el potencial antagónico de *Trichoderma sp.* en un ambiente replicable.

### **Captura de cepas de *Trichoderma sp.* en finca Santa Rita utilizando métodos artesanales**

#### **Materiales y reactivos**

- Frascos de vidrio
- Arroz
- Gasa
- Piocha
- Balanza
- Hules

#### **Procedimiento experimental**

1. Colocar 1 taza de arroz pasado en agua hervida durante 5 minutos (no es necesario que sea cocido) en 12 frascos de vidrio.
2. Cubrir cada frasco con dos capas de gasa y sellar el frasco con un hule.
3. Con una piocha, realizar agujeros en el suelo de aproximadamente 20 cm de profundidad en 3 zonas de captura diferentes de la plantación de café.
4. Colocar señalización de la ubicación de las trampas para identificar el lugar donde fueron enterradas.
5. Debido a la diversidad de las zonas, esperar 10 días para recolectar las trampas.

6. Pasados los 10 días, recolectar las trampas, colocarles tapadera a los frascos y trasladarlas a laboratorio.
7. Colocarlas en la refrigeradora del laboratorio para evitar el crecimiento bacteriano.

(Pardo, 2014)

Para la distribución de las trampas de arroz se contó con un mapa de la finca donde se detalla la ubicación del área con café. Se seleccionaron los sitios distribuidos en lugares donde se consideró que se tenía condiciones adecuadas y favorables de desarrollo de hongos en el suelo.



**Figura 10.** Mapa de ubicación de trampas artesanales en finca Santa Rita  
(Elaboración propia)

**Cuadro 1.** Coordenadas de localización de trampas de arroz

Número de trampa	Zona de captura	Latitud	Longitud
1	La aldea	14°28'53.88"N	90°27'18.87"O
2	La aldea	14°28'51.41"N	90°27'18.30"O
3	Beneficio de pulpa	14°28'58.48"N	90°27'19.37"O
4	La platanera	14°28'57.51"N	90°27'18.44"O
5	El puente	14°28'57.50"N	90°27'19.52"O
6	Nacimiento	14°28'57.38"N	90°27'20.84"O
7	Cauce del nacimiento	14°28'56.88"N	90°27'22.36"O

Número de trampa	Zona de captura	Latitud	Longitud
8	Lote Guajes	14°28'55.72"N	90°27'24.48"O
9	El cafetal	14°28'53.13"N	90°27'28.96"O
10	A un costado de los Guajes	14°28'47.23"N	90°27'24.78"O
11	El bosque II	14°28'47.28"N	90°27'25.63"O
12	Desperdicio de pulpa	14°28'59.23"N	90°27'19.04"O

### **Aislamiento y cultivo de *Trichoderma sp.* a partir de capturas de trampas artesanales**

#### **Materiales y reactivos**

- Trampas recolectadas de campo
- Cajas de Petri
- Medio de cultivo Agar PDA
- Medio de cultivo Agar nutritivo
- Pinzas / Asa
- Jeringa
- Lactofenol azul
- Cubreobjetos
- Portaobjetos
- Balanza analítica
- Papel aluminio
- Agua destilada
- Estufa
- Agitador magnético
- Mechero

#### **Equipo**

- Incubadora
- Microscopio
- Campana de extracción de flujo laminar

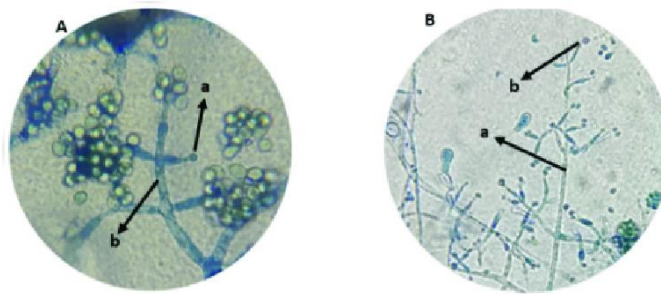
#### **Cristalería**

- Erlenmeyer
- Probeta

#### **Procedimiento experimental**

1. En un pedazo de papel aluminio pesar 8.814 gramos de agar PDA comercial en balanza analítica y colocarlo en un Erlenmeyer de 250 mL.
2. En una probeta de 100 mL medir 226 mL de agua destilada y verterla en Erlenmeyer de 250 mL en el cual se encuentra el agar PDA y mezclar.
3. Colocar un agitador magnético dentro del Erlenmeyer donde se encuentra la mezcla de agar PDA y agua destilada.

4. Situar el Erlenmeyer con medio de cultivo agar PDA en una estufa, colocarlo a agitar hasta llegar a su punto de ebullición.
5. Colocar el medio en autoclave durante 15 minutos a 121°C durante 15 minutos.
6. En un pedazo de papel aluminio pesar 4.52 gramos de agar nutritivo comercial en balanza analítica y colocarlo en un Erlenmeyer de 250 mL.
7. En una probeta de 100 medir 226 mL de agua destilada y verterla en Erlenmeyer de 250 mL en el cual se encuentra el agar nutritivo.
8. Colocar un agitador magnético dentro del Erlenmeyer donde se encuentra la mezcla de agar nutritivo y agua destilada.
9. Situar el Erlenmeyer con medio de cultivo agar nutritivo en una estufa, colocarlo a agitar hasta llegar a su punto de ebullición y dejar ebullición durante un minuto.
10. Colocar el medio en autoclave durante 15 minutos a 120°C.
11. Desinfectar campana de extracción con alcohol y cloro.
12. Encender la campana en la parte superior derecha en el botón Blower.
13. Dentro de la campana, colocar los Erlenmeyer con ambos medios de cultivo y 24 cajas de Petri.
14. Colocar un mechero y encenderlo.
15. Verter 18 mL del medio agar PDA con probeta en 12 cajas de Petri y esperar 15 minutos a que solidifique.
16. Verter 18 mL del medio agar nutritivo con probeta en 12 cajas de Petri y esperar 15 minutos a que solidifique.
17. Limpiar nuevamente la campana y colocar los 12 frascos de vidrio con microorganismos en la campana.
18. Rotular con un marcador las placas de Petri con nombre de quien está realizando la siembra, el agar en el que se está trabajando, la fecha en la que se está trabajando.
19. Con una pinza estéril, tomar 3 o 4 granitos de arroz de la zona de los frascos de vidrio que se encuentre blanca y colocarlos en 6 cajas de Petri en medio de cultivo agar PDA. Realizar el mismo procedimiento con 6 cajas de Petri que contienen agar nutritivo.
20. Con una jeringa tomar un poco de muestra de las trampas recolectadas en donde se pueda visualizar de color blanco y sembrarlas en 6 cajas Petri que contienen medio de cultivo agar PDA. Realizar el mismo procedimiento con 6 cajas de Petri que contienen agar nutritivo.
21. Incubar las muestras de 25°C a 27°C y observar crecimiento después de 8 días para ambas técnicas.
22. Tomar una pequeña muestra de una de las cajas de Petri donde se vea mejor crecimiento del hongo.
23. Situar la muestra en portaobjetos y colocarle 2 gotas de lactofenol azul.
24. Colocarle el cubreobjetos.
25. Enchufar el microscopio y encenderlo con el botón que se encuentra en la parte lateral.
26. Observar en microscopio la muestra para confirmar la morfología de *Trichoderma sp.* la cual debería verse de la siguiente forma:



**Figura 11.** Morfología de *Trichoderma sp.* en microscopio con aumento 40x (Harman G. E., 2004)

27. Después de confirmar la morfología, tomar con un asa muestra de la caja de Petri que tenga mejor crecimiento de *Trichoderma sp.*
28. Sembrar en 6 cajas de Petri con medio de cultivo agar PDA e incubar de 25°C a 27°C durante 8 días, pasados los 8 días observar crecimiento del hongo en la caja de Petri.

(Ramiro Daniel Acurio Vásconez, 2017)

## **Evaluación de la actividad antagónica de *Trichoderma sp.* frente a *Fusarium sp.* por medio de pruebas *in vitro* de antagonismo dual**

### **Materiales y reactivos**

- Cepas de *Trichoderma sp.* y *Fusarium sp.*
- Cajas de Petri
- Medio de cultivo PDA
- Asa para inocular
- Mechero
- Alcohol
- Regla
- Marcador permanente
- Agua destilada
- Agitador magnético

### **Equipos**

- Microscopio
- Campana de extracción de flujo laminar
- Estufa

### **Cristalería**

- Probeta
- Erlenmeyer

### **Procedimiento experimental**

1. En un pedazo de papel aluminio pesar 8.814 gramos de agar PDA comercial en balanza analítica y colocarlo en un Erlenmeyer de 250 mL.

2. En una probeta de 100 mL medir 226 mL de agua destilada y verterla en Erlenmeyer de 250 mL en el cual se encuentra el agar PDA y mezclar.
3. Colocar un agitador magnético dentro del Erlenmeyer donde se encuentra la mezcla de agar PDA y agua destilada.
4. Situar el Erlenmeyer con medio de cultivo agar PDA en una estufa, colocarlo a agitar hasta llegar a su punto de ebullición.
5. Colocar el medio en autoclave durante 15 minutos a 121°C durante 15 minutos.
6. Utilizando una campana de extracción de flujo laminar, distribuir el medio de cultivo es 12 placas de Petri.
7. Esperar 10 minutos hasta que el medio de solidifique en las placas para poderlas utilizar posteriormente.
8. Con ayuda de una regla, medir el diámetro de la caja Petri.
9. Identificar el centro de la caja Petri y marcarlo con el marcador permanente.
10. Medir 1 cm de distancia del borde de la caja Petri hacia el punto donde se encuentra el centro de la caja. Realizar esta medición en dos puntos extremos de la caja.
11. Con ayuda de un cortador de muestra, tomar una muestra de *Trichoderma sp.* y colocarlo boca abajo en un extremo de la caja Petri a la cual se le realizaron las mediciones previamente.
12. Tomar con el cortador de muestra una muestra de *Fusarium sp.* y colocarlo boca abajo en el otro extremo de la caja Petri a la cual se le realizaron las mediciones previamente.
13. Realizar el procedimiento de los pasos 8 al 12 nuevamente en por lo menos 6 cajas Petri.
14. Incubar a temperatura de 26°C las placas inoculadas y observar el crecimiento de los hongos durante 8 días.
15. Después de los 8 días, evaluar el crecimiento de ambos hongos y cuantificar la inhibición por medio de la fórmula de porcentaje de inhibición de crecimiento radial.

**Ecuación 1.** Porcentaje de inhibición de crecimiento radial

$$PICR = \frac{R1 - R2}{R1} * 100$$

Donde

R1 = área de patógeno testigo (radio mayor)

R2 = área de patógeno de enfrentamiento (radio menor)

(Jonathan Pozo-Serrano, 2019)

## VII. RESULTADOS

### Captura de cepas nativas de *Trichoderma sp.*

La captura de cepas nativas de *Trichoderma sp.* en finca Santa Rita, donde se ha tenido el cultivo de café arábica con sombra por más de 20 años, ha presentado una captura limitada. Como se puede observar el Cuadro 1 de resultados, solamente se logró identificar el hongo antagonista en una de las doce trampas colocadas en diferentes puntos de la finca. Considerando que en esta se tienen diferentes condiciones ambientales y micro ambientales para lograr una captura efectiva. Teniendo 28°C en temperatura ambiental y 55% de humedad.

**Cuadro 2.** Capturas de *Trichoderma sp.* utilizando trampas de arroz artesanales

Número de trampa	Zona de captura	Número de cepas	Condiciones ambientales
1	La aldea	0	Lugar con cafetales sembrados, suelo seco.
2	La aldea	0	Lugar con cafetales sembrados, suelo seco.
3	Beneficio de pulpa	0	Lugar húmedo, se realiza degradación de pulpa.
4	La platanera	0	Condiciones ambientales frescas, suelo húmedo.
5	El puente	0	Suelo húmedo y fresco con bastantes hojas y cultivos.
6	Nacimiento	0	Lugar boscoso, condiciones de suelo húmedas, con poca vegetación.
7	Cauce del nacimiento	0	Suelo completamente húmedo, lodoso, con poca vegetación.
8	Lote Guajes	0	Suelo con poca humedad, poca sombra y poca vegetación.
9	El cafetal	0	Suelo completamente seco, solo cafetales como cultivos, sin sombra.
10	A un costado de los Guajes	0	Suelo con poca humedad, luz solar directa y con pocos cultivos.
11	El bosque II	1	Suelo con humedad, presenta cultivos de café y también vegetación.
12	Desperdicio de pulpa	0	Suelo medio húmedo, no hay vegetación.

Resultados de captura de *Trichoderma sp.* realizadas por medio de trampas de arroz. En el cuadro se puede observar el número de cepas obtenidas por cada trampa sembrada en diferentes doce puntos de finca Santa Rita. Cada trampa presentó diferentes condiciones de suelo.

### Aislamiento de *Trichoderma sp.*

Para esta sección de resultados, se realizó el aislamiento únicamente de la trampa 11. Se obtuvieron ocho cepas puras siguiendo el protocolo de (Ramiro Daniel Acurio Vásquez, 2017). Los resultados presentan alta uniformidad en el crecimiento, así como en su desarrollo bajo condiciones controladas de temperatura como se puede observar en el Cuadro 2 de resultados.

**Cuadro 3.** Aislamiento de *Trichoderma sp.* de trampa 11

Cepa	Color de colonia	Diámetro de crecimiento (cm) a los 4 días	Tiempo de incubación (días)	Características macroscópicas y microscópicas
DMAC 1	Verde oscuro	8.6	8	Al inicio del crecimiento un poco algodonoso. A día 4 poroso.
DMAC 2	Verde oscuro	8.6	8	Crecimiento rápido, al segundo día de incubación se pudo observar crecimiento algodonoso sobre toda la placa Petri.
DMAC 3	Verde oscuro	8.6	8	Crecimiento circular uniforme. El color verde dominante y en las orillas color blanco. Las esporas se pueden apreciar como polvosas.
DMAC 4	Verde oscuro	8.6	8	Crecimiento circular uniforme. Se puede apreciar más color verde en una mitad de la placa Petri y en las orillas color blanco con textura algodonosa.
DMAC 5	Verde oscuro	8.6	8	Color verde oscuro, textura algodonosa al inicio de su crecimiento. Las esporas se observan porosas.
DMAC 6	Verde oscuro	8.6	8	Al inicio de su crecimiento se pudo observar algodonoso. Al pasar los días dominó el verde oscuro con textura porosa.
DMAC 7	Verde oscuro	8.6	8	Crecimiento circular uniforme empezando en el centro de la placa. Verde oscuro como color dominante y en las orillas blanco algodonoso.
DMAC 8	Verde oscuro	8.6	8	Color verde oscuro como dominante, en la orilla se observó un color blanco y a los 8 días de crecimiento una textura porosa.

Resultados del aislamiento de *Trichoderma sp.* Estos aislamientos se realizaron a partir de muestras de granos de arroz los cuales fueron extraídos de la trampa 11. Para el aislamiento de estas cepas se colocaron únicamente cuatro granos de arroz en medio de cultivo PDA y se incubaron durante ocho días a temperatura de 30°C.

## Pruebas de antagonismo

Las pruebas de antagonismo de la cepa de *Trichoderma sp.* se realizaron con el hongo patógeno *Fusarium sp.* El inóculo fue facilitado por el laboratorio de patología vegetal de la Asociación Nacional de Café, ANACEFE. Las pruebas se realizaron con base en la metodología desarrollada por (Jonathan Pozo-Serrano, 2019). Los resultados presentados muestran porcentajes de inhibición mayores a 85% lo cual demuestra la efectividad del hongo antagonista aplicado en las evaluaciones realizadas.

**Cuadro 4.** Porcentajes de inhibición de cada cepa de *Trichoderma sp.* aislada

Cepa	Repetición	Área de inhibición hongo antagonista (cm)2	Área de inhibición hongo patógeno (cm)2	Porcentaje inhibición (%)
DMAC 1	1	80.12	8.04	89.96
	2	86.59	5.31	93.87
	3	95.03	9.62	89.88
DMAC 2	1	96.77	9.62	90.06
	2	70.88	5.31	92.51
	3	89.92	5.31	94.10
DMAC 3	1	96.77	4.15	95.71
	2	83.32	6.61	92.07
	3	80.12	4.15	94.81
DMAC 4	1	86.59	6.61	92.37
	2	84.95	8.55	89.93
	3	81.71	7.55	90.76
DMAC 5	1	93.31	4.91	94.74
	2	83.32	6.16	92.61
	3	89.92	5.31	94.10
DMAC 6	1	91.61	9.08	90.09
	2	83.32	6.61	92.07
	3	88.25	9.08	89.71
DMAC 7	1	93.31	6.61	92.92
	2	100.29	8.55	91.47
	3	95.03	4.91	94.83
DMAC 8	1	88.25	7.07	91.99
	2	84.95	5.73	93.26
	3	83.32	4.91	94.11

El cuadro anterior muestra los resultados obtenidos de las pruebas de antagonismo dual. Las pruebas se realizaron por cada cepa de *Trichoderma sp.* aislada y en triplicado. Los cálculos realizados se basaron en la ecuación 1 presentada en el área de metodología.

**Cuadro 5.** Análisis estadístico de Kruskal - Wallis

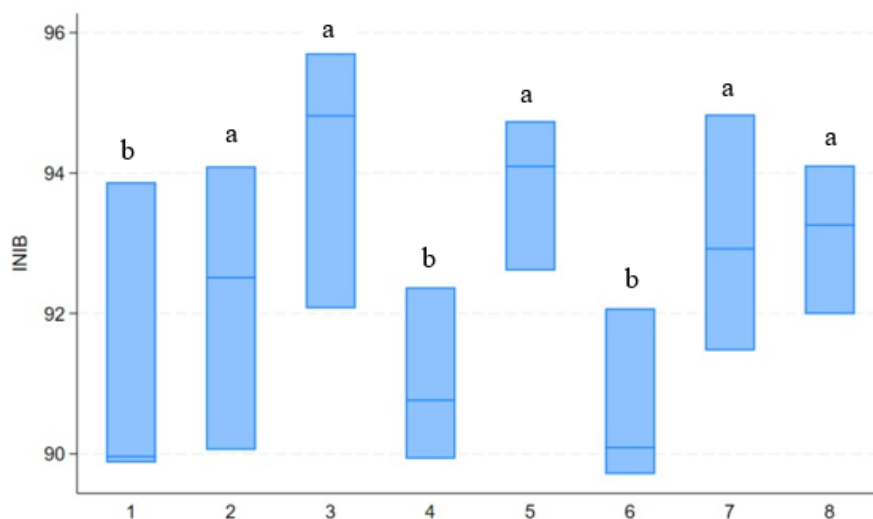
dmac	Obs	Rank sum
1	3	23.00
2	3	36.50
3	3	56.50
4	3	22.00
5	3	53.50
6	3	17.50
7	3	46.00
8	3	45.00

chi2(7) = 10.647  
 Prob = 0.1548

chi2(7) with ties = 10.656  
 Prob = 0.1543

El cuadro anterior muestra en análisis estadístico aplicado a todas pruebas realizadas en la evaluación antagónica entre *Trichoderma sp.* y *Fusarium sp.* este análisis se realizó con el propósito de evaluar la variabilidad de los datos. Esta prueba no paramétrica indica diferencias relevantes entre los grupos de variables independientes. El análisis fue realizado con el software Statistics and Data Science (STATA).

**Figura 12.** Análisis estadístico de caja y bigotes



La figura anterior muestra el gráfico de caja y bigotes como parte de un análisis estadístico entre los porcentajes de inhibición y las ocho cepas de *Trichoderma sp.* evaluadas en las pruebas de antagonismo. El análisis fue realizado con el software Statistics and Data Science (STATA).

## VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente estudio, que evalúan el potencial antagonico de *Trichoderma sp.* frente a *Fusarium sp.* en plantaciones de café de finca Santa Rita, Guatemala, muestran una clara evidencia de la capacidad bio-controladora de las cepas estudiadas. Se realizó un análisis de los datos, tomando en consideración aspectos como la comparación entre las cepas, las áreas de inhibición del hongo antagonista y del patógeno, y la aplicación de métodos estadísticos que refuerzan la solidez de los resultados obtenidos.

El proceso de aislamiento de *Trichoderma sp.* es uno de los pasos más importantes dentro de la presente investigación para realizar la evaluación de su potencial como agente de bio-control. El arroz, al empezar su proceso de descomposición, propicia el crecimiento y colonización de diversos hongos facilitando la obtención de un coctel de especies microbianas del suelo. También al tener las capturas se realizó la siembra en un medio de cultivo específico para crecimiento de hongos el cual es agar papa dextrosa PDA.

Este medio de cultivo fue adecuado puesto que permitió el crecimiento y desarrollo de colonias morfológicamente homogéneas. De esta manera empezar con el aislamiento del microorganismo de interés. De acuerdo con el Cuadro 2 de resultados, en las colonias obtenidas se observaron características tanto macroscópicas como microscópicas de *Trichoderma sp.* Algunas de las características observadas fue la coloración verde, al inicio del crecimiento textura algodonosa, crecimiento rápido, entre otras. Esto es un factor indicativo que son cepas adaptables a su entorno confirmando una de las características de este hongo mencionadas con anterioridad.

La técnica empleada para el aislamiento fue la propagación de esporas en el medio de cultivo. Este medio es comúnmente utilizado para hongos puesto que proporciona los nutrientes necesarios para el desarrollo adecuado de estos. Posterior a su incubación, las colonias de *Trichoderma sp.* empezaron con su crecimiento lo cual permitió la observación detallada de sus características morfológicas en las cuales se incluyen color, tamaño, textura. Estos son los parámetros principales para la identificación de la cepa puesto que este hongo presenta crecimiento rápido y expansivo en medios de cultivos con nutrientes.

También para confirmar el aislamiento adecuado de las cepas de *Trichoderma sp.* se realizaron diferentes tinciones con lactofenol azul y sin lactofenol azul las cuales fueron observadas posteriormente en el microscopio. El objetivo de poder visualizar estas cepas fue confirmar su estructura morfológica como se puede observar en las figuras 45 y 46 de la sección de anexos. Las estructuras observadas en cada cepa cumplieron con lo que se ha reportado en la literatura presentando las ramificaciones de los conidióforos, así como los conidios y fiálides en los cuales se puede observar una forma bastante común de *Trichoderma sp.* siendo esta en forma de pino. En las muestras que no se observaron realizando tinción se pudo apreciar el color verde olivo se las esporas y su forma circular considerando estas

también características para confirmar el hongo de interés como se puede observar en la Figura 44 de la sección de anexos.

Para la incubación, se dejaron las cepas durante ocho días a 34°C. Es importante mencionar que la temperatura a la cual se trabajó es adecuada tanto para *Trichoderma sp.*, como para *Fusarium sp.* Tener un aislamiento puro en este tipo de estudio es importante debido que provee resultados adecuados en las pruebas de antagonismo permitiendo que solamente sean exclusivamente esos dos hongos los que compitan en las pruebas.

El aislamiento del hongo antagonista es esencial puesto que permite realizar pruebas controladas de interacción directa entre las cepas y el hongo patógeno. La importancia del aislamiento eficaz asegura que exista un aislamiento libre de contaminantes los cuales podrías tener influencia en los resultados. Presentar homogeneidad en las cepas aisladas es uno de los elementos que garantiza que el ensayo puede repetirse y realizar una comparación entre los resultados. Este proceso también es crucial para la identificación de cepas que pueden ser utilizadas para aplicaciones en productos.

Como se puede observar en el Cuadro 1 de resultados, las capturas obtenidas fueron limitadas. De acuerdo con las cepas obtenidas, solamente en una de las doce trampas colocadas se logró identificar *Trichoderma sp.*, La zona en la cual se encontró esta cepa es El bosque II, teniendo humedad como una de las condiciones ambientales importantes en las cuales este tipo de hongo se desarrolla y crece con facilidad. Sin embargo, proporcionó información importante en cuanto a la cantidad de este hongo en diferentes puntos de la finca.

La baja tasa de captura de *Trichoderma sp.* en finca Santa Rita puede estar influenciada debido a características intrínsecas del suelo. Estas características sugieren que el suelo presenta una gran capacidad de retención de humedad, lo cual es favorable para la colonización de hongos. No obstante, el terreno presenta una inclinación de 8-15% y una susceptibilidad a erosión lo cual puede comprometer la creación de microambientes estables para hongos como *Trichoderma sp.* La erosión puede alterar las capas superficiales del suelo y por lo tanto provocar un desplazamiento de esporas.

También se pueden interrumpir las colonias emergentes provocando que no se establezcan. Además, la ausencia de capas puede provocar que las raíces no penetren bien el suelo, permite el crecimiento de plantas, pero por lo mismo la distribución de nutrientes se puede ver afectada principalmente durante las épocas de lluvia. Por lo tanto, la biodiversidad fúngica del suelo puede tener consecuencias negativas.

La inhibición del crecimiento de *Fusarium sp.* fue el parámetro principal evaluado para determinar la efectividad de *Trichoderma sp.* como bio-controlador. El área de inhibición del hongo antagonista tuvo valores altos en todas las repeticiones, estos valores variaron dependiendo de la cepa utilizada. Las cepas DMAC 3 y DMAC 7 sobresalieron por su capacidad antagónica con áreas de inhibición de 96.77 cm<sup>2</sup> y 95.03 cm<sup>2</sup> respectivamente, lo cual indica una alta capacidad de colonización y supresión de *Fusarium sp.*

Es importante destacar que la consistencia en los valores obtenidos entre las repeticiones indica que las cepas poseen una acción estable frente al patógeno. Como se puede observar

en el Cuadro 3 de resultados, la cepa DMAC 3 en las tres repeticiones, mantuvo una tendencia de inhibición del fitopatógeno con una variación entre 80.12 cm<sup>2</sup> y 96.77 cm<sup>2</sup> de área de inhibición del hongo antagonista. Lo que sugiere que estas cepas son confiables y presentan una capacidad de inhibición robusta; esto es crucial con relación a la aplicación en cultivos donde la consistencia es base para el manejo eficiente de enfermedades.

Uno de los resultados que más destaca en este estudio es el bajo porcentaje de inhibición del crecimiento de *Fusarium sp.* por parte de las cepas de *Trichoderma sp.* En todas las cepas estudiadas, los valores superan el 89%, lo cual resalta el potencial de estas cepas como bio-controladoras eficaces. La cepa DMAC 3 presentó un porcentaje de inhibición de 95.71% en la primera de las tres de las repeticiones, lo que indica una capacidad excelente para restringir el crecimiento del hongo patógeno, colocándola como la mejor cepa con relación a las otras cepas analizadas. Esta cifra es particularmente relevante, ya que un control por encima del 90% en ensayos de laboratorio es un indicio prometedor de una fuerte competencia en campo.

La variación entre las cepas en términos de porcentaje de inhibición fue mínima, aunque notable en algunos casos. Como se observa la cepa DMAC 2 mostró una inhibición en el rango del 90.06% al 94.10%, lo que, si bien es ligeramente inferior a DMAC 3, aún sugiere un desempeño antagonístico significativo. Estas diferencias podrían deberse a factores intrínsecos de cada cepa, como su capacidad para secretar metabolitos secundarios o enzimas líticas que inhiben el crecimiento de *Fusarium sp.*

Por otro lado, también se encuentra el análisis estadístico en el Cuadro 12 de resultados. La aplicación de la prueba de Kruskal – Wallis para analizar los resultados tuvo un enfoque correcto puesto que los datos no mostraron una distribución normal. Esto justifica el uso de una prueba no paramétrica. Este análisis permitió la evaluación de las diferencias significativas entre las diferentes cepas aisladas de *Trichoderma sp.* en cuanto a su capacidad inhibitoria de *Fusarium sp.*

Este análisis indicó que, aunque todas las cepas tuvieron respuesta efectiva, existen ciertas diferencias estadísticas significativas entre ellas; especialmente entre las cepas DMAC 3 y DMAC 7 al compararlas con el resto de las cepas. Esto destaca la importancia de la selección de cepas específicas para su uso en bio-control debido que no todas las cepas del hongo antagonista tienen la misma capacidad y eficiencia. Las diferencias observadas se pueden deber a variaciones genéticas y por lo tanto afectar su capacidad de producir enzimas hidrolíticas, antibióticos, entre otras características que identifican a *Trichoderma sp.* como inhibidor de patógenos.

El gráfico de caja y bigotes proporcionó una representación visual clara de la dispersión de los datos y permitió identificar la variabilidad de los resultados. En este estudio, el gráfico de caja y bigotes mostró una baja dispersión en los porcentajes de inhibición de las cepas de *Trichoderma sp.*, lo que refuerza la consistencia de los resultados experimentales. La mayoría de las cepas mostró una distribución ajustada alrededor de medianas altas, lo que indica que el rendimiento de inhibición fue constante entre las repeticiones de las cepas DMAC 2, DMAC 3, DMAC 5, DMAC 7 y DMAC 8 y no hubo una gran variabilidad entre los experimentos de acuerdo con el análisis de Dunn como se puede observar en la figura 13 de análisis estadístico de la sección de apéndice.

La visualización gráfica mediante diagramas de caja y bigotes también permitió identificar valores atípicos. En algunos casos, se observaron datos atípicos en los datos de algunas cepas, lo que podría deberse a variaciones en las condiciones experimentales o a la presencia de factores biológicos no controlados que afectaron el crecimiento de *Fusarium sp.* Sin embargo, en la mayoría de las cepas, estos valores atípicos fueron mínimos y no comprometieron la interpretación general de los resultados.

La variabilidad observada entre las diferentes cepas de *Trichoderma sp.* es un aspecto importante para considerar, ya que no todas las cepas mostraron el mismo nivel de inhibición frente a *Fusarium sp.* Aunque todas las cepas fueron efectivas, hubo diferencias en la magnitud de la inhibición. Las cepas DMAC 3 y DMAC 7 demostraron ser las más efectivas, con porcentajes de inhibición superiores al 94%, mientras que otras cepas, como DMAC 1 y DMAC 6, aunque también efectivas, mostraron los porcentajes más bajos en comparación con el resto de las cepas analizadas.

Es probable que estas diferencias en la efectividad de inhibición estén relacionadas con la producción diferencial de compuestos antifúngicos. *Trichoderma sp.* es conocido por su capacidad para producir una amplia gama de metabolitos secundarios, que tienen efectos inhibidores sobre una variedad de patógenos. La cantidad y el tipo de metabolitos producidos pueden variar significativamente entre cepas, lo que explica en parte las diferencias observadas en este estudio.

Además, la capacidad de colonización rápida de *Trichoderma sp.* también puede haber contribuido a las diferencias en la inhibición de *Fusarium sp.* Las cepas con una mayor área de inhibición del hongo antagonista, como DMAC 3, pudieron establecerse más rápidamente en el medio de cultivo, lo que les permitió competir de manera más efectiva por los recursos y, en consecuencia, inhibir el crecimiento del hongo patógeno con mayor éxito.

Finalmente, los resultados de esta investigación tienen implicaciones importantes para la agricultura sostenible y el manejo integrado de plagas. Las cepas de *Trichoderma sp.* capturadas en finca Santa Rita muestran un alto potencial para ser utilizadas como agentes de biocontrol, lo que podría reducir significativamente la dependencia de agroquímicos en el manejo de enfermedades como las causadas por *Fusarium sp.* Además, el uso de cepas locales de *Trichoderma sp.* es una ventaja significativa, ya que estas cepas están adaptadas a las condiciones ambientales específicas de la región, lo que aumenta su probabilidad de éxito en aplicaciones de campo. Agregando que en todas las cepas estudiadas se presentaron diferentes niveles de inhibición refuerza la idea de que no todas las cepas de *Trichoderma sp.* son iguales.

## IX. CONCLUSIONES

- Se evaluó el potencial antagonístico de *Trichoderma sp.* como controlador biológico contra *Fusarium sp.* en suelos de plantaciones de café de la finca Santa Rita. Los resultados de las pruebas de inhibición *in vitro* mostraron que las cepas de *Trichoderma sp.* evaluadas, especialmente la cepa DMAC 3, presentaron una inhibición significativa del patógeno, con porcentajes de inhibición que superaron el 90%, lo que confirmó su capacidad para reducir el crecimiento de *Fusarium sp.* en condiciones controladas.
- Las capturas de *Trichoderma sp.* utilizando trampas de arroz en la finca Santa Rita fueron limitadas debido a las variaciones en las condiciones ambientales y de suelo en las diferentes zonas de muestreo. Solamente en la zona del Bosque II se obtuvo una cepa viable, lo que indica que las condiciones específicas de humedad y vegetación en esa área favorecen el crecimiento y desarrollo de *Trichoderma sp.*
- El aislamiento microbiológico de *Trichoderma sp.* a partir de las capturas realizadas con trampas de arroz permitió obtener y caracterizar ocho cepas distintas, las cuales se denominaron DMAC 1 a DMAC 8. Estas cepas mostraron un crecimiento adecuado en el medio de cultivo enriquecido agar papa dextrosa (PDA), lo que permitió su utilización en los ensayos de antagonismo. Este proceso confirmó la eficacia del método empleado, demostrando su utilidad para el aislamiento de *Trichoderma sp.* en condiciones controladas, y sentando una base sólida para la evaluación posterior del potencial antagonístico de las cepas aisladas.
- Las pruebas *in vitro* de antagonismo dual demostraron que todas las cepas de *Trichoderma sp.* inhibieron el crecimiento de *Fusarium sp.*, siendo las cepas DMAC 3 y DMAC 7 las que mostraron los mayores porcentajes de inhibición. Esto evidencia que *Trichoderma sp.* tiene un alto potencial como agente de control biológico, presentando porcentajes de inhibición superiores al 89% en todas de las repeticiones realizadas.
- De acuerdo con el gráfico de caja y bigotes, se determinó que entre las cepas DMAC 2, DMAC 3, DMAC 5, DMAC 7 y DMAC 8, no hubo diferencias estadísticamente significativas en los niveles de inhibición. Estas cepas presentaron comportamientos similares en términos de mediana y dispersión de los datos.

## X. RECOMENDACIONES

- Llevar a cabo un análisis más detallado de las condiciones ambientales y micro ambientales antes de realizar las capturas de *Trichoderma sp.* Es decir, considerar la humedad del suelo, la presencia de vegetación y las características físicas de cada zona para aumentar la probabilidad de capturas exitosas y la aplicación de agroquímicos.
- Realizar muestreos en diferentes estaciones del año para identificar si las condiciones climáticas, como la temporada de lluvias, influyen en la abundancia de *Trichoderma sp.* en los suelos de café. Debido a la variabilidad en las condiciones ambientales, se espera una mejor captura durante la época de lluvias, ya que las mayores condiciones de humedad favorecen el crecimiento y desarrollo de *Trichoderma sp.*, mientras que, en la temporada de verano, con menor humedad, las capturas podrían ser menos efectivas.
- Como complemento a los métodos microbiológicos utilizados, es beneficioso emplear técnicas de identificación molecular para confirmar las especies de *Trichoderma sp.* de las cepas aisladas. Para obtener un mayor control de calidad en las cepas utilizadas para bio-control.
- Realizar ensayos en condiciones de campo para evaluar la efectividad de la cepa de *Trichoderma sp.* obtenida bajo condiciones agrícolas reales. Con el fin de determinar si el comportamiento antagónico observado en laboratorio se replica en un entorno natural, como la interacción con otros microorganismos del suelo, variaciones climáticas, y si las condiciones específicas del cultivo de café podrían influir en su efectividad. También monitorear la persistencia de la cepa en el suelo, su capacidad para colonizar las raíces de las plantas y su impacto a largo plazo en la inhibición de *Fusarium sp.* para validar su uso como agente de bio-control en sistemas agrícolas de café.

## XI. REFERENCIAS

1. Aguilar, M. y. (2023). *Trichoderma, un agente antagonista eficaz en el control de enfermedades vegetales*. Colombia: Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas.
2. Aguirre, J. L. (2015). *Trabajo de Graduación realizado en el Departamento de Biotecnología Magdalena (BIOMag), División de Investigación y Desarrollo Agrícola, INGENIO MAGDALENA S. A., La Democracia, Escuintla, Guatemala, C.A.* Universidad San Carlos de Guatemala: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/2968/1/Documento%20integrado.pdf>.
3. Andrade-Hoyos, P., Luna-Cruz, A., Molina-Gayosso, E., & Landero-Valenzuela, N. (2019). *Antagonismo de Trichoderma spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile*. Revista Scielo: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342019000601259](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342019000601259).
4. Andre Schuster, M. S. (2010). *Biology and biotechnology of Trichoderma*. PubMed: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-010-2632-1#:~:text=Currently,%20various%20Trichoderma%20enzymes%20are%20applied%20to%20improve>.
5. Benadof, D. (2010). *Fusarium especie*. Revista Chilena de Infectología: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182010000500007>.
6. Berríos, C. S., & Ilabaca, R. G. (2018). *Manual de Microbiología*. Chile: Pontificia Universidad Católica de Chile.
7. Botero, C. E., & Jiménez, L. A. (2020). *Control biológico de las plagas de café en Colombia*. Cenicafé: [https://doi.org/10.38141/10791/0001\\_4](https://doi.org/10.38141/10791/0001_4).
8. Castillo, J. R. (2001). *Control biológico de la pudrición radicular por Fusarium oxysporum en semilleros de café usando endomicorriza y Trichoderma harzianum*. Zamorano: <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/688437c8-1e43-4b1a-9170-eb806be284cc/content>.
9. Cenicafé. (2023). *Marchitez vascular del café*. [https://www.cenicafe.org/es/index.php/cultivemos\\_cafe/manejo\\_de\\_enfermedades](https://www.cenicafe.org/es/index.php/cultivemos_cafe/manejo_de_enfermedades).
10. Contreras-Cornejo, H., & Macías-Rodríguez, L. (2018). *Ecological functions of Trichoderma spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: Interactions with plants*. FEMS Microbiology Ecology: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy040>.

11. Danay Infante, B. M. (2009). *Trichoderma mechanisms of action against Phytopathogen fungi*. Revista Scielo: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522009000100002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002).
12. Diego Martinez, R. M. (2008). *Genome sequencing and analysis of the biomass-degrading fungus Trichoderma reesei (syn. Hypocrea jecorina)*. Nature Biotechnology: <https://www.nature.com/articles/nbt1403>.
13. Dinolfo, M. I., Castañares, E., & Stenglein, a. S. (2017). *Fusarium–Plant Interaction: State of the Art – a Review*. Argentina: <https://pps.agriculturejournals.cz/pdfs/pps/2017/02/01.pdf>.
14. Doan Thi Van, L. T. (2023). *Study on the treatment of root rot caused by Fusarium sp. on coffee trees by the antagonistic activity of microorganisms isolated in coffee-growing soil in Kon Tum Province, Vietnam*. Science Direct: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.05.289>.
15. Dunn, O. J. (2012). *Multiple Comparisons among Means*. Journal of the American Statistical Association: <http://dx.doi.org/10.1080/01621459.1961.10482090>.
16. Espino-Cerda, Á., Morales-García, J. L., & Pedraza-Santos, M. E. (2017). *PRUEBAS DE ANTAGONISMO CON HONGOS ASOCIADOS AL SÍNTOMA DE MARCHITEZ DE ÁRBOLES DE AGUACATE EN MICHOACÁN, MÉXICO*. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo: [https://www.avocadosource.com/Journals/Memorias\\_VCLA/2017/Memorias\\_VCL\\_A\\_2017\\_PG\\_173.pdf](https://www.avocadosource.com/Journals/Memorias_VCLA/2017/Memorias_VCL_A_2017_PG_173.pdf).
17. FAO. (2022). *Fusarium wilt of coffee*. <https://www.fao.org/3/ca3986en/ca3986en.pdf>.
18. Farm, B. (2021). *Qué son los análisis microbiológicos y qué tipos existen*. <https://basicfarm.com/blog/definicion-tipos-analisis-microbiologicos/>.
19. Gary E. Harman, C. R. (2004). *Trichoderma species — opportunistic, avirulent plant symbionts*. Nature Reviews Microbiology: <https://www.nature.com/articles/nrmicro797>.
20. Harman, G. E. (2004). *Trichoderma species—opportunistic, avirulent plant symbionts*. Nature Reviews Microbiology: <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>.
21. Harman, G. E. (2005). *Overview of Mechanisms and Uses of Trichoderma spp.* The American Phytopathological Society: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/epdf/10.1094/PHTO-96-0190>.
22. Hernández, C., López, L., & Sánchez, L. (2021). *Agentes de control biológico de la roya del café ¿Cómo funcionan y qué tan efectivos son?* Revista BioTecnología: [https://www.researchgate.net/publication/351458737\\_Agentes\\_de\\_control\\_biologico\\_o\\_de\\_la\\_roya\\_del\\_cafe\\_Como\\_funcionan\\_y\\_que\\_tan\\_efectivos\\_son](https://www.researchgate.net/publication/351458737_Agentes_de_control_biologico_o_de_la_roya_del_cafe_Como_funcionan_y_que_tan_efectivos_son).

23. Hernández-Melchor, D. J., Ferrera-Cerrato, R., & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma: IMPORTANCIA AGRÍCOLA, BIOTECNOLÓGICA, Y SISTEMAS DE FERMENTACIÓN PARA PRODUCIR BIOMASA Y ENZIMAS DE INTERÉS INDUSTRIAL*. Revista Scielo: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0719-38902019000100098](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-38902019000100098).
24. Intagri. (2016). Obtenido de Intagri: <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/trichoderma-control-de-hongos-fitopatogenos>
25. Irina S. Druzhinina, V. S.-S.-E. (2014). *Trichoderma: the genomics of opportunistic success*. Nature Reviews: 10.1038/nrmicro2637.
26. Jonathan Pozo-Serrano, E. R.-d.-C.-P.-P.-T.-A.-L. (2019). *Antagonic effectiveness in vitro of Trichoderma sp. in front of Stemphylium lycopersici*. Revista Cultivos Tropicales: <https://www.redalyc.org/journal/1932/193262826004/193262826004.pdf>.
27. José López-Bucio, R. P.-F.-E. (2015). *Trichoderma as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus*. Science Direct: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.043>.
28. Julio Mora, A. R. (2013). *Control biológico de la pudrición radicular por Fusarium oxysporum en semilleros de café usando endomicorriza y Trichoderma harzianum*. Zamorano: <https://bdigital.zamorano.edu/items/77bd11fc-5034-49cf-901b-d301a06253c8/full?formCode=MG0AV3>.
29. Khayat, A. S., & Al-araji, A. M. (2020). *The inhibitory effect of Trichoderma crude extract against some human pathogenic bacteria*. researchgate: [https://www.researchgate.net/figure/A-Trichoderma-grown-on-PDA-at-25-2C-after-7-days-of-incubation-B-Microscopic\\_fig1\\_344668486](https://www.researchgate.net/figure/A-Trichoderma-grown-on-PDA-at-25-2C-after-7-days-of-incubation-B-Microscopic_fig1_344668486).
30. Kummalue, T., Fungladda, S., & Jiratchariyakul., W. (2010). *Antiproliferative and Antimicrobial Activities of Endophytic Fungus Isolated from Erycibe Elliptilimba*. Siriraj Medical Journal : [https://www.researchgate.net/figure/Trichoderma-sp-grown-on-PDA-for-one-week-at-room-temperature-Angle-of-secondary\\_fig2\\_277100814](https://www.researchgate.net/figure/Trichoderma-sp-grown-on-PDA-for-one-week-at-room-temperature-Angle-of-secondary_fig2_277100814).
31. Laila Naher, U. K. (2014). *Trichoderma spp.: A biocontrol agent for sustainable management of plant diseases*. Pakistan Journal of Botany: [https://www.researchgate.net/publication/281736621\\_Trichoderma\\_spp\\_A\\_biocontrol\\_agent\\_for\\_sustainable\\_management\\_of\\_plant\\_diseases](https://www.researchgate.net/publication/281736621_Trichoderma_spp_A_biocontrol_agent_for_sustainable_management_of_plant_diseases).
32. László Kredics, R. B. (2024). *Recent advances in the use of Trichoderma-containing multicomponent microbial inoculants for pathogen control and plant growth*

- promotion*. World Journal of Microbiology and Biotechnology: 10.1007/s11274-024-03965-5.
33. Lou, A., López, S., & Puga, C. (2020). *Cultivo In Vitro Y Conservación De Macrohongos Silvestres: Salvando Las Potenciales Especies Comestibles Y Medicinales*. Scientia. Revista de Investigación de la Universidad de Panamá: <https://www.redalyc.org/journal/6517/651769491007/html/>.
  34. Manayay Guevara, C. A., Cordova Rojas, L. M., Garcia López, J. W., & Vázquez Vázquez, J. M. (2016). *Efecto antagónico de una cepa de Trichoderma sp sobre Fusarium sp. En planta de tomate Río Grande (Solanum lycopersicum)*. Redalyc: <https://www.redalyc.org/journal/5217/521753139008/html/>.
  35. Martínez-Martínez, T. O., Guerrero-Aguilar, B. Z., Pecina-Quintero, V., Rivas-Valencia, P., González-Pérez, E., & Angeles-Núñez, J. G. (2020). *Antagonismo de Trichoderma harzianum contra la fusariosis del garbanzo y su efecto biofertilizante*. México: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342020000501135](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342020000501135).
  36. Mausam Verma, S. K. (2007). *Antagonistic fungi, Trichoderma spp.: Panoply of biological control*. Biochemical Engineering Journal: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.05.012>.
  37. Meza, C. L., Barbosa, R. J., Valero, N. O., Carrillo, R. M., & Redondo, A. R. (2008). *Antagonismo in vitro de Trichoderma harzianum Rifai sobre Fusarium solani (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá*. Revista Scielo : [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-34752008000200005](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752008000200005).
  38. Miguel Ángel Matas Baca, M. A.-C. (2023). *Trichoderma fungi as an agricultural biological control in Mexico*. Revista Chapingo: <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2022.11.015>.
  39. Miriam Schalamun, M. S. (2022). *Trichoderma – genomes and genomics as treasure troves for research towards biology, biotechnology and agriculture*. Frontiers in Fungal Biology: 10.3389/ffunb.2022.1002161.
  40. Mohammed Ezziyyani, C. P. (2004). *Trichoderma harzianum como biofungicida para el biocontrol de Phytophthora capsici en plantas de pimienta (Capsicum annuum L.)*. Anales de Biología: <https://www.um.es/analesdebiologia/numeros/26/PDF/05-TRICHODERMA.pdf>.
  41. MSc, L. C., MSc, L. C., PhD, J. C., Joya, J. A., & Marquez, K. (2012). *Efecto biocontrolador de Bacillus spp., frente a Fusarium sp. bajo condiciones de invernadero en plantas de tomillo (Thymus vulgaris L.)*. Colombia: <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/download/193/385/>.

42. Pardo, Ó. F. (2014). *Extraction and identification of pepper (Capsicum annuum) farming associate microorganisms at La Mesa (Cundinamarca)*. Revista Sennova: <https://revistas.sena.edu.co/index.php/sennova/article/download/90/102/201>.
43. Paula Guzmá Guzmán, M. D.-T. (2019). *Trichoderma Species: Versatile Plant Symbionts*. Phytopathology Review: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHYTO-07-18-0218-RVW>.
44. Pérez, V. (2019). *Fusarium wilt of banana: Agro-environmental factors and environment impact of different control strategies*. . Frontiers in Plant Science.
45. *Perfect Daily Grind*. (25 de enero de 2019). Obtenido de Perfect Daily Grind: <https://perfectdailygrind.com/es/2019/01/25/guia-de-plagas-y-enfermedades-comunes-del-café/>
46. Ramiro Daniel Acurio Vásconez, C. K. (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: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>.
47. Renata Tyśkiewicz, A. N.-Ś. (2022). *Trichoderma: The Current Status of Its Application in Agriculture for the Biocontrol of Fungal Phytopathogens and Stimulation of Plant Growth*. International Journal of Molecular Sciences: 10.3390/ijms23042329.
48. Renganathan Seenivasagan, O. O. (2021). *Utilization of Microbial Consortia as Biofertilizers and Biopesticides for the Production of Feasible Agricultural Product*. Biology: 10.3390/biology10111111.
49. Revilla-Medina, R., Vuelta-Lorenzo, D. R., & Guerrero-Barriel, D. (2020). *Efecto in vitro de extractos vegetales y Trichoderma Harzanium en el control de Fusarium Oxysporum aislado de vivero de café (Coffea arábica)* . Ciencia en su PC: <https://www.redalyc.org/journal/1813/181363909004/>.
50. Ribeyre, F., & Avelino, J. (2012). *Impact of field pests and diseases on coffee quality*. [https://www.researchgate.net/publication/259574741\\_Impact\\_of\\_field\\_pests\\_and\\_diseases\\_on\\_coffee\\_quality](https://www.researchgate.net/publication/259574741_Impact_of_field_pests_and_diseases_on_coffee_quality).
51. Sanjuán, K. H., Rivera-Coto, G., Villalobos-Moya, K., Orozco-Rodríguez, R., & Orozco-Cayasso, S. (2017). *Pruebas in vitro de hongos antagonistas para combatir la roya de mora en Costa Rica*. Agronomía Costarricense: <https://doi.org/10.15517/rac.v41i1.29746>.
52. Selvi Permandy Kandasamy, K. S. (2010). *Environmental Biotechnology - a sustainable tool for efficient control and prevention of pollution*. Studies on Pollution Mitigation :

- [https://www.researchgate.net/publication/257923039\\_Environmental\\_Biotechnology\\_-\\_a\\_sustainable\\_tool\\_for\\_efficient\\_control\\_and\\_prevention\\_of\\_pollution](https://www.researchgate.net/publication/257923039_Environmental_Biotechnology_-_a_sustainable_tool_for_efficient_control_and_prevention_of_pollution).
53. Sharifah Farhana Syed Ab Rahman, E. S. (2018). *Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens*. Elsevier: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.11.012>.
  54. Unidas, N. (2015). *FAO trabaja para eliminar plagas y enfermedades de las plantas*. <https://news.un.org/es/story/2015/03/1325631?formCode=MG0AV3>.
  55. Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I., & Santos-Villalobos, S. d. (2018). *El género Bacillus como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola*. México: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092018000100095](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092018000100095).
  56. Wilcox, R. (2012). *Introduction to Robust Estimation and Hypothesis Testing*. Elsevier: [https://amarinoo.ir/wp-content/uploads/2023/11/Introduction\\_to\\_Robust\\_Estimation\\_and\\_Hypothesis\\_Testing\\_by\\_Rand-1.pdf](https://amarinoo.ir/wp-content/uploads/2023/11/Introduction_to_Robust_Estimation_and_Hypothesis_Testing_by_Rand-1.pdf).
  57. William H. Kruskal, W. A. (1952). *Use of Ranks in One Criterion Variance Analysis*. Journal of the American Statistical Association: <http://dx.doi.org/10.1080/01621459.1952.10483441>.
  58. Xin Yao, H. G. (2023). *Trichoderma and its role in biological control of plant fungal and nematode disease*. *Frontiers in Microbiology*: 0.3389/fmicb.2023.1160551.
  59. Yara. (2024). Obtenido de Yara: <https://www.yara.com.gt/nutricion-vegetal/cafe/requerimientos-de-suelo-y-agua/>
  60. Youssef, A. S. (2021). *Modern trends for the application of biological control and modern technologies in agricultural projects*. *International Journal of Modern Agriculture and Environment*: [https://journals.ekb.eg/article\\_304099\\_dbbbc3957d1a255ddcd62ee6029daa1b.pdf](https://journals.ekb.eg/article_304099_dbbbc3957d1a255ddcd62ee6029daa1b.pdf).

## XII. ANEXOS

### A. CÁLCULO DE MUESTRA

#### - Cálculo 1. Porcentaje de inhibición

$$PICR = \frac{R1 - R2}{R1} * 100 = \frac{80.12 - 8.04}{80.12} * 100\% = 89.96\%$$

Donde

R1 = área de patógeno testigo (radio mayor)

R2 = área de patógeno de enfrentamiento (radio menor)

Este cálculo fue realizado para calcular el porcentaje de inhibición de las ocho cepas aisladas de la trampa 11. Este cálculo se realizó en triplicado por cada cepa obtenida utilizando la ecuación 1 que se encuentra en el apartado de metodología.

#### - Cálculo 2. Kuskal – Wallis

$$H = \frac{12}{n(n+1)} \sum \frac{R_i^2}{n_i} - 3(n+1)$$

$$H = \frac{12}{24(24+1)} \sum_1^8 \frac{300}{3} - 3(24+1) = 10.65$$

Donde

n = número total de datos

R = rango promedio de muestras

n<sub>i</sub> = número de observaciones del grupo i

#### - Cálculo 3. Prueba de Dunn

$$z = \frac{R_1 - R_2}{\sqrt{\left(\frac{N(N+1)}{12}\right) \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}}$$

$$z = \frac{23 - 36.50}{\sqrt{\left(\frac{24(24+1)}{12}\right) \left(\frac{1}{3} + \frac{1}{3}\right)}} = -2.34$$

Donde

R<sub>1</sub> = suma de rangos de primer grupo en comparación

$R_2$  = suma de rangos de segundo grupo en comparación  
 $N$  = número total de observaciones  
 $n_1$  = tamaño de muestra de primero grupo en comparación  
 $n_2$  = tamaño de muestra de segundo grupo en comparación

## B. DATOS DE PLACA

**Cuadro 6.** Datos técnicos de incubadora de laboratorio

Parámetro	Especificación
Marca	Quincy
Rango de temperatura (°C)	3-93
Dimensiones externas mm	305x254x254
Voltaje (V)	

**Cuadro 7.** Datos técnicos de autoclave de laboratorio

Parámetro	Especificación
Marca	Kalstein
Modelo	YR05635
Temperatura de esterilización (°C)	134
Volumen (L)	150
Voltaje (V)	220

## C. DATOS ORIGINALES

**Cuadro 8.** Diámetros obtenidos en hongo antagonista y hongo patógeno

Cepa	<i>Fusarium sp.</i>			<i>Trichoderma sp.</i>		
	Diámetro 1 (cm)	Diámetro 2 (cm)	Promedio	Diámetro 1 (cm)	Diámetro 2 (cm)	Promedio
1.1	2.00	1.20	1.60	5.60	4.50	5.05
1.2	1.20	1.40	1.30	6.00	4.50	5.25
1.3	1.50	2.00	1.75	6.50	4.50	5.50
2.1	1.50	2.00	1.75	6.60	4.50	5.55
2.2	1.50	1.10	1.30	5.00	4.50	4.75
2.3	1.40	1.20	1.30	6.20	4.50	5.35
3.1	1.30	1.00	1.15	6.60	4.50	5.55
3.2	1.40	1.50	1.45	5.80	4.50	5.15
3.3	1.30	1.00	1.15	5.60	4.50	5.05
4.1	1.60	1.30	1.45	6.00	4.50	5.25
4.2	1.70	1.60	1.65	5.90	4.50	5.20
4.3	1.50	1.60	1.55	5.70	4.50	5.10
5.1	1.40	1.10	1.25	6.40	4.50	5.45
5.2	1.30	1.50	1.40	5.80	4.50	5.15
5.3	1.40	1.20	1.30	6.20	4.50	5.35

Cepa	<i>Fusarium sp.</i>			<i>Trichoderma sp.</i>		
	Diámetro 1 (cm)	Diámetro 2 (cm)	Promedio	Diámetro 1 (cm)	Diámetro 2 (cm)	Promedio
6.1	1.80	1.60	1.70	6.30	4.50	5.40
6.2	1.60	1.30	1.45	5.80	4.50	5.15
6.3	1.90	1.50	1.70	6.10	4.50	5.30
7.1	1.50	1.40	1.45	6.40	4.50	5.45
7.3	1.40	1.10	1.25	6.50	4.50	5.50
8.1	1.60	1.40	1.50	6.10	4.50	5.30
8.2	1.40	1.30	1.35	5.90	4.50	5.20
8.3	1.20	1.30	1.25	5.80	4.50	5.15

El cuadro anterior muestra los diámetros obtenidos en las pruebas de inhibición que se realizaron entre *Trichoderma sp* y *Fusarium sp*. Los valores están dados en centímetros cuadrados. Se realizó en triplicado por cada cepa identificada. Para tomar las mediciones se dejó en incubación las muestras durante ocho días para que el hongo se desarrollada adecuadamente.

## D. DATOS CALCULADOS

**Cuadro 9.** Áreas obtenidas para el hongo patógeno de cada cepa aislada

Cepa	<i>Fusarium sp</i>			
	Diámetro 1 (cm)	Diámetro 2 (cm)	Promedio	área (cm)2
1.1	2	1.2	1.6	8.04
1.2	1.2	1.4	1.3	5.31
1.3	1.5	2	1.75	9.62
2.1	1.5	2	1.75	9.62
2.2	1.5	1.1	1.3	5.31
2.3	1.4	1.2	1.3	5.31
3.1	1.3	1	1.15	4.15
3.2	1.4	1.5	1.45	6.61
3.3	1.3	1	1.15	4.15
4.1	1.6	1.3	1.45	6.61
4.2	1.7	1.6	1.65	8.55
4.3	1.5	1.6	1.55	7.55
5.1	1.4	1.1	1.25	4.91
5.2	1.3	1.5	1.4	6.16
5.3	1.4	1.2	1.3	5.31
6.1	1.8	1.6	1.7	9.08
6.2	1.6	1.3	1.45	6.61
6.3	1.9	1.5	1.7	9.08
7.1	1.5	1.4	1.45	6.61
7.2	1.7	1.6	1.65	8.55
7.3	1.4	1.1	1.25	4.91
8.1	1.6	1.4	1.5	7.07
8.2	1.4	1.3	1.35	5.73
8.3	1.2	1.3	1.25	4.91

El cuadro anterior muestra las áreas obtenidas para el hongo patógeno *Fusarium sp*. cada área se obtuvo en triplicado para cada cepa aislada. Los cálculos están dados en centímetros cuadrados.

**Cuadro 10.** Áreas obtenidas para el hongo antagonista de cada cepa aislada

Cepa	<i>Trichoderma sp</i>			
	Diámetro 1 (cm)	Diámetro 2 (cm)	Promedio	área (cm)2
1.1	5.6	4.5	5.05	80.12
1.2	6	4.5	5.25	86.59
1.3	6.5	4.5	5.5	95.03
2.1	6.6	4.5	5.55	96.77
2.2	5	4.5	4.75	70.88
2.3	6.2	4.5	5.35	89.92
3.1	6.6	4.5	5.55	96.77
3.2	5.8	4.5	5.15	83.32
3.3	5.6	4.5	5.05	80.12
4.1	6	4.5	5.25	86.59
4.2	5.9	4.5	5.2	84.95
4.3	5.7	4.5	5.1	81.71
5.1	6.4	4.5	5.45	93.31
5.2	5.8	4.5	5.15	83.32
5.3	6.2	4.5	5.35	89.92
6.1	6.3	4.5	5.4	91.61
6.2	5.8	4.5	5.15	83.32
6.3	6.1	4.5	5.3	88.25
7.1	6.4	4.5	5.45	93.31
7.2	6.8	4.5	5.65	100.29
7.3	6.5	4.5	5.5	95.03
8.1	6.1	4.5	5.3	88.25
8.2	5.9	4.5	5.2	84.95
8.3	5.8	4.5	5.15	83.32

El cuadro anterior muestra las áreas obtenidas para el hongo antagonista *Trichoderma sp.* cada área se obtuvo en triplicado para cada cepa aislada. Los cálculos están dados en centímetros cuadrados.

## E. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Figura 13. Prueba de Dunn

Col Mean- Row Mean	1	2	3	4	5	6
2	-0.779762 0.2178					
3	-1.934965 0.0265	-1.155203 0.1240				
4	0.057760 0.4770	0.837522 0.2011	1.992725 <u>0.0231</u>			
5	-1.761684 0.0391	-0.981922 0.1631	0.173280 0.4312	-1.819445 0.0344		
6	0.317681 0.3754	1.097443 0.1362	2.252646 <u>0.0121</u>	0.259921 0.3975	2.079365 <u>0.0188</u>	
7	-1.328483 0.0920	-0.548721 0.2916	0.606482 0.2721	-1.386243 0.0828	0.433201 0.3324	-1.646164 0.0499
8	-1.270723 0.1019	-0.490961 0.3117	0.664242 0.2533	-1.328483 0.0920	0.490961 0.3117	-1.588404 0.0561
Col Mean- Row Mean	7					

## F. FOTOGRAFÍAS

Trampas artesanales de arroz

Figura 14. Trampa artesanal de arroz



**Figura 15.** Pesado de arroz para trampa artesanal



**Figura 16.** Trampas artesanales de arroz finalizadas



## IMÁGENES DE CAMPO

Lugares donde se ubicaron trampas de arroz

**Figura 17.** Finca Santa Rita, lote La Platanera



**Figura 18.** Finca Santa Rita, lote La Aldea



**Figura 19.** Finca Santa Rita, lote El puente



**Figura 20.** Finca Santa Rita, lote Los Guajes



**Figura 21.** Finca Santa Rita, lote Cafetales



**Figura 22.** Finca Santa Rita, lote El Cauce



## Trampas de arroz enterradas

**Figura 23.** Trampa 4 enterrada en lote La Platanera



**Figura 24.** Trampa 5 enterrada en lote El Puente



**Figura 25.** Trampa 12 enterrada en lote Beneficio de Pulpa



**Figura 26.** Trampa 8 enterrada en lote Los Guajes



**Figura 27.** Trampa 10 enterrada al lado de los Guajes



**Figura 28.** Trampa 11 enterrada en lote El Pinar



## Trampas colonizadas

**Figura 29.** Trampa artesanal de arroz 7 colonizada por un coctel de hongos de suelo



**Figura 30.** Trampa artesanal de arroz 9 colonizada por un coctel de hongos de suelo



**Figura 31.** Trampa artesanal de arroz 10 colonizada por un coctel de hongos de suelo



**Figura 32.** Trampa artesanal de arroz 11 colonizada por un coctel de hongos de suelo



**Figura 33.** Trampa artesanal de arroz 6 colonizada por un coctel de hongos de suelo



**Figura 34.** Trampa artesanal de arroz 4 colonizada por un coctel de hongos de suelo



**Figura 35.** Trampa artesanal de arroz 12 colonizada por un coctel de hongos de suelo



**Figura 36.** Trampa artesanal de arroz 1 colonizada por un coctel de hongos de suelo



**Figura 37.** Trampa artesanal de arroz 3 colonizada por un coctel de hongos de suelo



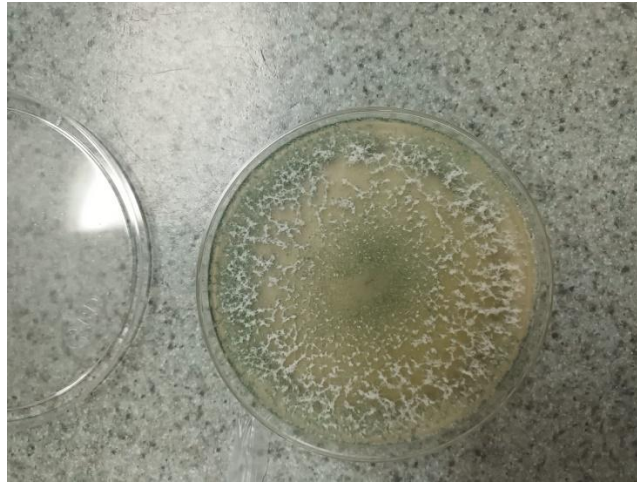
**Figura 38.** Trampa artesanal de arroz 5 colonizada por un coctel de hongos de suelo



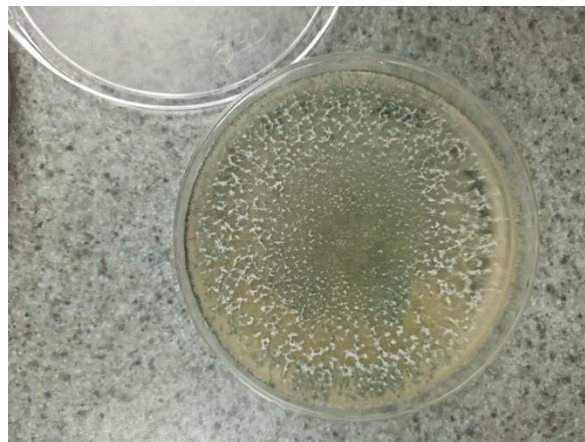
## IMÁGENES DE LABORATORIO

### Imágenes de aislamiento

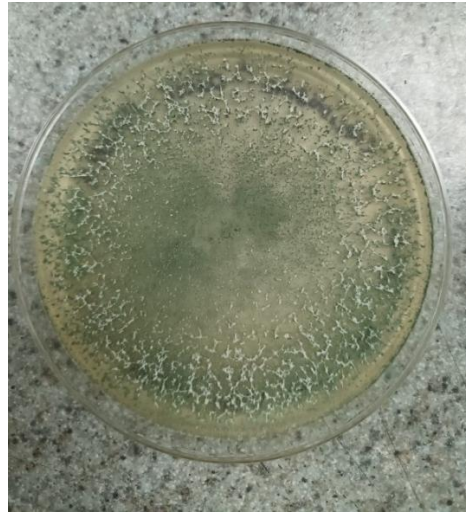
**Figura 39.** Aislamiento de *Trichoderma sp.* de trampa 11, cepa DMAC 1



**Figura 40.** Aislamiento de *Trichoderma sp.* de trampa 11, cepa DMAC 2



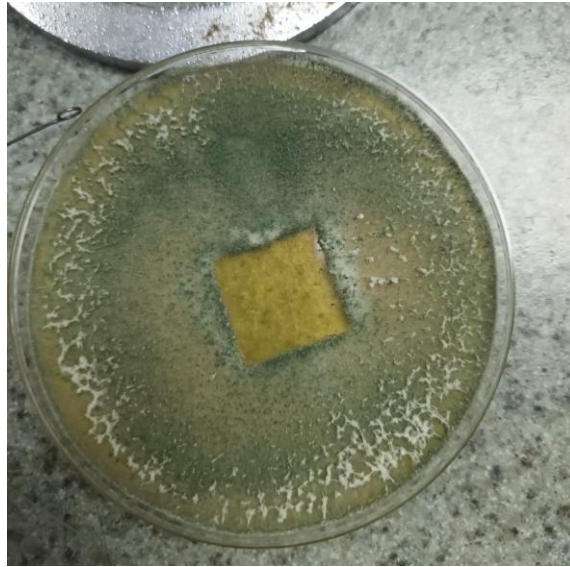
**Figura 41.** Aislamiento de *Trichoderma sp.* de trampa 11, cepa DMAC 3



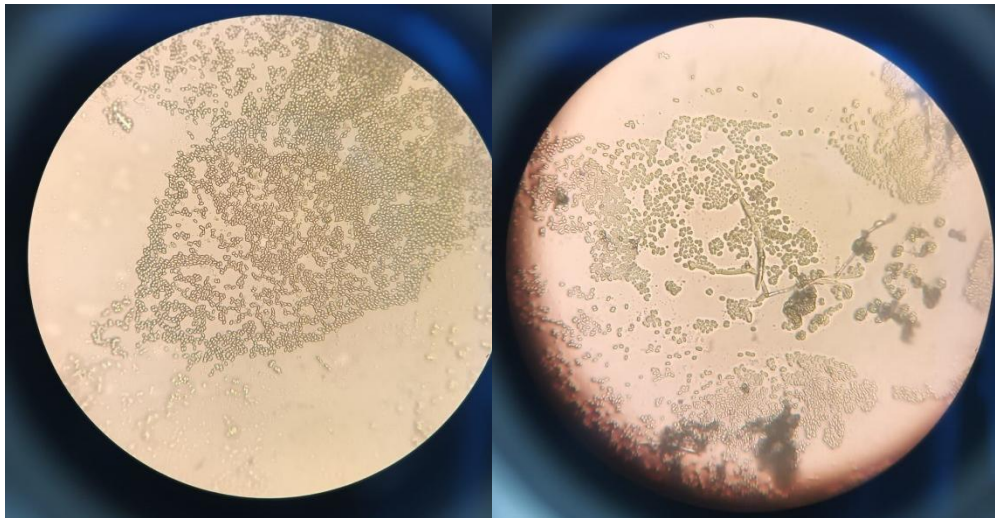
**Figura 42.** Aislamiento de *Trichoderma sp.* de trampa 11, cepa DMAC 4



**Figura 43.** Aislamiento de *Trichoderma sp.* de trampa 11, cepa DMAC 5



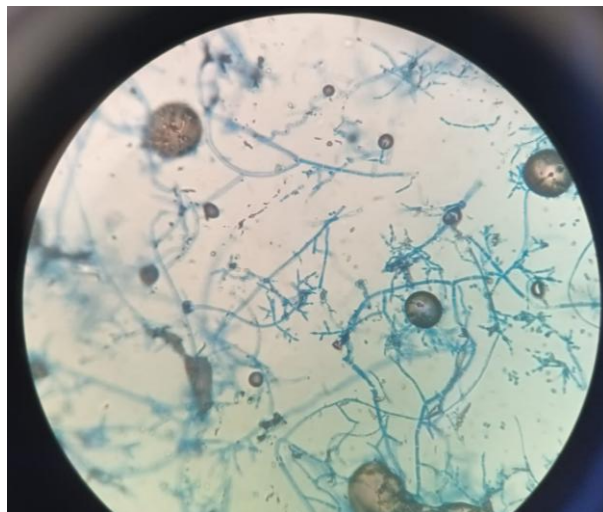
**Figura 44.** Identificación de esporas y estructura morfológica de cepa DMAC 1 de *Trichoderma sp.* vista en aumento 40x



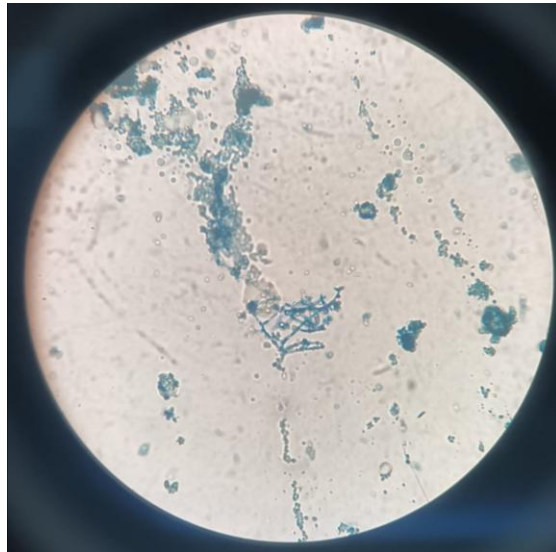
**Figura 45.** Identificación de esporas y estructura morfológica de cepa DMAC 2 de *Trichoderma sp.* vista con lactofenol azul en aumento 40x



**Figura 46.** Identificación de esporas y estructura morfológica de cepa DMAC 4 de *Trichoderma sp.* vista con lactofenol azul en aumento 40x

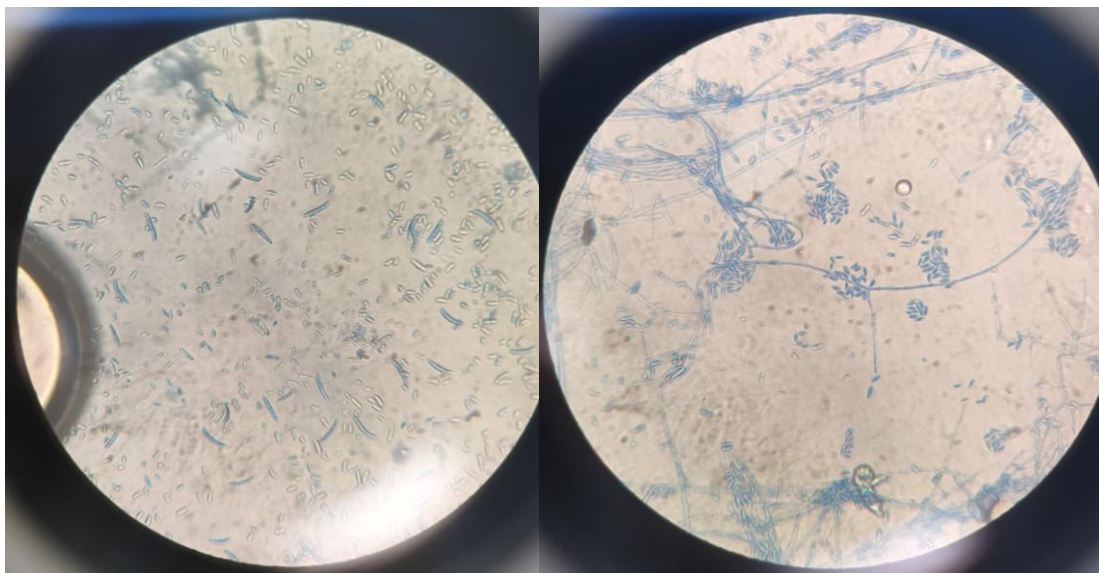


**Figura 47.** Identificación de esporas y estructura morfológica de cepa DMAC 4 de *Trichoderma sp.* vista con lactofenol azul en aumento 40x



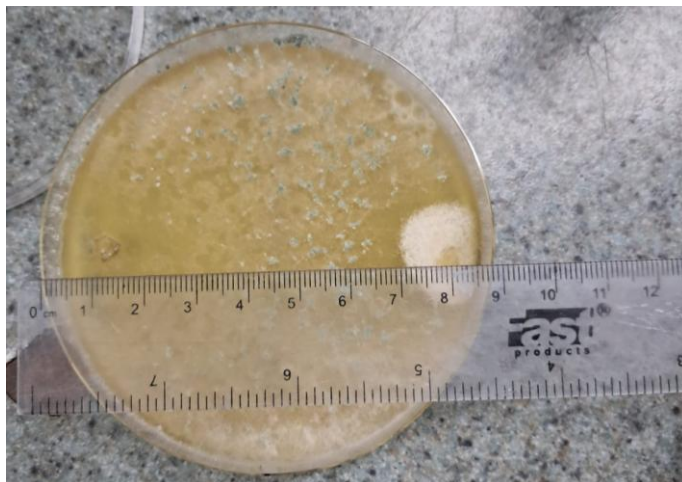
#### **FUSARIUM SP.**

**Figura 48.** Identificación de esporas y estructura morfológica de cepa de *Fusarium sp.* vista con lactofenol azul en aumento 40x



## Pruebas de antagonismo

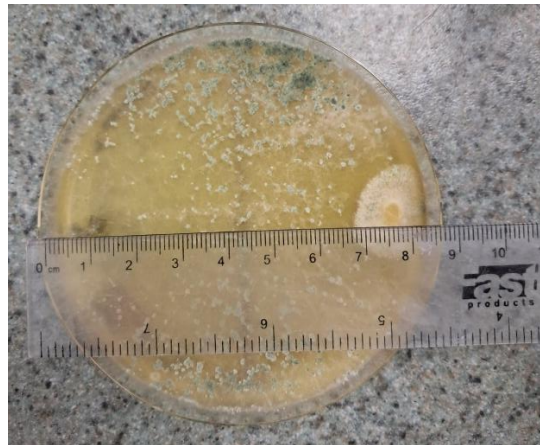
**Figura 49.** Prueba de antagonismo dual entre cepa DMAC 2.3 de *Trichoderma sp.* y *Fusarium sp.* después de 8 días de incubación



**Figura 50.** Prueba de antagonismo dual entre cepa DMAC 6 de *Trichoderma sp.* y *Fusarium sp.* después de 8 días de incubación



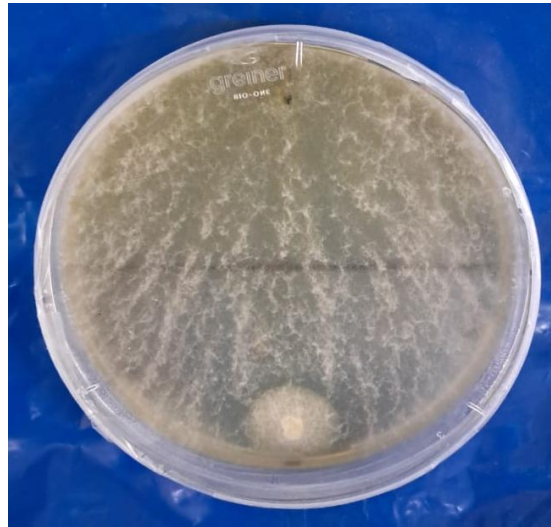
**Figura 51.** Prueba de antagonismo dual entre cepa DMAC 7 de *Trichoderma sp.* y *Fusarium sp.* después de 8 días de incubación



**Figura 52.** Prueba de antagonismo dual entre cepa DMAC 8 de *Trichoderma sp.* y *Fusarium sp.* después de 8 días de incubación



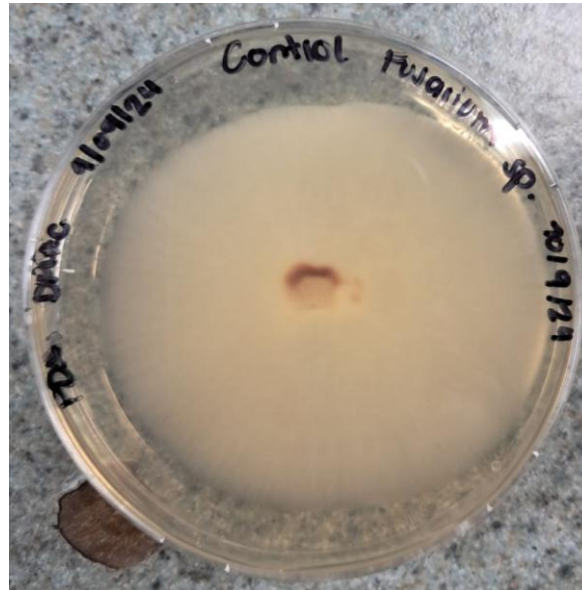
**Figura 53.** Prueba de antagonismo dual entre cepa DMAC 8 de *Trichoderma sp.* y *Fusarium sp.* después de 4 días de incubación



**Figura 54.** Cepa control de *Trichoderma sp.* para prueba de antagonismo dual después de 5 días en incubación



**Figura 55.** Cepa control de *Fusarium sp.* para prueba de antagosismo dual después de 5 días de incubación



### **XIII. GLOSARIO**

**Antagonismo:** Relación en la cual un organismo inhibe el crecimiento o desarrollo de otro.

**Bio-controlador:** Organismo o agente biológico que se utiliza para controlar plagas o enfermedades en plantas, reduciendo la necesidad de productos químicos.

**Cepas:** Diferentes variantes de una especie de microorganismo.

**Colonización:** Proceso por el cual un microorganismo establece y expande su presencia en un determinado entorno, como el suelo.

**Esporas:** Células reproductoras de hongos que permiten su dispersión y supervivencia en condiciones adversas.

**Fermentación:** Proceso metabólico utilizado para cultivar microorganismos en biorreactores, utilizado en la producción industrial de cepas.

**Fungicida:** Sustancia o agente químico utilizado para eliminar o inhibir el crecimiento de hongos patógenos en plantas.

**Inhibición:** Proceso mediante el cual un organismo, sustancia o condición impide o reduce el crecimiento de otro.

**Microencapsulación:** Técnica utilizada para proteger y encapsular sustancias en pequeñas cápsulas, lo que prolonga su vida útil y permite una liberación controlada.

**Patógeno:** Organismo, generalmente microbiano, que causa enfermedades en otros organismos.

**Sostenibilidad agrícola:** Prácticas agrícolas que se centran en la conservación de los recursos naturales, reduciendo el impacto ambiental y promoviendo la biodiversidad.

**Sustrato:** Material sobre el cual crecen y se desarrollan organismos.