



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

COMPLEJO REGIONAL CENTRO

UNIDAD TECAMACHALCO

“IDENTIFICACIÓN Y ACTIVIDAD ANTAGÓNICA *in vitro* DE AISLADOS NATIVOS DE *Trichoderma* spp. DE SUELOS DEL VALLE DE PUEBLA CONTRA HONGO FITOPATÓGENO”

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

PRESENTA

NAYELY ATENCO VARGAS

DIRECTOR DE TESIS:

DR. HÉCTOR BERNAL MENDOZA

ASESORES:

M.C. ADRIANA SÁNCHEZ ESPÍNDOLA

M.C. ARMANDO MAGDALENO TORRES CHOCOLATL

Junio 2025

El siguiente trabajo de investigación titulado “**Identificación y actividad antagónica *in vitro* de aislados nativos de *trichoderma* spp. de suelos del Valle de Puebla contra hongo fitopatógeno**” fue realizado en el laboratorio de microbiología del colegio de Ingeniería Agroindustrial, perteneciente al Complejo Regional Centro con sede Tecamachalco de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por la estudiante C. Nayely Atenco Vargas bajo la dirección del Dr. Héctor Bernal Mendoza y el asesoramiento de la M.C. Adriana Sánchez Espíndola, el M.C. Armando Magdaleno Torres Chocolatl, la M.C. Diana Fernanda Espinoza Castillo y el Dr. Noel Reyes Pérez.

*"Sólo cuando se haya cortado
el último árbol, se haya pescado el último pez
y se haya envenenado el último arroyo,
nos daremos cuenta de que no podemos comer el dinero."*

— Proverbio Cree

AGRADECIMIENTOS

A mis padres **Antonio Atenco Galindo** y **Concepción Vargas Sánchez**, por su amor incondicional, por motivarme constantemente y brindarme el entorno social necesario para estudiar una carrera universitaria lejos de casa. Ningún esfuerzo de mi parte será suficiente para agradecerles la extraordinaria vida que me han dado. A mi hermana, **Amellali Atenco Vargas**, mi mejor amiga y compañera de aventuras. Gracias por tu constante apoyo, por guiarme con cariño y sabiduría.

Los amo profundamente.

A **Luis Ignacio Acata Piña**, mi persona favorita, gracias por acompañarme en este proceso, por escucharme y apoyarme incondicionalmente.

Al **Dr. Héctor Bernal Mendoza**, por brindarme la oportunidad de integrarme al proyecto PONAI 321310, por su orientación, sus conocimientos y, sobre todo, por confiar en mí y en nuestro trabajo.

A la **M.C. Diana Fernanda Espinoza Castillo**, maestra y amiga, gracias por compartir tus conocimientos y enseñanzas, por enseñarme a disfrutar del proceso, por tu respaldo constante, por los consejos y las sonrisas.

A mis docentes y comité de tesis, la **M.C. Adriana Sánchez Espíndola**, el **Dr. Noel Reyes Pérez** y el **Dr. Armando M. Torres Chocolatl**, les agradezco profundamente su acompañamiento, su tiempo y dedicación en el desarrollo de esta investigación.

A **Ina Vanooteghem** y **Manuel Palma**, fundadores de Casita de Barro, un lugar hermoso que inspira, ejemplo de rebeldía y resiliencia. Gracias por integrarme a la comunidad de San Jerónimo Tecuanipan y hacer posible este trabajo.

A los productores de Canoa, y en especial a **Don Gonzalo Comisario**, su apoyo, generosidad y disposición han sido invaluable para este proyecto.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	10
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
2. JUSTIFICACIÓN.....	12
3. OBJETIVOS	15
3.1. OBJETIVO GENERAL	15
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
4. HIPOTESIS	15
5. MARCO TEÓRICO.....	16
5.1. Agricultura sostenible	16
5.1.1. Bioinsumos	16
5.2. Cultivo de maíz (<i>Zea mays</i>).....	17
5.2.1. Origen.....	18
5.2.2. Descripción botánica.....	18
5.2.3. Clasificación taxonómica	19
5.2.4. Producción en el municipio de San Jerónimo Tecuanipan	19
5.3. Principales patógenos que afectan al cultivo de maíz.....	19
5.3.1. Bacterias.....	20
5.3.2. Virus	20
5.3.3. Hongos	21
5.4. <i>Fusarium</i> spp.....	21
5.4.2. Clasificación taxonómica	22
5.4.3. Morfología.....	22

5.4.4. Ciclo de enfermedad.....	24
5.4.5. Síntomas en maíz causado por <i>Fusarium</i> spp.....	25
5.4.6. Métodos de control de <i>Fusarium</i> spp.....	25
5.4.6.1. Control cultural	25
5.4.6.2. Control biológico	26
5.5. <i>Trichoderma</i> spp.....	26
5.5.1. Generalidades	26
5.5.2. Clasificación taxonómica	27
5.5.3. Morfología.....	27
5.5.4. Mecanismos de acción.....	27
5.5.4.1. Competencia	28
5.5.4.2. Antibiosis.....	28
5.5.4.3. Micoparasitismo.....	28
6. METODOLOGÍA	30
6.1. Área de estudio	31
6.2. Colecta de muestras de suelo.....	32
6.3. Obtención y purificación de cepas de <i>Trichoderma</i> spp. de suelos	32
6.4. Aislamiento y purificación de aislados de <i>Fusarium</i> spp. provenientes de tejidos de maíz.....	33
6.5. Identificación y caracterización morfológica de <i>Trichoderma</i> spp.....	34
6.6. Identificación y caracterización morfológica de <i>Fusarium</i> spp.....	35
6.7. Evaluación del efecto inhibitorio entre cepas nativas de <i>Trichoderma</i> spp.	35

7. RESULTADOS	38
7.1. Identificación morfológica de <i>Trichoderma</i> spp.....	38
7.2. Identificación de <i>Fusarium</i> spp.....	47
7.3. Evaluación del efecto antagónico de <i>Trichoderma</i> spp. sobre <i>Fusarium</i> spp.....	49
8. DISCUSIÓN	57
9. CONCLUSIÓN	59
10. RECOMENDACIONES	59
11. BIBLIOGRAFÍA	60
12. ANEXOS	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de maíz.	17
Figura 2. Colonias típicas y macroconidias de aislados de <i>Fusarium</i>	23
Figura 3. Morfología de conidios de <i>Fusarium</i> . (Barnett & Hunter B, 1972).....	23
Figura 4. Ciclo de enfermedad de <i>Fusarium</i>	24
Figura 5. Morfología del genero <i>Trichoderma</i> (Barnett & Hunter B, 1972).....	27
Figura 6. Diagrama de metodología.....	30
Figura 7. Ubicación geográfica de predios muestreados en la junta auxiliar San Miguel Canoa.	31
Figura 8 Ubicación geográfica de predios muestreados en el municipio de San Jerónimo Tecuanipan.	31
Figura 9. Ubicación Geográfica del Tec 4.....	32
Figura 10. Cultivos monospóricos de <i>Trichoderma</i> spp.	39
Figura 11. Cultivos monospóricos de <i>Trichoderma</i> spp.....	40
Figura 12, Cultivos monospóricos de <i>Trichoderma</i> spp.	41
Figura 13. Morfología colonial de <i>Trichoderma</i> spp.....	45

Figura 14. Morfología microscópica de <i>Trichoderma</i> spp.	46
Figura 15. Muestras de maíz con aparente daño por <i>Fusarium</i> spp.....	47
Figura 16. Morfología colonial y microscópica de <i>Fusarium</i> spp.....	48
Figura 17. Antagonismo <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma</i> spp. contra cepa P1 de <i>Fusarium</i> spp.....	51
Figura 18. Antagonismo <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma</i> spp. contra cepa P3 de <i>Fusarium</i> spp.....	52
Figura 19. Antagonismo <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma</i> spp. contra cepa P2 de <i>Fusarium</i> spp.....	52
Figura 20. Microscopía de micoparasitismo en cultivos duales.	56

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1 Ubicación taxonómica de <i>Zea mays</i>	19
Cuadro 2 Ubicación taxonómica de <i>Fusarium</i> (NCBI, 2023).....	22
Cuadro 3. Ubicación taxonómica de <i>Trichoderma</i> (NCBI, 2023).	27
Cuadro 4. Eficiencia de micoparasitismo contra <i>Trichoderma</i> spp.....	36
Cuadro 5. Lugar de procedencia y datos de muestras de las cepas nativas aisladas.	42
Cuadro 6. Características morfológicas de aislados nativos.	45
Cuadro 7. Comparación de características morfológicas de aislados de <i>Fusarium</i> spp.....	47
Cuadro 8. Antagonismo <i>in vitro</i> de 27 cepas nativas de <i>Trichoderma</i> spp. contra P1 de <i>Fusarium</i> spp.	53
Cuadro 9. Antagonismo <i>in vitro</i> de 27 cepas nativas de <i>Trichoderma</i> spp. contra P2 de <i>Fusarium</i> spp.	54
Cuadro 10. Antagonismo <i>in vitro</i> de 27 cepas nativas de <i>Trichoderma</i> spp. contra P3 de <i>Fusarium</i> spp.	55

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Velocidad de crecimiento de aislados nativos.	44
---	----

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo aislar e identificar morfológicamente cepas nativas de *Trichoderma* provenientes de suelos agrícolas del municipio de San Jerónimo Tecuanipan y la junta auxiliar de San Miguel Canoa, Puebla, evaluando su actividad antagonista *in vitro* contra cepas fitopatógenas del género *Fusarium* aisladas de tejidos infectados de maíz. Se realizaron 13 muestreos de suelo, a partir de los cuales se obtuvieron 44 cepas de *Trichoderma* spp., y se identificaron tres cepas patógenas de *Fusarium* spp. (P1, P2 y P3).

Las cepas fueron caracterizadas morfológicamente mediante observación microscópica y evaluadas en pruebas de confrontación directa en medio de cultivo PDAA. Se utilizó un diseño completamente al azar con 28 tratamientos (27 cepas nativas más una comercial) y cuatro repeticiones por tratamiento. La actividad antagonista se midió como porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) del patógeno. El análisis de varianza (ANOVA) mostró diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre tratamientos en las tres cepas de *Fusarium*. La prueba Tukey y Scheffé permitió identificar cepas estadísticamente superiores o equivalentes a la cepa comercial.

Destacaron las cepas TJO 2.2, TH1, TP1 1.1, TP1 1.2 y TR2 3.2, con porcentajes de inhibición de hasta 100%, confirmando la hipótesis de que algunas cepas nativas poseen igual o mayor capacidad antagonista que productos comerciales. Estos resultados evidencian el potencial de los aislados locales como agentes de control biológico contra *Fusarium* spp., lo que representa una alternativa ecológica y económicamente viable para el manejo de enfermedades en cultivos agrícolas.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El creciente aumento de la población mundial ha generado una demanda cada vez mayor de cultivos agrícolas. Se prevé que para 2050 la demanda de alimentos crecerá en un 60% (PNUMA, 2022). La intensificación de la producción agrícola a su vez genera mayor demanda de plaguicidas y fertilizantes. En 2016 se utilizaron en todo el mundo unos 4.1 millones de toneladas de ingredientes activos de plaguicidas, el doble del volumen utilizado en 1990 (PNUMA, 2022).

La agricultura moderna se ha vuelto dependiente del uso de plaguicidas químicos para el control de plagas, induciendo su resistencia, cambios en la diversidad microbiana edáfica y contaminación ambiental (Hernández, Ferrera, & Alarcón, 2019). Así mismo el uso frecuente de fertilizantes inorgánicos y su almacenamiento provocan casi el 40% de las emisiones de GEI procedentes de la agricultura (PNUMA, 2022).

De acuerdo con el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente los plaguicidas pueden ser altamente peligrosos, cada año se producen unos 385 millones de casos de envenenamiento involuntario y no mortal por plaguicidas, y aproximadamente 11.000 muertes (PNUMA, 2022), siendo los trabajadores agrícolas las principales víctimas al realizar la aplicación de estos productos químicos (Nava, García, Camacho, & Elva, 2012). Durante 2021, en México se reportaron 2112 casos de intoxicación por plaguicidas, de los cuales 75 casos sucedieron en el estado de Puebla (SEMARNAT, 2023) posicionándolo en el décimo primer estado con mayor número de casos.

El control químico es el método más utilizado, con resultados eficientes, sin embargo, estas sustancias peligrosas no son absorbidas por las plantas, si no que se acumulan en aguas subterráneas y afectan negativamente al suelo. Por lo que es vital cambiar el enfoque hacia la producción de métodos seguros y respetuosos con el ambiente para la producción de cultivos sostenibles (Allouzi, Allouzi, Keng, Supramaniam, & Singh, 2022).

2. JUSTIFICACIÓN

Las plagas agrícolas son un factor negativo e importante en el rendimiento de cultivos agrícolas, pues éste se ve afectado entre un 20 y 30% de la producción total (Nava, García, Camacho, & Elva, 2012), por lo que los agroquímicos resultan ser necesarios y la principal alternativa disponible.

La llamada Revolución Verde que se inicia hacia los años 40's, tuvo como consecuencia el gran aumento de la producción agrícola mundial, debido principalmente a la intensificación de las áreas cultivadas y el uso masivo de fertilizantes y plaguicidas sintéticos. Sin embargo, este avance trajo consigo consecuencias negativas, como la disminución de la biodiversidad, la aparición de plagas resistentes, desequilibrios en los agroecosistemas y efectos perjudiciales en el ambiente (Mamani de Marchese & Filippone, 2018). Aunado a la situación, la necesidad por desarrollar nuevas estrategias para el control de plagas agrícolas que reduzcan el impacto ambiental y los riesgos que conlleva a la inocuidad de los alimentos ha tomado mayor auge conforme al paso de los años, dando paso a alternativas sostenibles y socioeconómicamente más razonables.

La Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible marca políticas nacionales e internacionales que tratan de gestionar diferentes consecuencias ambientales y sociales (González, 2021), donde se encuentran algunas de las ya mencionadas y nos deja en claro que la industria agrícola debe pasar por una transformación hacia una agricultura regenerativa que resulta fundamental para alcanzar los Objetivos de Desarrollo Sostenible y garantizar que las generaciones futuras puedan disfrutar de alimentos seguros y abundantes.

La agroecología ha ganado cada vez más reconocimiento científico y político por su potencial para abordar problemas ambientales y sociales dentro de la producción de alimentos (Bezner, y otros, 2021). Una de las tácticas para el control de plagas agrícolas es el control biológico, que ha despertado gran interés en detener los patógenos de plantas y es una respuesta al creciente uso de plaguicidas químicos (Suárez, 2008). (Michel-Aceves *et al.*, 2009) menciona que el control biológico implica el uso de enemigos naturales para la regulación de poblaciones de plagas.

Estos enemigos incluyen bacterias, depredadores, parasitoides protozoarios, virus, nematodos y hongos.

En México la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural ha trabajado por impulsar un campo fuerte que permita alcanzar la seguridad alimentaria con soberanía, precisando la disponibilidad, la inocuidad y el acceso económico a todos los sectores sociales (SADER, 2023), además promueve programas como Agrosano, que impulsa procesos agrícolas libres de agroquímicos, sustituyéndolos por microorganismos para el combate de organismos patógenos en cultivos. Con este tipo de acciones se sientan las bases de un proceso sistemático de investigación aplicada para sustentar la aplicación de diversos microorganismos, en sustitución paulatina de agroquímicos, que a la fecha se utilizan en grandes cantidades (SADER, 2023).

El género *Trichoderma* es uno de los hongos más estudiados y es ampliamente utilizado como biocontrol ya que incluye especies que son versátiles, adaptables a diversos ambientes y fáciles de manipular (Matas, y otros, 2022). (Djonovic *et al.*, 2007; Hohmann *et al.*, 2011) alude que *Trichoderma* es un género fúngico de la rizosfera considerado simbiote oportunista de las plantas que es capaz de producir elicitores que inducen la defensa vegetal contra patógenos e insectos, ayudan a la solubilización de fósforo, y propician la síntesis de sustancias promotoras del crecimiento vegetal (Hernández, Ferrera, & Alarcón, 2019). *Trichoderma* pueden crecer y desarrollarse desde 0° C y hasta 40° C según la especie, además se pueden encontrar en suelos agrícolas, bosques, pastizales y suelos desérticos (Sharma, 2020).

En el estado de Puebla existen únicamente 2 laboratorios que producen hongos entomopatógenos y antagonistas: Agroindustria Fungi – Agrícola de Oriente S.P.R DE R.I. e Islavel S.A. DE C.V. (SENASICA, 2022) que no son capaces de satisfacer la demanda de los productores agrícolas, por lo que limita su accesibilidad, a diferencia de los productos químicos convencionales.

En este sentido el proyecto “Casa de la semilla y huertos urbanos agroecológicos en la región centro de Puebla: una estrategia necesaria de transformación hacia la

soberanía alimentaria”, adscrito al Programa Nacional Estratégico de Investigación e Incidencia (PRONAI); dentro de su componente laboratorios de medios biológicos impulsa el establecimiento de laboratorios comunitarios orientados a la producción de bioinsumos agrícolas en las localidades de San Jerónimo Tecuanipan, San Miguel Canoa y Concepción Cuautla. Esta iniciativa posiciona a dichas regiones como puntos estratégicos para la colecta de cepas nativas de *Trichoderma* spp.

Pues al ser cepas autóctona, permitirá una mayor adaptabilidad a las condiciones de la región y una mayor potencialidad de uso por sus características de tolerancia y resistencia a los ambientes asociados a la región de donde fueron aisladas (Alcantara & Garza, 2020), ofreciendo a los productores locales una alternativa viable, segura y accesible para el manejo sostenible de enfermedades en sus cultivos.

Así el estudio de diferentes microorganismos de interés agrícola para el control de plagas es un factor clave para la existencia de más laboratorios; dentro de este marco es importante resaltar la necesidad de que estos no tengan como objetivo la mercantilización, sino una alternativa económica y eficiente para los productores agrícolas, por lo que recurrir a grupos cooperativistas interesados puede ser una estrategia para lograrlo, beneficiando así no sólo a los productores, sino también a la comunidad.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Aislar e identificar morfológicamente cepas nativas de *Trichoderma* spp. provenientes de suelos periurbanos del estado de Puebla, evaluando su antagonismo contra el patógeno *Fusarium* spp. en comparación a cepa comercial.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Aislar cepas de *Trichoderma* spp. procedentes de suelos de cultivos periurbanos del estado de Puebla.
2. Aislar cepas de *Fusarium* spp. procedentes de tejidos dañados de cultivos de maíz de la periferia de la ciudad de Puebla.
3. Identificar y caracterizar morfológicamente las cepas halladas.
4. Realizar pruebas de confrontación para identificar actividad antagónica en las cepas nativas aisladas y la cepa comercial respecto al patógeno.

4. HIPOTESIS

Al menos un aislado nativo de *Trichoderma* spp. presentará igual o mayor porcentaje de inhibición in vitro que la cepa comercial evaluada, con respecto al fitopatógeno *Fusarium* spp.

H₀: No existen diferencias significativas en la actividad antagónica contra *Fusarium* spp. entre las cepas nativas de *Trichoderma* spp. y la cepa comercial.

H₁: Existen diferencias significativas en la actividad antagónica contra *Fusarium* spp. entre las cepas nativas de *Trichoderma* spp. y la cepa comercial.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. Agricultura sostenible

Debido a las diferentes problemáticas que han surgido a lo largo de los años por la práctica de la agricultura convencional, surge la necesidad de una agricultura que promueva la producción agrícola apoyada en la conservación de los recursos naturales elementales tales como el suelo, el agua y la biodiversidad (Gerwick & Sparks, 2007). En este contexto, la agricultura sostenible es el sistema integrado de prácticas de producción de plantas y animales que tiene como objetivo satisfacer la alimentación humana, mejorar la calidad del ambiente, hacer un uso eficiente de los recursos no renovables y mejorar la calidad de vida de los productores agrícolas, así como la de la sociedad (Osorio, 2008). La agricultura sostenible propone reducir el uso de agroquímicos, complementándolos con la aplicación de productos de origen biológico cuya producción dependa de fuentes renovables de materia prima y de energía (Mamani de Marchese & Filippone, 2018).

5.1.1. Bioinsumos

De la idea de buscar en la propia naturaleza, surgen los bioinsumos agrícolas que representan opciones económicamente atractivas y ecológicamente amigables con el medio ambiente. Un bioinsumo puede ser un fertilizante, o plaguicida basado en compuestos o extractos de microorganismos o plantas, o propiamente algunos microorganismos vivos; que son capaces de mejorar el rendimiento, calidad e inocuidad sin generar impactos negativos a los agrosistemas (Gerwick & Sparks, 2007).

5.2. Cultivo de maíz (*Zea mays*)

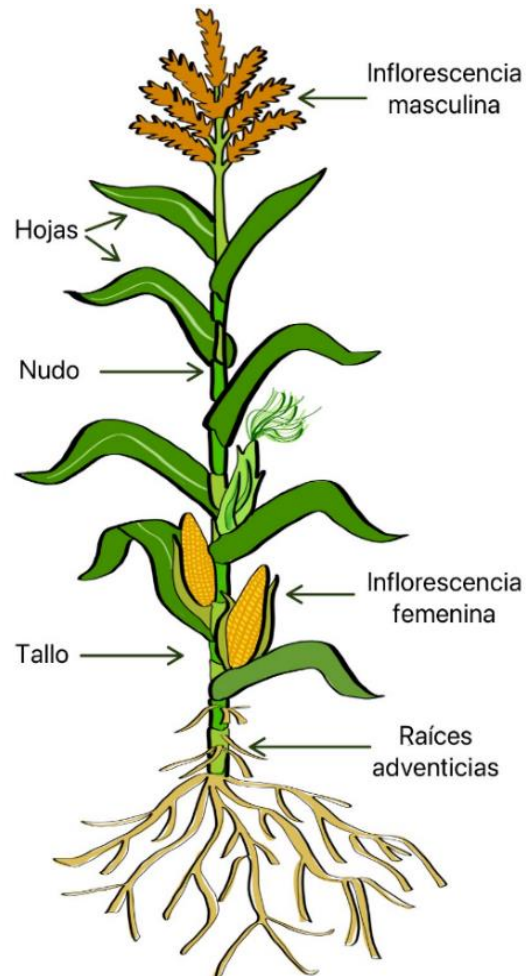


Figura 1. Planta de maíz. Autoría propia.

El maíz es el cultivo más representativo de México por su importancia económica, social y cultural. La planta es de porte robusto con tallo simple, erecto y puede alcanzar 4 metros de altura. (SAGARPA, 2017). Pertenece a la familia de las gramíneas y es una planta anual alta y dotada de un amplio sistema radicular fibroso (FAO, 1993).

La semilla permite que se siembre tanto en suelos bien preparados como en suelos con mínima labranza; prefiriendo los suelos franco-limosos y franco-arcillosos y un pH de 5.5 a 7.5. La temperatura óptima para su desarrollo es de 18 a 24°C. El maíz se encuentra en forma de mazorca; el grano es un cariósido de forma aplastada. Su alto contenido en carbohidratos y proteínas lo hacen el cereal ideal todos los días (SAGARPA, 2017).

5.2.1. Origen

El maíz (*Zea mays*) fue una de las primeras plantas en ser cultivadas y domesticadas por el hombre hace entre 7 000 y 10 000 años (Paliwal, Ginzalo, & Honor, 2023). México es el centro del origen y diversidad del maíz, contando con 59 especies nativas (Hellin & Bellon, 2007).

Según la evidencia arqueológica, su cultivo en Mesoamérica es de aproximadamente 6.000 años, pero los datos genéticos indican cerca de 9.000. Entre la población nativa la planta de maíz representa el origen mismo de la vida (Hellin & Bellon, 2007).

5.2.2. Descripción botánica

El maíz es una planta herbácea, anual, monoica de amplia adaptación, posee un tallo erecto sin ramificación de color claro y en ocasiones de color morado, con alturas que van desde los tipos enanos de 80 cm hasta plantas de más de 4 m de altura (Avila, Avila, Martínez, & Rivas, 2014).

El sistema radicular del maíz se desarrolla a partir de la radícula de la semilla. Las raíces son fasciculadas y su misión es la de aportar un perfecto anclaje a la planta. En algunos casos sobresalen unos nudos de las raíces a nivel del suelo y suele ocurrir en aquellas raíces secundarias o adventicias (CONAHCYT, 2023).

Presenta inflorescencia masculina y femenina separada dentro de la misma planta, la primera tiene una panícula de coloración amarilla que posee una cantidad elevada de polen. La florescencia femenina tiene un contenido menor de granos de polen que se forman en unas estructuras vegetativas denominadas espádices, las cuales se disponen de forma lateral (SAGARPA, 2017).

5.2.3. Clasificación taxonómica

Cuadro 1 Ubicación taxonómica de *Zea mays* (iNaturalist, 2023).

Reino:	Plantae
Filo:	Tracheophyta
Subfilo:	Angiospermae
Clase:	Liliopsida
Orden:	Poales
Familia:	Poaceae
Género:	<i>Zea</i>
Especie:	<i>Zea mays</i>

5.2.4. Producción en el municipio de San Jerónimo Tecuanipan

En México la producción de maíz grano se divide en blanco y amarillo. El maíz blanco representa 86.94% de la producción y se destina principalmente al consumo humano. Por otro lado, el maíz amarillo se destina a la industria o a la fabricación de alimentos balanceados para la producción pecuaria (SAGARPA, 2017).

En el año 2019 la producción total de maíz en el estado de Puebla fue de 835,000 t de las cuales 772,000 t fueron de maíz blanco representando el 92.5% de la producción total. En el municipio de San Jerónimo Tecuanipan el principal cultivo sembrado es el maíz blanco con una producción total de 3,950 ton en 2019 (SIAP, 2023), donde el principal uso es el consumo propio de los productores agrícolas.

5.3. Principales patógenos que afectan al cultivo de maíz

El maíz es susceptible a varias enfermedades, que en alguna forma afectan el normal desarrollo de las plantas. Las enfermedades son favorecidas por las condiciones ambientales, el tipo de suelo, la susceptibilidad de los materiales genéticos y en el caso de las enfermedades de origen viral, por las condiciones que favorezcan la migración, establecimiento y supervivencia de los insectos vectores (Varón & Sarria, 2007).

5.3.1. Bacterias

Las bacterias son causantes de diferentes enfermedades en el cultivo de maíz, algunas de ellas transmitidas por vectores. Las principales bacterias que dañan este cultivo son:

1. *P. avenae*, *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* causan el rayado foliar donde las hojas desarrollan varias lesiones pequeñas de color verde claro (Programa de Maíz del CIMMYT, 2004).
2. *Pantoea stewartii* transmitido por coleópteros donde las lesiones son alargadas y acuosas, y adquieren un color amarillo claro, con márgenes irregulares a lo largo de las hojas (Programa de Maíz del CIMMYT, 2004).

5.3.2. Virus

Las virosis que afectan al maíz pueden ser numerosas y diversas, pudiendo provocar pérdidas importantes donde destacan síntomas como decoloraciones en las hojas y donde las mazorcas producidas acaban siendo pequeñas, con pocos granos y fácilmente son parasitadas por hongos que producen podredumbres (Pérez, 2023). Algunos virus que se presentan en el maíz son:

1. Maíz Dwarf Mosaic Virus (MDMV)
2. Sugarcane Mosaic Virus (SCMV)
3. Johnson Grass Mosaic Virus (JGMV)
4. Sorghum Mosaic Virus (SrMV)

Se caracterizan por la presencia de un moteado leve en la base de las hojas jóvenes. A medida que la planta se desarrolla, toda la lámina foliar se cubre con el mosaico y se forma un rayado irregular y manchas aceitosas de apariencia anular (Varón & Sarria, 2007).

5.3.3. Hongos

Las enfermedades causadas por hongos ocasionan diferentes daños foliares o podredumbres de tallos y raíces. Los principales hongos que provocan daños al cultivo son:

1. Géneros *Peronosclerospora*, *Sclerospora* y *Sclerophthora* provocan bandeo clorótico o síntomas parciales en las hojas y las vainas, y enanismo (Programa de Maíz del CIMMYT, 2004).
2. *Puccinia sorghi*, *Puccinia polysora* y *Physopella zae* causantes de la enfermedad Roya (Programa de Maíz del CIMMYT, 2004).
3. *Fusarium moniliforme* sin. *Fusarium verticillioides* provocan pudrición de tallos, dañando especialmente el floema (Programa de Maíz del CIMMYT, 2004).

5.4. *Fusarium* spp.

5.4.1. Generalidades

El género *Fusarium* tiene una distribución cosmopolita y es endémico en todas las regiones maiceras del mundo, afectando seriamente la productividad (Mendoza, y otros, 2003).

Fusarium spp. en maíz puede causar daño en todas las etapas del cultivo (SENASICA, 2023). La infección por *Fusarium* causa enfermedades que ocasionan el secado prematuro de la planta, la rotura del tallo y la muerte de la planta y ocurre en todos los ambientes en que se cultiva el maíz: en climas fríos o cálidos, en tierras bajas, de media altitud o altas, en climas secos o húmedos. Sin embargo, es más importante en climas cálidos con temperaturas por encima de 30°C, alta humedad y altos niveles de fertilidad, crecimiento exuberante de la planta y alta densidad (Avila, Avila, Martínez, & Rivas, 2014).

5.4.2. Clasificación taxonómica

Cuadro 2 Ubicación taxonómica de *Fusarium* (NCBI, 2023)

Reino:	Fungi
Filo:	Ascomycota
Clase:	Sordariomycetes
Orden:	Hypocreales
Familia:	Nectriaceae
Género:	<i>Fusarium</i>

5.4.3. Morfología

Fusarium spp. presenta características microscópicas propias de la especie. La fiálide es generalmente fina, en forma de botella; simple o ramificada; cortas o largas; monofialídica (que emergen esporas de un poro de la fiálide) o polifialídica (de varios poros). Los macroconidios presentan forma de medialuna, hialinos y septados. Los microconidios, son ausentes en algunas especies, poseen variadas formas (fusiformes, ovals, clavadas, entre otras), agrupaciones (estructuras mucoides llamadas “falsas cabezas”) en cadenas largas o cortas. De pigmentos café, rojo, violeta, naranja, gris o blanco. En campo, *Fusarium* spp. se puede identificar porque forma lesiones hundidas de color negro o marrón en la base de los tallos, además, pueden presentarse manchas rojizas en los pecíolos cercanos a la copa de la planta y, a veces, masas de micelios rosadas o blancas que crecen en la base de los esquejes o en la copa de una planta (SENASICA, 2023).

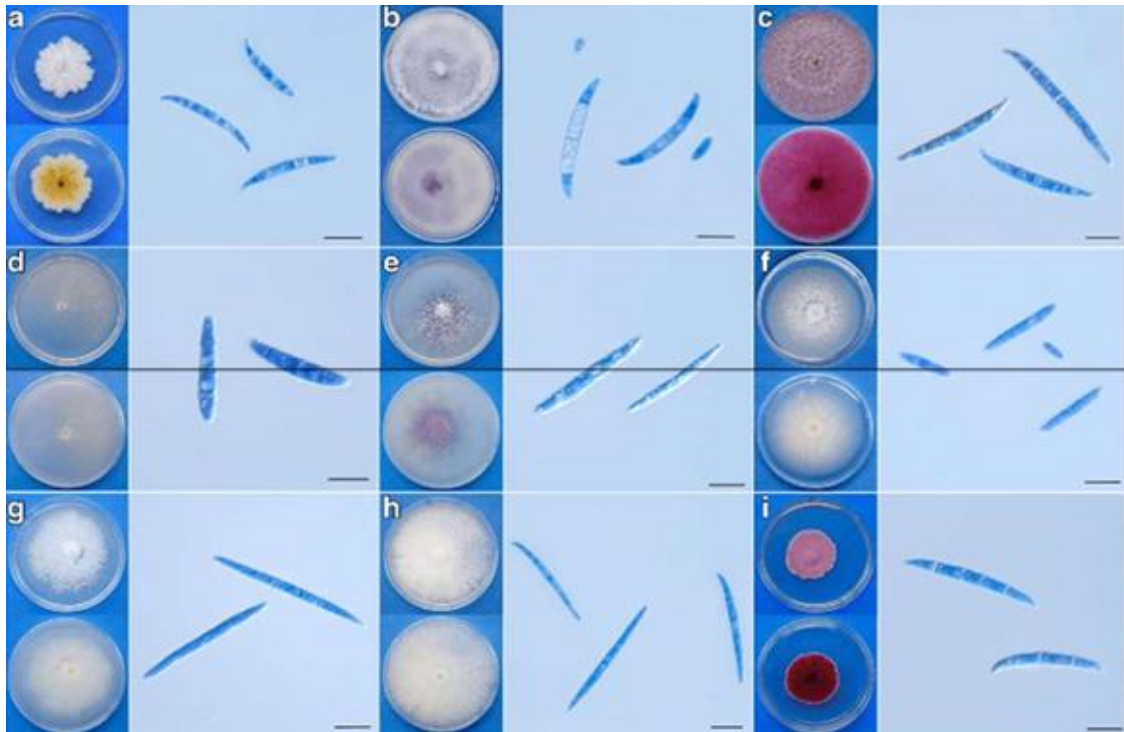


Figura 2. Colonias típicas y macroconidias de aislados de *Fusarium* en medio agar papa-dextrosa y macroconidios en medio de carboximetilcelulosa después de 5 días de crecimiento. a) *F. equiseti*; b) *F. oxysporum*; c) *F. graminearum*; d) *F. solani*; e) *F. commune*; f) *F. verticillioides*; g) *F. proliferatum*; h) *F. fujikuroi*; i) *F. avenaceum*. Barra de escala = 20 μm (Mokobi, 2023).

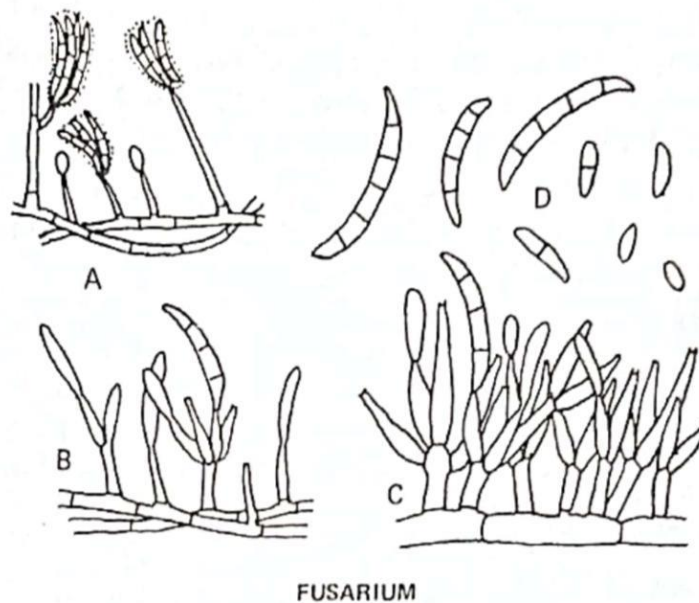


Figura 3. Morfología de conidios de *Fusarium*. (Barnett & Hunter B, 1972)

5.4.4. Ciclo de enfermedad

El inóculo primario está presente en los rastrojos y en el suelo, iniciándose la infección en etapas tempranas del cultivo. La podredumbre de las raíces comienza en etapas vegetativas, pero pasa desapercibida hasta que comienza la migración de fotosintatos de la base de los tallos a las espigas, con su consecuente debilitamiento. Como la mayoría de los agentes causales son habitantes del suelo, la enfermedad se considera monocíclica, ya que, aunque puede haber infecciones secundarias, las pérdidas dependen del inóculo presente en los lotes al momento de la siembra. En presencia de raíces, las clamidosporas o conidios germinan y penetran en plantas susceptibles. El hongo ingresa al xilema y crece hacia arriba, tapando el tejido y reduciendo el movimiento del agua. Se producen toxinas que hacen que el follaje se vuelva amarillo. Los conidios generalmente no se transmiten por el aire, pero el hongo puede transmitirse por el aire en trozos de restos de plantas infectadas, en polvo o en salpicaduras de agua (SENASICA, 2023).

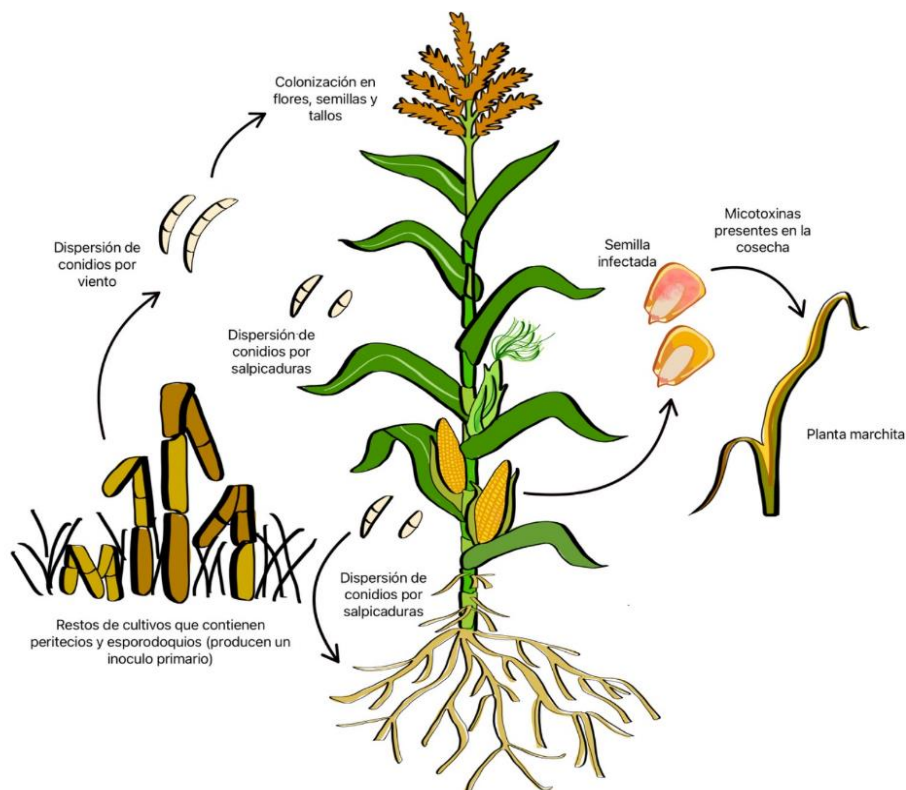


Figura 4. Ciclo de enfermedad de *Fusarium*. Autoría propia.

5.4.5. Síntomas en maíz causado por *Fusarium* spp.

Fusarium spp. puede causar una gran cantidad de síntomas, desde manchas foliares hasta marchites y pudrición de los esquejes, la copa y la raíz. Las esporas de *Fusarium* se mueven fácilmente con agua y se pueden salpicar de una planta a otra (Buechel, 2023).

En semilla, el micelio puede invadir y ocasionar manchas en las cubiertas externas, causando además disminución de la geminación por la muerte del embrión. En plántula y planta adulta, ocasiona acame, así mismo las plantas pueden marchitarse y morir rápidamente, conforme progresa la enfermedad, todo el sistema de raíces se torna café y con frecuencia se pudre la raíz primaria. Aparecen lesiones color café chocolate al nivel del suelo, las cuales se expanden al sistema vascular. Cuando la humedad es adecuada, se puede observar la esporulación del hongo en las lesiones expuestas (SENASICA, 2023).

Las plantas afectadas por pudrición de tallos pueden quedar achaparradas y raquílicas, lo que reduce su potencial de rendimiento; las mazorcas son pequeñas y no llenan todos los granos y en casos extremos la planta puede morir (Avila, Avila, Martínez, & Rivas, 2014).

En mazorca los primeros signos de la infección son la formación de micelios blancos, que van descendiendo desde la punta de la mazorca y dan una coloración rojiza y rosada a los granos infectados, el hongo produce micotoxinas que son tóxicas para varias especies animales (Programa de Maíz del CIMMYT, 2004).

5.4.6. Métodos de control de *Fusarium* spp.

5.4.6.1. Control cultural

Dentro del manejo agronómico hay diferentes actividades importantes a considerar para el control cultural del patógeno:

- Rotación del cultivo para reducir el potencial de la enfermedad o mitigar los efectos de la enfermedad en el rendimiento del cultivo.
- Cosecha anticipada y control de enfermedades foliares.

- Siembra perpendicular a los vientos predominantes, para facilitar la recolección de plantas volcadas.
- Mantener un balance nutricional entre Nitrógeno/Potasio.
- Mantener buen drenaje/manejo del riego.

(SENASICA, 2023).

5.4.6.2. Control biológico

El uso de hongos micoparasitarios como *Trichoderma harzianum* puede usarse como agente de biocontrol contra *Fusarium*, pues el parásito ha demostrado tener un efecto antagónico contra *Fusarium* que causa pudrición de tallo, raíz y mazorca (Mokobi, 2023). Sin embargo existen más biofunguicidas en el mercado, destacando el biofunguicida comercial *Streptomyces griseoviridis* que se puede usar tanto en plantas cultivadas en campo como en invernadero (SENASICA, 2023).

5.5. *Trichoderma* spp.

5.5.1. Generalidades

Trichoderma es un género de hongos con reproducción asexual (anamorfo), cuyas cepas se aíslan de casi todos los suelos templados y tropicales (Stocco, 2014). Es un hongo saprófito que puede ser anaerobio facultativo, permitiendo una plasticidad ecológica (Irazoqui, 2021).

Trichoderma ha sido utilizado por su eficacia en el control biológico de enfermedades del sistema radicular provocadas por diferentes hongos fitopatógenos (Ortiz, Hernández, Cruz, Figueroa, & Figueroa, 2013).

5.5.2. Clasificación taxonómica

Cuadro 3. Ubicación taxonómica de *Trichoderma* (NCBI, 2023).

Reino:	Fungi
Filo:	Ascomycota
Clase:	Sordariomycetes
Orden:	Hypocreales
Familia:	Hypocreaceae
Género:	<i>Trichoderma</i>

5.5.3. Morfología

Las colonias típicas de *Trichoderma* en su inicio presentan una coloración blanca a amarilla, que se van tornando verdes oscuros y una esporulación densa. El micelio es poco poblado en su mayoría, los conidióforos son ramificados que terminan en fiálides donde se forman las esporas asexuales o conidios (Irazoqui, 2021).

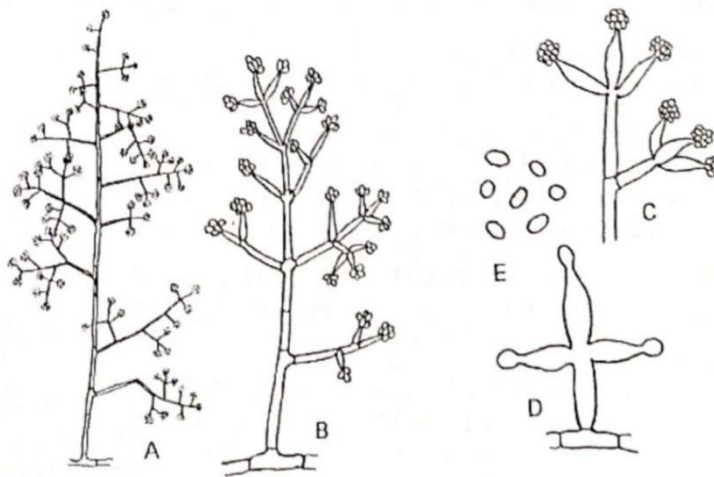


Figura 5. Morfología del género *Trichoderma* (Barnett & Hunter B, 1972)

5.5.4. Mecanismos de acción

El género *Trichoderma* puede actuar a través diferentes mecanismos de acción que incrementa la respuesta de crecimiento y tolerancia al estrés. Estos mecanismos pueden depender de la producción de sustancias

inhibitorias de los diferentes aislamientos del antagonista, la interacción de la planta patógeno-antagonista y de las condiciones ambientales (Ortiz, Hernández, Cruz, Figueroa, & Figueroa, 2013).

5.5.4.1. Competencia

La competencia por nutrientes de *Trichoderma*, es principalmente por carbono, nitratos y hierro. Dentro de las cualidades que favorecen la competencia de este antagonista resaltan: la alta velocidad de crecimiento y la secreción de metabolitos de diferente naturaleza, que enfrentan o eliminan a los competidores en el microambiente. Bloquea el paso al patógeno y resulta importante para la diseminación del antagonista (Martínez, Infante, & Reyes, 2013)

5.5.4.2. Antibiosis

La antibiosis es la secreción de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo (Irazoqui, 2021). Los metabolitos con actividad antifúngica secretados por *Trichoderma* constituyen un grupo de compuestos volátiles y no volátiles, muy diversos en cuanto a estructura y función. Muchas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios, que inhiben otros microorganismos sin establecer contacto físico, estas sustancias son consideradas antibióticos (Martínez, Infante, & Reyes, 2013).

5.5.4.3. Micoparasitismo

En este proceso la interacción antagonista-patógeno ocurre en cuatro etapas:

- Crecimiento quimiotrófico: Donde *Trichoderma* puede detectar a distancia a sus posibles hospedantes.
- Reconocimiento: Se considera que existe una alta especificidad del antagonista por su sustrato.

- Adhesión y enrollamiento: Ocurre por la asociación de un azúcar en la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno.
- Actividad lítica: Producción de enzimas líticas extracelulares, quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del patógeno y posibilitan la penetración de *Trichoderma*.

El micoparasitismo concluye con la pérdida del contenido citoplasmático de la célula hospedante, presentando síntomas de disgregación (Martínez, Infante, & Reyes, 2013).

6. METODOLOGÍA



Figura 6. Diagrama de metodología. Autoría propia.

6.1. Área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en una etapa de campo y otra de laboratorio. La primera etapa fue en diferentes predios ubicados en el municipio de San Jerónimo Tecuanipan y en la junta auxiliar de San Miguel Canoa del estado de Puebla pertenecientes a productores locales, tomando en cuenta antecedentes del suelo como: uso de la tierra, cultivos sembrados en los últimos años, influencia humana y el manejo y control de plagas.



Figura 8 Ubicación geográfica de predios muestreados en el municipio de San Jerónimo Tecuanipan, Puebla.

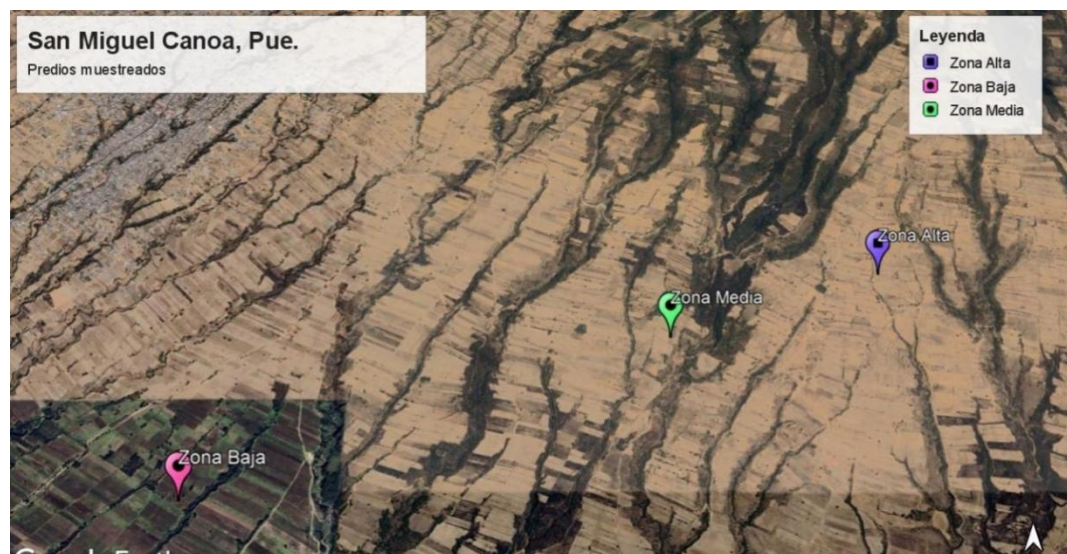


Figura 7. Ubicación geográfica de predios muestreados en la junta auxiliar San Miguel Canoa.

El proceso experimental se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología perteneciente al Complejo Regional Centro de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, ubicado en la localidad de San José Tuzupán.



Figura 9. Ubicación Geográfica del Tec 4 del Complejo Regional Centro de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

6.2. Colecta de muestras de suelo

La colecta de cada muestra consistió en tomar cinco muestras simples de 500 g de suelo, colectadas por el método al azar a una profundidad de 40 cm; cada muestra simple se colocó en un recipiente y se homogenizó para obtener una muestra compuesta de 1 kg, de acuerdo con la NOM-021-RECNAT-2000. Finalmente, las muestras se trasladaron en bolsas de plástico al laboratorio con su etiquetado correspondiente.

6.3. Obtención y purificación de cepas de *Trichoderma* spp. de suelos

Para la purificación de *Trichoderma* a partir de la muestra de suelo, se colocaron 100 g de suelo sobre una charola y se dejaron secar en sombra y a temperatura ambiente.

Se pesaron 0.5 g de cada muestra en una balanza analítica y se espolvorearon sobre la superficie de una caja Petri con medio de cultivo

selectivo para *Trichoderma* (TMS) según (D., 1993) . Incubando las cajas a 25°C de 5 a 10 días. Cada muestra se procesó por triplicado.

Las esporas de las colonias típicas de *Trichoderma* spp. se tomaron con asas bacteriológicas estériles, hasta un máximo de 5 colonias por muestra de suelo; y se sumergieron en tubos Eppendorf, con 1 mL de agua destilada estéril; la suspensión de esporas se homogenizó con vórtex y se realizaron diluciones seriales de esta, transfiriendo 100 µL de la muestra con ayuda de una micropipeta (Labnet) a otro con 900 µL de agua destilada estéril de manera consecutiva hasta 10^{-6} (Irazoqui, 2021).

De cada dilución obtenida se tomaron 100 µL y se inocularon en cajas Petri con medio de cultivo PDAA, utilizando el método de siembra por extensión en caja. Se incubaron a 25°C por 24 a 48 horas.

Finalmente, transcurridas las 24 o 48 horas se tomó una spora germinada con un bisturí estéril, transfiriéndola en una nueva placa con medio de cultivo PDAA (Irazoqui, 2021). Cada procedimiento se realizó en condiciones asépticas, en campana de flujo laminar (ESCO vertical).

6.4. Aislamiento y purificación de aislados de *Fusarium* spp. provenientes de tejidos de maíz

Se colectaron mazorcas con daños por pudrición de acuerdo con los síntomas observados de la junta auxiliar de San Miguel Canoa. Los granos de mazorcas se desinfectaron, con agua corriente e hipoclorito de sodio al 1% por 1 minuto y se lavaron tres veces con agua destilada. Posteriormente se colocaron los granos de mazorca con daño aparente en placas Petri con medio de cultivo PDAA a temperatura ambiente de 5 a 7 días (Velarde, y otros, 2018).

Las colonias desarrolladas fueron aisladas y purificadas, con un asa estéril se tomó un disco de la colonia y se sumergió en un tubo Eppendorf, con 1 mL de agua destilada estéril; la suspensión de esporas se homogenizó con vórtex (Vortex - Genie 2) y se realizaron diluciones seriales de esta, se transfirieron 100 µL de la muestra con ayuda de una micropipeta (Labnet) a

otro tubo con 900 µL de agua destilada estéril de manera consecutiva hasta 10⁻⁶.

De cada dilución obtenida se tomaron 100 µL y se inocularon en cajas Petri con medio de cultivo PDAA, utilizando el método de siembra por extensión en caja. Se incubaron a 25°C por 24 a 48 horas (Irazoqui, 2021).

Finalmente, transcurridas las 24 o 48 horas se tomó una espora germinada con un bisturí estéril, transfiriéndola en una placa con medio de cultivo PDAA, con el objetivo de obtener cultivos monospóricos (Martínez, Andrade, Romero, Villa, & Landeta, 2021). Cada procedimiento se realizó en condiciones asépticas, en campana de flujo laminar (ESCO vertical).

6.5. Identificación y caracterización morfológica de *Trichoderma* spp.

De cada aislado se tomó un disco de micelio de 5 mm de diámetro y se colocaron al borde de la caja Petri con medio PDAA, medio SNA y medio Cornmeal dextrosa agar, por triplicado. Se incubaron durante una semana a 25°C con 12 horas de oscuridad y 12 horas de luz (Irazoqui, 2021). La identificación de las colonias fúngicas obtenidas se realizó mediante el análisis de características morfológicas asociadas al género *Trichoderma* con claves taxonómicas de identificación de (Samuels & Hebbbar, 2015).

Para medir la tasa de crecimiento radial, se midió el crecimiento del radio de la colonia cada 24 horas, hasta llenar la caja Petri. Aplicando la siguiente fórmula:

$$TC = \frac{(\text{Crecimiento final} - \text{Crecimiento inicial})}{\text{Tiempo de incubación}}$$

Para la descripción de las características micro y macroscópicas se utilizaron las colonias desarrolladas en los medios de cultivo SNA y Cornmeal dextrosa agar. Del medio SNA se tomaron en cuenta: color al frente, reverso, tipo de borde, color de hifa, tamaño de las pústulas, tipo de desarrollo y color de micelio. Para el medio Cornmeal dextrosa agar se tomaron en cuenta: forma del conidióforo, posición de la clamidospora, forma y tamaño de las fialides y

conidios. La observación se realizó con microscopio (Leica DM500) con el objetivo 100X, utilizando la técnica de cinta adhesiva y (Irazoqui, 2021).

6.6. Identificación y caracterización morfológica de *Fusarium* spp.

De cada aislado se tomó un disco de micelio de 5 mm de diámetro y se colocó al borde de la caja Petri con medio PDAA por triplicado. Se incubaron durante una semana a 25°C con 12 horas de oscuridad y 12 horas de luz (Irazoqui, 2021).

Para medir la tasa de crecimiento radial, se midió el crecimiento del radio de la colonia cada 24 horas, hasta llenar la caja Petri. Aplicando la siguiente fórmula:

$$TC = \frac{(\text{Crecimiento final} - \text{Crecimiento inicial})}{\text{Tiempo de incubación}}$$

(Irazoqui, 2021).

La identificación de las colonias fúngicas obtenidas se realizó mediante el análisis de características morfológicas asociadas al género *Fusarium* con las claves taxonómicas de identificación de Barnett y Hunter (2006), (Martínez, Andrade, Romero, Villa, & Landeta, 2021).

6.7. Evaluación del efecto inhibitorio entre cepas nativas de *Trichoderma* spp.

Se utilizó la técnica de cultivo dual según (Andrade, y otros, 2019) para determinar el porcentaje de inhibición de crecimiento radial. Se utilizaron cajas petri con PDAA libre de antibióticos, depositando en un extremo un disco de 5 mm de diámetro con micelio activo de *Fusarium* spp. (previamente desarrollado en PDAA por ocho días) dejándolo desarrollar durante 3 días previo al primer contacto entre el antagonista y el fitopatógeno, por su crecimiento lento (Rodríguez & Wang, 2020) y en el extremo equidistante a una distancia de 5 cm un disco de 5 mm de diámetro con micelio de

Trichoderma spp. (previamente desarrollado en PDAA por tres días). Las cajas se incubaron a 25°C con 12 horas luz y 12 horas oscuridad, Se realizaron 4 repeticiones por cada combinación de *Trichoderma-Fusarium*. Así mismo se tomaron como controles positivos los cultivos individuales de cada aislado de *Fusarium* spp. (Irazoqui, 2021).

Para la evaluación de la capacidad antagónica se realizaron mediciones del crecimiento radial de ambos hongos; la primera medición se llevó a cabo a las 24 horas después de la siembra de *Trichoderma* spp. y la última medición se realizó cuando el control llenó la placa (Irazoqui, 2021). El porcentaje de inhibición del crecimiento radial se calculó con la siguiente formula:

$$PICR \% = (R1 - R2)100$$

Donde: PICR= porcentaje de inhibición de crecimiento radial; R1= crecimiento radial (mm) del patógeno sin *Trichoderma* spp., R2= crecimiento radial (mm) del patógeno con *Trichoderma* spp.

La evaluación del micoparasitismo ejercido por el antagonista se calculó de acuerdo con la escala Bell *et al.* (1982).

Cuadro 4. Eficiencia de micoparasitismo contra *Trichoderma* spp.

Clase	Características
1	<i>Trichoderma</i> coloniza el 100% de la superficie del medio y crece sobre el <i>Fusarium</i> .
2	<i>Trichoderma</i> coloniza al menos el 65% de la superficie del medio.
3	<i>Trichoderma</i> y <i>Fusarium</i> colonizan cada uno la mitad de la superficie del medio, ningún hongo domina.
4	<i>Fusarium</i> coloniza al menos el 65% de la superficie del medio.
5	<i>Fusarium</i> coloniza el 100% de la superficie del medio y crece sobre <i>Trichoderma</i> .

Para el análisis de los datos obtenidos, se empleó un diseño completamente al azar (DCA) tomando como tratamientos los aislados nativos de *Trichoderma* spp, más una cepa comercial (*Trichoderma harzianum*) cada uno con cuatro repeticiones. La variable dependiente fue el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) del micelio de los patógenos evaluados *in vitro*.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para identificar diferencias significativas entre tratamientos, seguido de pruebas de comparación de medias de Tukey y Scheffé, ambas con un nivel de significancia de $p < 0,05$. Los análisis estadísticos se efectuaron utilizando el software SAS (versión 9.02).

El modelo estadístico utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : Valor observado del porcentaje de inhibición en el tratamiento i y repetición j

μ : Media general

α_i : Efecto del tratamiento i respecto a la media general

ϵ_{ij} : Error aleatorio asociado a la observación ij , asumido con distribución normal e independiente $\sim N(0, \sigma^2)$

7. RESULTADOS

7.1. Identificación morfológica de *Trichoderma* spp.

Se aislaron 44 cepas nativas de 13 muestreos de suelo de la periferia del Valle de Puebla (Cuadro 5) (Figuras 10-12) de las cuales todos los aislados pertenecieron al género *Trichoderma* spp. según las características típicas morfológicas (Barnett & Hunter B, 1972).

La tasa de crecimiento radial de las cepas en medio de cultivo PDAA fue de 10 a 31 mm/día y en medio de cultivo SNA fue de 10 a 20 mm/día (Gráfico 1). La morfología colonial en medio de cultivo PDAA de las cepas nativas TP2 3.1, TP2 3.2, TR1 1.1, TR1 1.2, TR2 1.1, TR2 1.2, TR2 2.2, TCA 2.2, TJO 2.1, TJO 2.2, TJO 3.1, TJO 3.2, TH1, TP1 2.1 y TF presentaron características similares, donde el color de la colonia fue de blanco, amarillo, verde claro a verde oscuro conforme iban madurando, borde ondulado y suave con apariencia flocosa. Por otro lado, las cepas TR1 2.1, TR1 2.2, TP2 1.1, TP2 1.2, TP2 2.1, TP2 2.2, TR2 2.1, TR2 3.1, TR2 3.2, TCA 1.1, TCA 1.2, TCA 2.1, TCM 1.1, TCM 1.2, TCM 2.1, TCM 2.2, TCM 3.1, TCM 3.2, TJO 1.2, TCZB 2, TCZM 1, TCZM 2, TCZA2 y TH2 presentaron color de la colonia que variaba de verde claro a verde oscuro, borde ondulado y suave con apariencia flocosa y aracnoidea. Finalmente, las cepas TP1 1.1, TPI 1.2, TP1 2.2, TCZB 1 y TCZA 1 presentaron color de la colonia blanco, borde ondulado y suave con apariencia flocosa (Figura 13).

El micelio de todas las cepas nativas presentó color blanco e hifas hialinas, pústulas verdes de 1 a 2 mm de diámetro. Conidios lisos, en la mayoría subglobosos y ovoides y en algunos casos globosos. Conidióforos largos y ramificados. Fiálides lageniformes y ampuliformes. Se observó presencia de clamidosporas terminales e intercaladas (Cuadro 6) (Figura 14).

De acuerdo con las claves taxonómicas descritas por Gerwick & Sparks (2007) se realizó la presuntiva identificación a nivel especie de las 12 cepas que presentaron mayor PICR (escala 1 y 2) en los tres patógenos, donde TH1, TP1 1.1, TP1 1.2, TP1 2.2, TP2 2.1, TR2 2.2 y TR2 3.2 se identificaron como presuntivas cepas de *Trichoderma harziamun*, por otra parte, las cepas TCZB 2, TCZA, TJO 2.2, TJO 3.1 y TF se asociaron a *Trichoderma viride*.

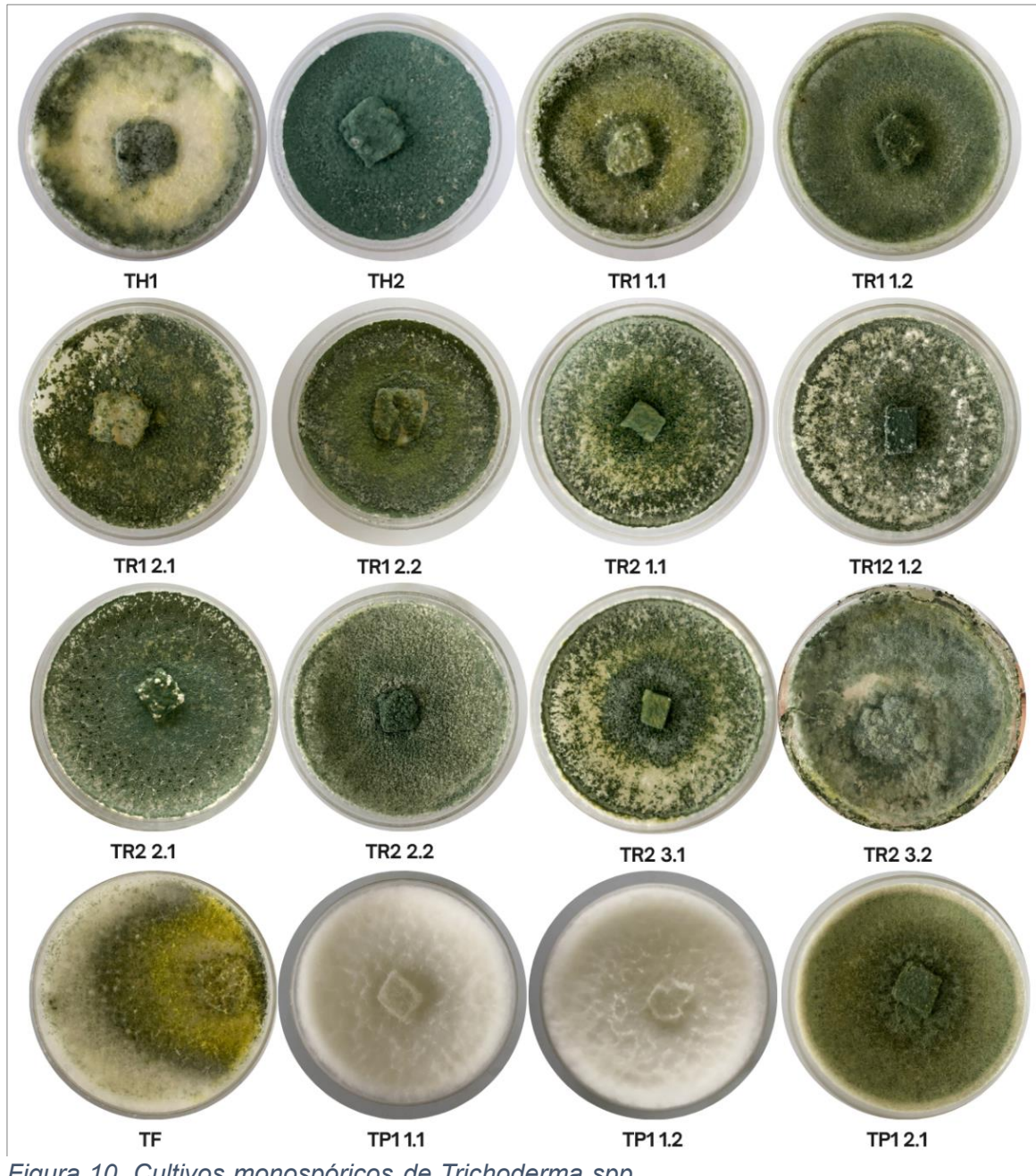


Figura 10. Cultivos monospóricos de *Trichoderma* spp.

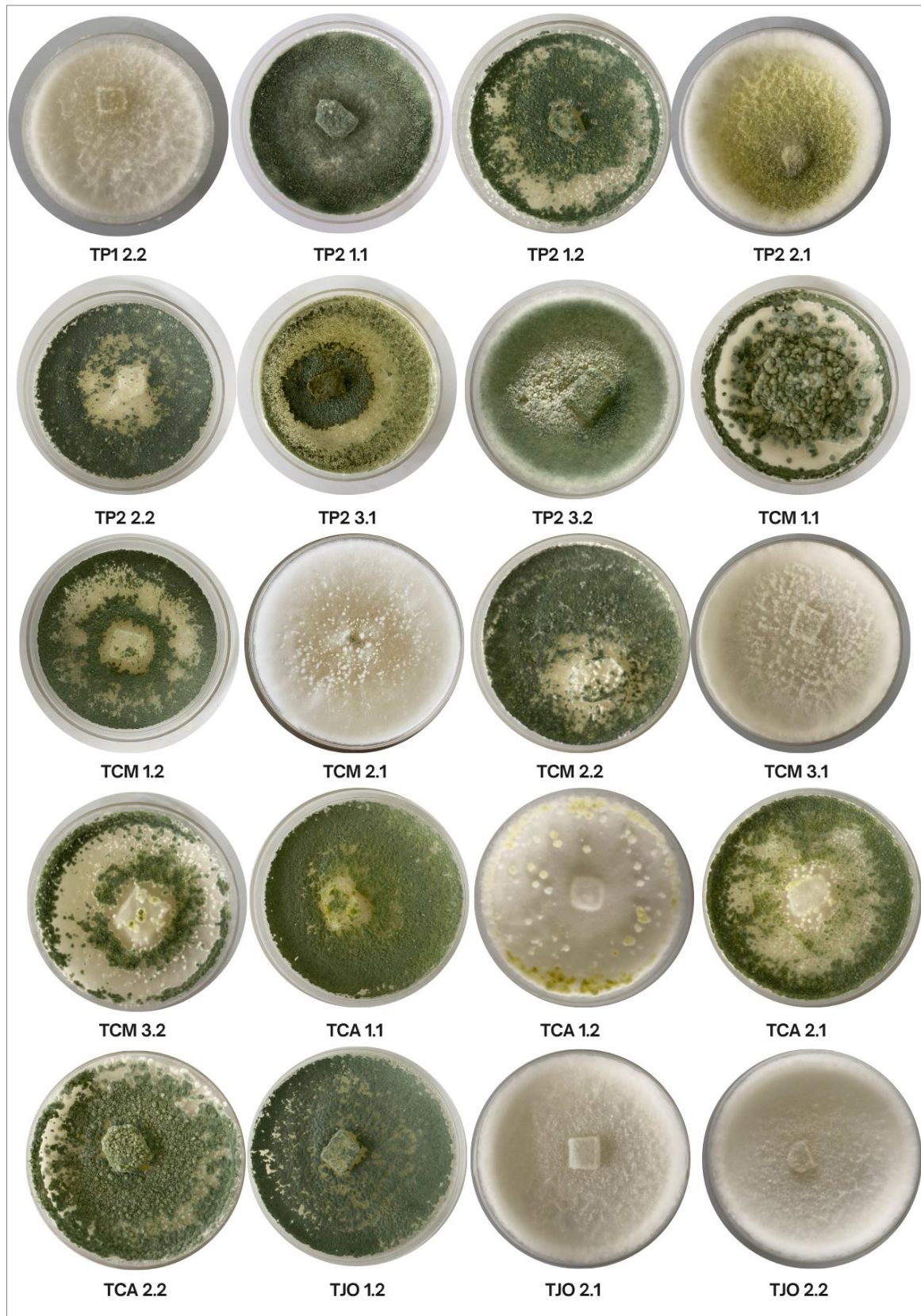


Figura 11. Cultivos monospóricos de *Trichoderma* spp.

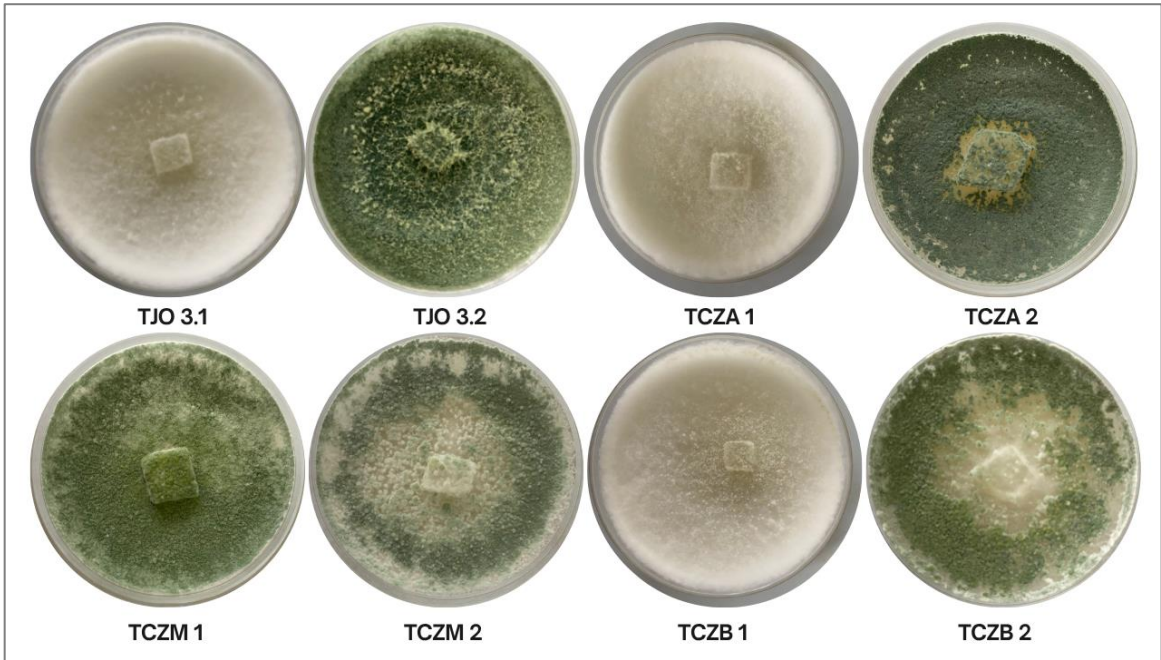
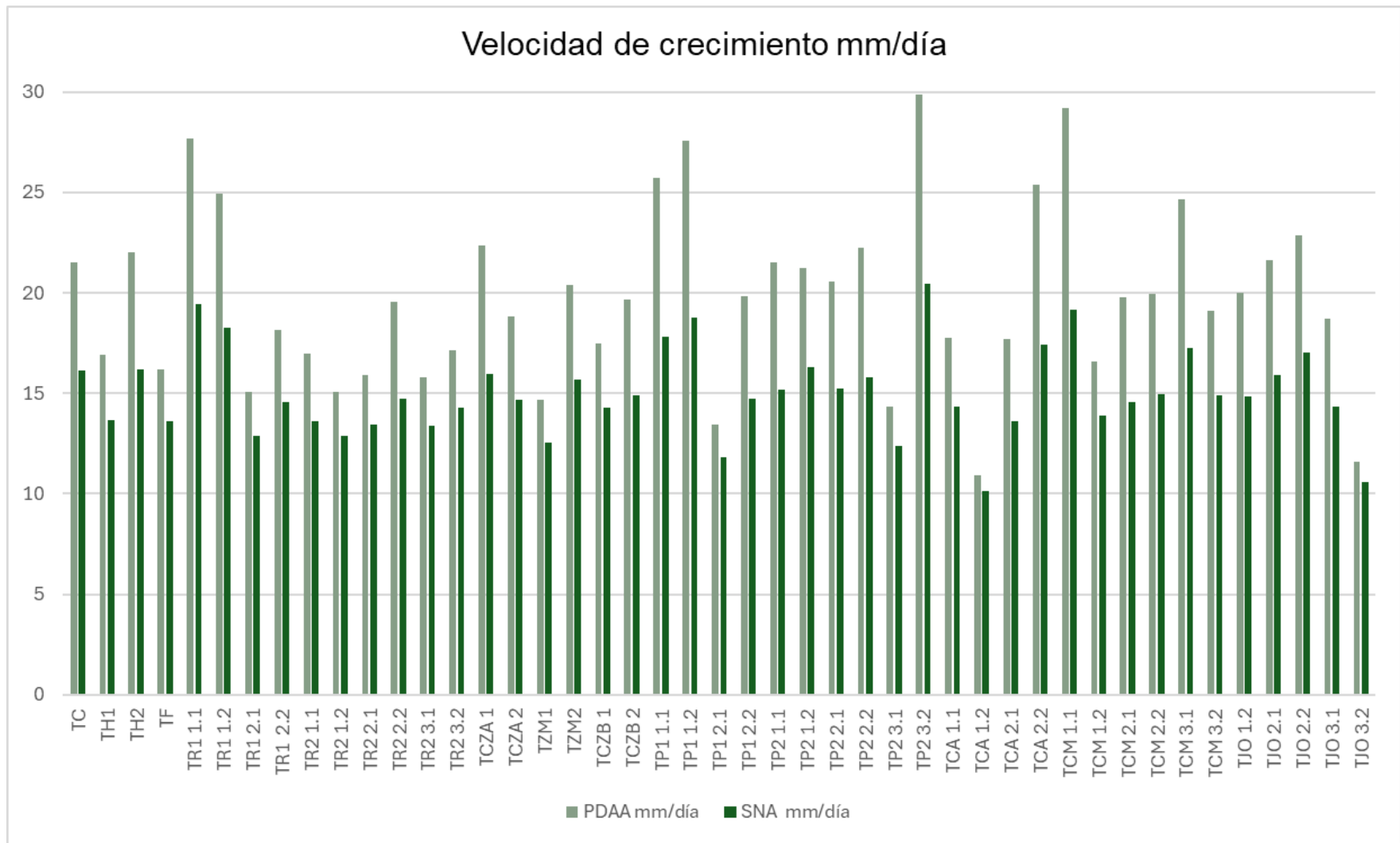


Figura 12, Cultivos monospóricos de *Trichoderma* spp.

Cuadro 5. Lugar de procedencia y datos de muestras de las cepas nativas aisladas.

No. Muestra	Código	Municipio	Ubicación geográfica	Uso del suelo	Control de plagas y enfermedades	Observaciones
1	TH1 TH2	San Jerónimo Tecuanipan	19.008651, - 98.398309	Agricultura sintrópica	Caldo bordelés, diatomea, extractos vegetales, jabón potásico.	Suelo con manejo agroecológico para consumo local y propio. 7 años libre de agroquímicos.
	2	N/A	San Jerónimo Tecuanipan	19.008581, - 98.398433		
3	TR1 1.1. TR1 1.2 TR1 2.1 TR1 2.2	San Jerónimo Tecuanipan	19.007985, - 98.397658	Forestal	N/A	Suelo a orilla de río con presencia de contaminantes de residuos industriales, agrícolas y de actividades domésticas
	4	TR2 1.1 TR2 1.2 TR2 2.1 TR2 2.2	San Jerónimo Tecuanipan	19.007969, - 98.400483		
5	TF	San Jerónimo Tecuanipan	19.017876, - 98.421610	Fruticultura intensiva	Acaricidas, fungicidas y plaguicidas químicos.	Suelo fertilizado con abono orgánico y químico, uso de plaguicidas químicos cada mes.
6	TP1 1.1 TP1 1.2 TP1 2.1 TP1 2.2	San Jerónimo Tecuanipan	19.015737, - 98.406210	Agricultura orgánica	Barreras naturales, diatomea, extractos vegetales, jabón potásico.	Suelo con manejo agroecológico para consumo local y propio. 12 años libre de agroquímicos.
	7	TP2 1.1 TP2 1.2 TP2 2.1 TP2 2.2 TP2 3.1 TP2 3.2	San Jerónimo Tecuanipan	19.015426, - 98.406351		

8	TCM 1.1	San Jerónimo Tecuanipan	19.009610, - 98.417509	Agricultura extensiva	Barreras naturales, diatomea, extractos vegetales, jabón potásico.	Suelo con manejo agroecológico para consumo local y propio. 12 años libre de agroquímicos.
	TCM 1.2					
	TCM 2.1					
	TCM 2.2					
	TCM 3.1					
TCM 3.2						
9	TCA 1.1	San Jerónimo Tecuanipan	19.009610, - 98.417509	Agricultura extensiva		
	TCA 1.2					
	TCA 2.1					
	TCA 2.2					
10	TJO 1.2	San Jerónimo Tecuanipan	19.008759, - 98.398767	Agricultura extensiva	Fungicidas y plaguicidas químicos.	Cultivos de ciclo temporal para consumo propio, se realiza rotación de cultivos.
	TJO 2.1					
	TJO 2.2					
	TJO 3.1					
	TJO 3.2					
11	TCZA 1	San Miguel Canoa	19.166853, - 98.069217	Agricultura extensiva	Fungicidas y plaguicidas químicos.	Cultivo de maíz temporal para consumo propio.
	TCZA 2					
12	TCZM 1	San Miguel Canoa	19.137159, - 98.055760	Agricultura extensiva		Suelos a faldas de la Malinche con alto porcentaje de humedad.
	TCZM 2					
13	TCZB 1	San Miguel Canoa	19.135852, - 98.097438	Agricultura extensiva		
	TCZB 2					



Gráfica 1. Velocidad de crecimiento en medios de cultivo de aislados nativos.

Cuadro 6. Características morfológicas de aislados nativos.

Características	<i>Trichoderma</i> spp.	
Colonia	Crecimiento radial	PDA: 10.61 - 31.85 mm/día
	mm/día	SNA: 10.11 - 20.42 mm/día
	Color	Blanco, verde claro a verde oscuro
	Borde	Ondulado
Micelio	Forma	Flocosa y aracnoidea
	Color	Blanco
	Color de hifas	Hialinas
Conidio	Forma	Globosas y subglobosas, ovoides, lisa
	Tamaño (µm)	Largo: 2.8 - 4.4 mm Ancho: 2.3 - 3.5 mm
Pústulas	Tamaño	1-2 mm
Fiálides	Forma	Lageniformes y ampuliformes
	Tamaño (µm)	Largo: 5.41- 10.75 mm Ancho: 2.98 - 3.97 mm
Conidióforos	Forma	Largos y ramificados
Clamidosporas	Posición	Intercaladas y terminales

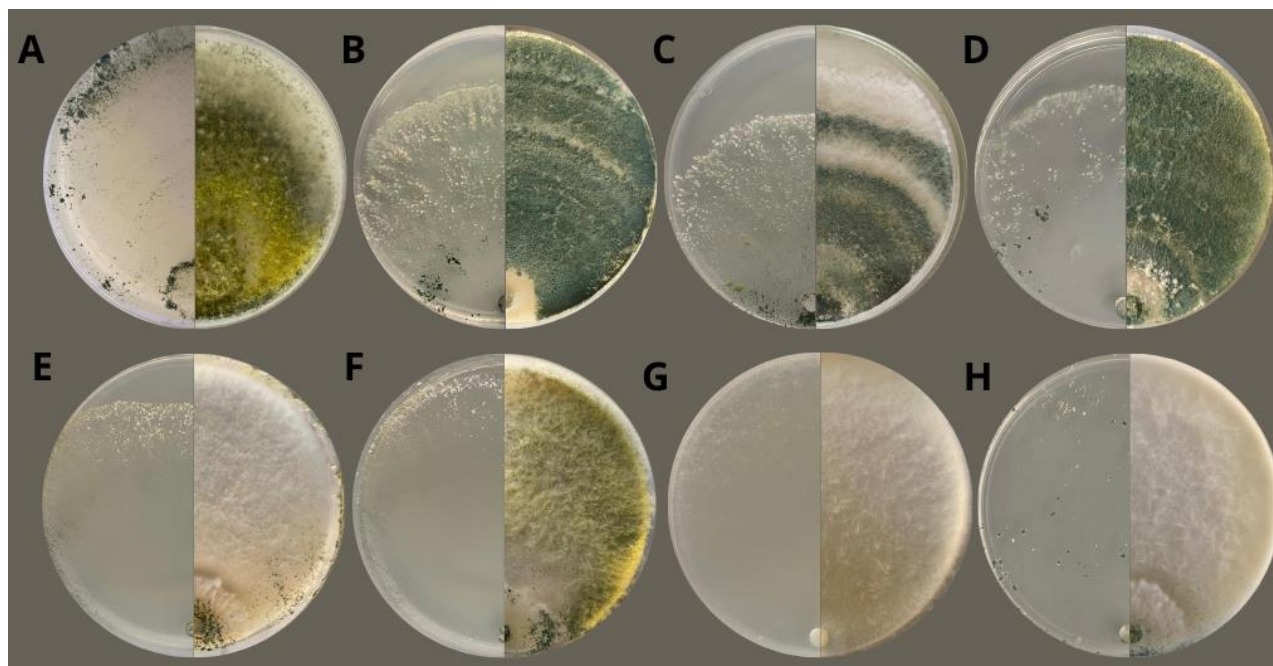


Figura 13. Morfología colonial de *Trichoderma* spp. Color de la colonia en medio de cultivo SNA (izquierda) y PDA (derecha). (A) TF, (B) TH1, (C) TR2 2.2, (D) TR2 3.3, (E) TJO 3.1, (F) TJO 2.2, (G) TCZA 1, (H) TP1 2.2.

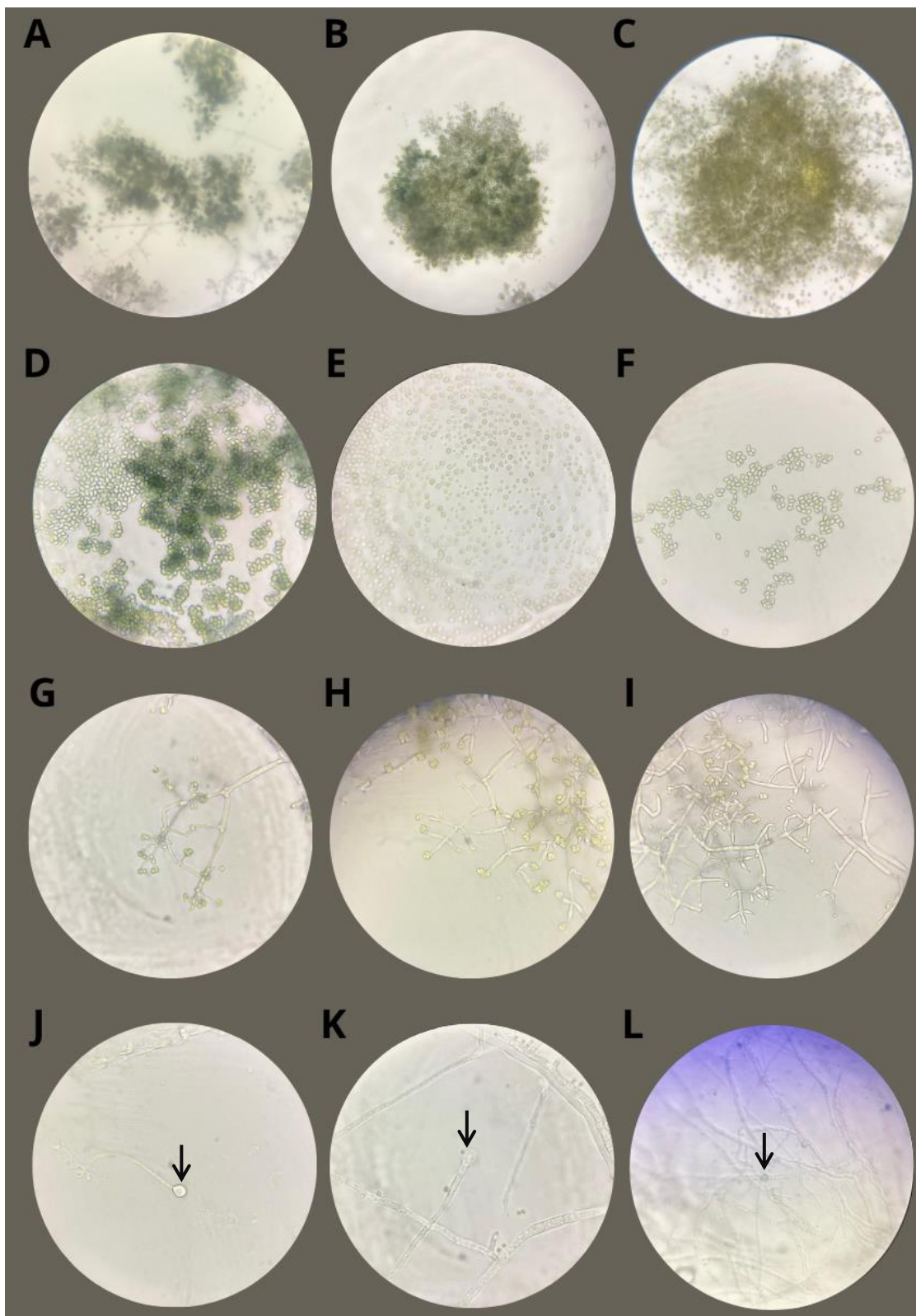


Figura 14. Morfología microscópica de *Trichoderma* spp. en medio de cultivo SNA. Pústulas conidiales (A) TF, (B) TP1 2.2, (C) TJO 3.1; conidios (100x) (D) TP1 2.2, (E) TR2 2.2, (F) TJO 2.2; conidióforos (G) TH1, (H) TJO 3.1, (I) TJO 2.2; clamidosporas (J) TJO 2.2, (K) TR2 2.2, (L) TP1 1.2.

7.2. Identificación de *Fusarium* spp.

Se aislaron 3 cepas de *Fusarium* spp. (P1, P2 y P3) provenientes de maíces con daño de pudrición (Figura 15) de la junta auxiliar de San Miguel Canoa, donde P1 se aisló de un maíz blanco y P2 y P3 de maíces de color azul. Las cepas P1 Y P3 presentaron morfología colonial de color rosa a morado y la cepa P2 presentó color melón. El micelio de las tres cepas fue algodonoso y blanco, con hifas hialinas. En todas las cepas se observaron macro conidios en forma de canoa y micro conidios ovoides oblongos (Figura 16). Los aislados presentaron crecimiento radial de 7 a 10 mm/día en P1 y P4; para P2 la velocidad de crecimiento fue de 5 a 7 mm/día (Tabla 7), llenando la placa de 90 mm de 8 a 12 días.



Figura 15. Muestras de maíz con aparente daño por *Fusarium* spp.

Cuadro 7. Comparación de características morfológicas de aislados de *Fusarium* spp.

Características		P1	P2	P3
Colonia	Crecimiento radial mm/día	PDAA: 7 - 10 mm/día	PDAA: 5 - 7 mm/día	PDAA: 8 - 10 mm/día
	Color	Rosa	Melón	Morado
	Forma	Algodonoso	Algodonoso	Algodonoso
Micelio	Color	Blanco	Blanco	Blanco
	Color de hifas	Hialinas	Hialinas	Hialinas
Macro conidios	Forma	Canoa	Canoa	Canoa
Micro conidios	Forma	Ovoides oblongos	Ovoides oblongos	Ovoides oblongos

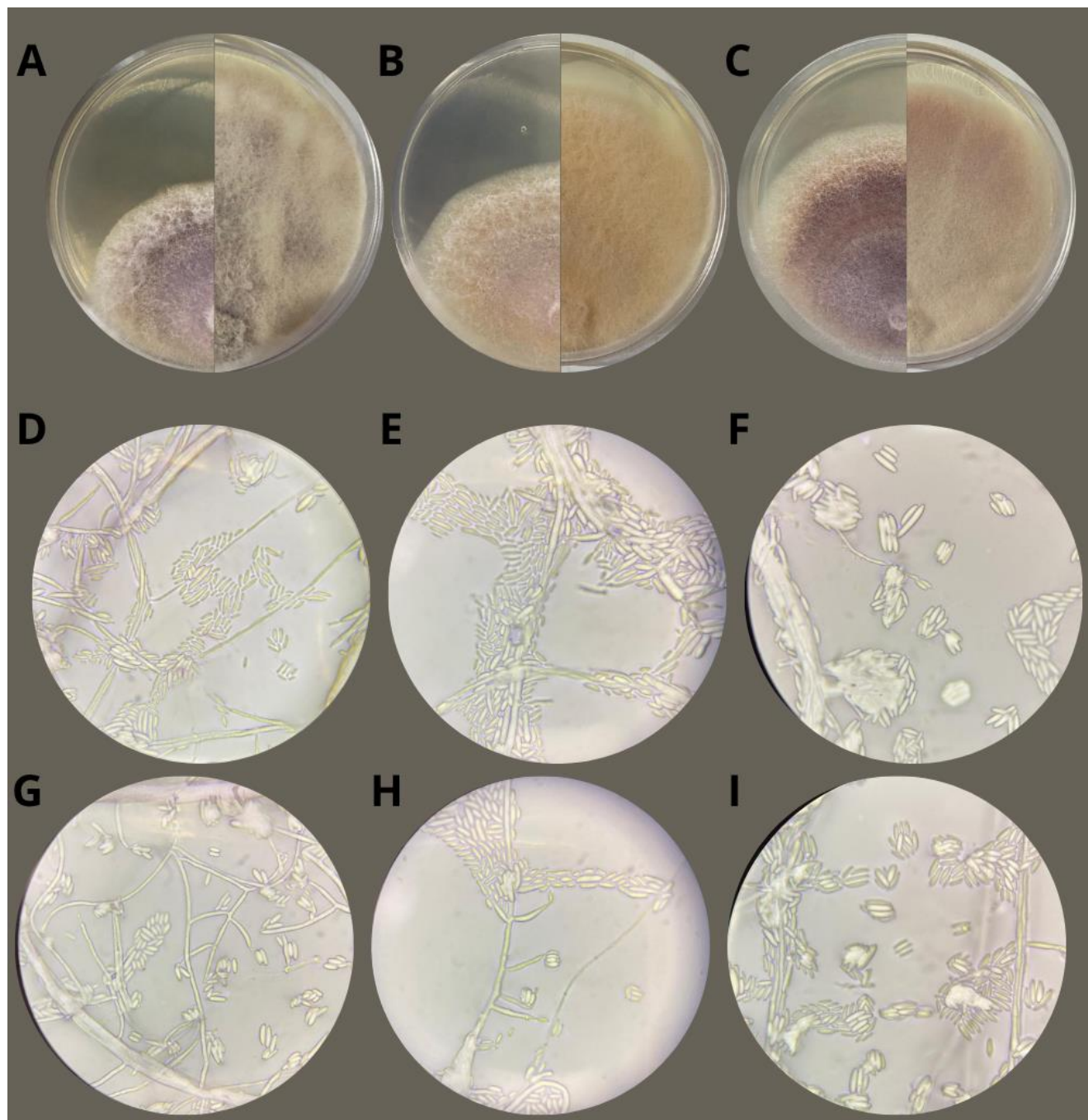


Figura 16. Morfología colonial (A) P1, (B) P2, (C) P3 y microscópica de *Fusarium* spp. en medio de cultivo PDAA; micro conidios (100x) (D y G) P1, (E y H) P2, (F y I) P3.

7.3. Evaluación del efecto antagónico de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium* spp.

La prueba de actividad antagónica *in vitro* de los aislados nativos de *Trichoderma* spp. sobre las tres cepas de *Fusarium* spp. mostraron resultados significativos.

De los 44 aislados de *Trichoderma* spp. obtenidos, únicamente 27 fueron seleccionados para el análisis estadístico. Esta selección se basó en un criterio de descarte previo, con el fin de optimizar la interpretación de los datos y evitar una sobrecarga de información. El criterio aplicado fue el siguiente: se descartaron aquellos aislados cuya media de inhibición del crecimiento radial, evaluada en cuatro repeticiones, correspondía a un valor igual a 3 o mayor en la escala Bell (1982), en al menos dos de los tres patógenos evaluados. Esta escala fue utilizada como indicador de la actividad antagónica. Por tanto, se conservaron únicamente aquellas cepas con mayor potencial de antagonismo para las comparaciones posteriores. En ese sentido, tenemos un total de 28 tratamientos, de los cuales 27 corresponden a las cepas nativas aisladas y uno a la cepa comercial, cada tratamiento tuvo 4 repeticiones, teniendo un total de 112 unidades experimentales.

24 de las cepas utilizadas inhibieron significativamente la cepa P1 de *Fusarium* spp. (Cuadro 8), con inhibición del 61.8% a 100%; para la cepa P2, 27 de los aislados nativos mostraron inhibición de 56% a 100% (Cuadro 9) y para la cepa P3, 26 cepas de *Trichoderma* spp. obtuvieron un porcentaje de inhibición de 53.75% a 97.50% (Cuadro 10).

El análisis de varianza para el patógeno P1 reveló un efecto significativo de los tratamientos sobre la variable PICR ($p < 0.0001$), con un valor F de 8.47 y un R^2 de 0.7314, lo que indica un buen ajuste del modelo. El coeficiente de variación fue del 15.55%. Las pruebas de Tukey y Scheffé confirmaron

diferencias significativas entre tratamientos, con umbrales mínimos de significancia de 0.3116 y 0.5358 unidades, respectivamente, permitiendo identificar tratamientos con mayor eficacia en la inhibición del patógeno. Las cepas de *Trichoderma* TJO 2.2 y TH1 mostraron mayor actividad antagónica para P1, con un porcentaje de inhibición de 100% escala 1 y 98.75% escala 2 respectivamente, seguidas por la cepa comercial (TC) que obtuvo una inhibición del 96.5% escala 2. Por otra parte, las cepas TCZA2, TR221 y TP232 presentaron el menor porcentaje de inhibición con medias de 48, 47.25 y 40.5 respectivamente, todas escala 3 (Cuadro 8) (Figura 18).

El análisis de varianza para el patógeno P2 mostró un efecto altamente significativo de los tratamientos sobre el PICR ($p < 0.0001$; $F = 8.55$), con un R^2 de 0.7333, lo que indica un buen ajuste del modelo. El coeficiente de variación fue de 12.94%, dentro de lo aceptable para estudios biológicos. Las pruebas de Tukey y Scheffé confirmaron diferencias significativas entre tratamientos, con umbrales mínimos de 0.2833 y 0.4871 unidades, respectivamente. Las cepas *Trichoderma* TP1 1.1, TP1 2.2, TP1 1.2, TJO 3.1 y TR2 3.2 mostraron mayor actividad antagónica para P2, con un porcentaje de inhibición de 100% escala 1, sin diferencia significativa entre ellas, seguidas por TH1 y la cepa comercial (TC) obteniendo una inhibición del 99.75% y 95% respectivamente escala 2. Las cepas TCZM 2, TCZB2, TCM 1.2 y TJO 2.1 presentaron el menor porcentaje de inhibición con medias de 59, 59, 58.75 Y 56 respectivamente, todas escala 3 (Cuadro 9) (Figura 17).

El análisis de varianza para el patógeno P3 mostró un efecto significativo de los tratamientos sobre el PICR ($p < 0.0001$; $F = 8.05$), con un R^2 de 0.7213, lo que indica un buen ajuste del modelo. El coeficiente de variación fue de 10.85%. Las pruebas de Tukey y Scheffé detectaron diferencias significativas entre tratamientos, con valores mínimos de 0.2272 y 0.3906 unidades, respectivamente. Para esta cepa de *Fusarium* contra las cepas nativas de *Trichoderma*, la cepa comercial (TC) mostro mayor porcentaje de inhibición,

97.5% escala 2, seguida por las cepas nativas TJO 2.2 y TH1 con medias de 95.25 y 95 respectivamente, ambas con escala 2 y sin diferencia significativa entre ellas. Las cepas con menor porcentaje de inhibición para P3 fueron TR1 2.2 y TH2 con medias de 53.75 y 48 ambas escala 3 (Cuadro 10) (Figura 19).

Se observaron evidencias consistentes de micoparasitismo por parte de *Trichoderma* spp. frente a los tres aislados de *Fusarium* spp. evaluados. Microscopía óptica reveló la presencia de hifas delgadas de *Trichoderma* enrollándose alrededor de hifas más gruesas de *Fusarium* spp., lo que constituye un indicio claro de micoparasitismo a través de mecanismos como el reconocimiento, el contacto, y la posible penetración a las estructuras del patógeno (Figura 20).

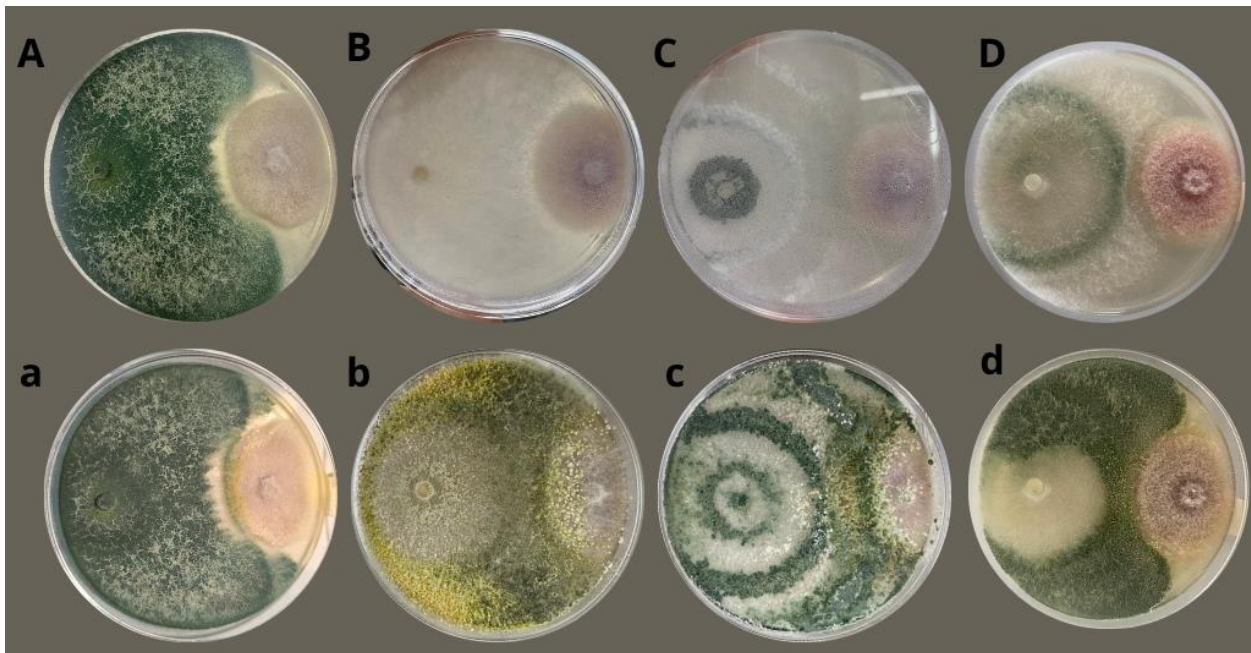


Figura 17. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. (izquierda) contra cepa P1 de *Fusarium* spp. (derecha) (A y a) TC (escala 2), (B y b) TJO 2.2 (escala 1), (C y c) TH1 (escala 2), (D y d) TP2 3.2 (escala 3). Letras mayúsculas 4 días después de inocular *Trichoderma* spp., minúsculas 8 días después de inocular *Trichoderma* spp.

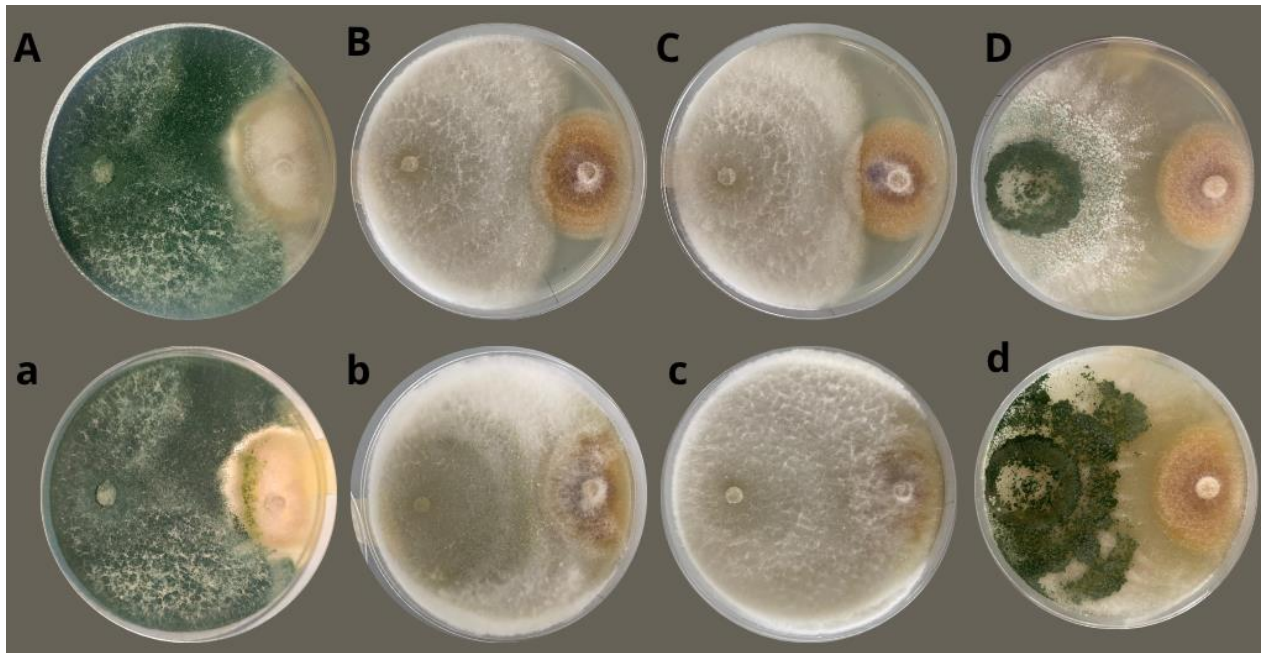


Figura 19. Antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp. (izquierda) contra cepa P2 de *Fusarium* spp. (derecha) (A y a) TC (escala 2), (B y b) TP1 1.1 (escala 1), (C y c) TP1 2.2 (escala 1), (D y d) TCM 1.2 (escala 3). Letras mayúsculas 4 días después de inocular *Trichoderma* spp., minúsculas 8 días después de inocular *Trichoderma* spp.

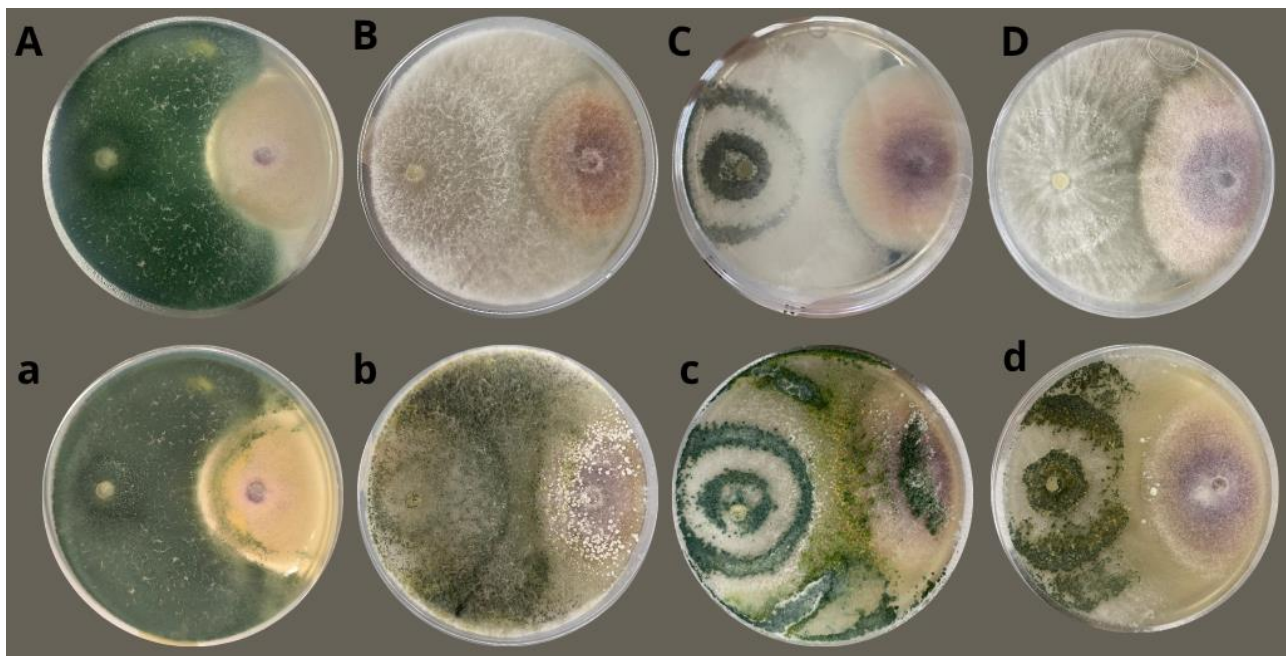


Figura 18. Antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp. (izquierda) contra cepa P3 de *Fusarium* spp. (derecha) (A y a) TC (escala 2), (B y b) TJO 2.2 (escala 2), (C y c) TH1 (escala 2), (D y d) TR1 2.2 (escala 3). Letras mayúsculas 4 días después de inocular *Trichoderma* spp., minúsculas 8 días después de inocular *Trichoderma* spp.

Cuadro 8. Antagonismo *in vitro* de 27 cepas nativas de *Trichoderma* spp. y 1 cepa comercial (TC) contra P1 de *Fusarium* spp., con puntaje (1-5) de acuerdo con la escala Bell *et al.* (1982).

Antagonismo de cepas nativas de <i>Trichoderma</i> spp.		
Cepa P1 <i>Fusarium</i> spp.		
Tratamiento	Medias PICR	Puntaje (escala Bell <i>et al.</i> (1982))
TJO 2.2	100.0% a	1
TH1	98.8% a	2
TC	96.5% ab	2
TR2 2.2	93.8% ab	2
TP1 1.2	93.0% ab	2
TH2	91.0% abc	2
TCM 1.1	86.0% abcd	2
TP1 1.1	85.8% abcd	2
TCZB 2	82.3% abcde	2
TJO 3.1	80.5% abcdf	2
TF	80.0% abcdef	2
TCZA 1	79.8% abcdef	2
TR2 3.2	77.0% abcdefg	2
TP1 2.2	75.0% abcdefg	2
TCZM1	73.3% abcdefg	2
TP1 2.1	72.3% abcdefg	2
TCM 1.2	72.3% abcdefg	2
TJO 2.1	69.5% abcdefgh	2
TP2 2.1	67.5% bcdefgh	2
TR2 1.1	67.5% bcdefgh	2
TCZM 2	66.3% bcdefgh	2
TR1 2.2	61.8% cdefgh	2
TCA 2.1	55.0% defgh	3
TCM 2.1	52.0% efgh	3
TR2 3.1	51.0% fgh	3
TCZA 2	48.0% gh	3
TR2 2.1	47.3% gh	3
TP2 3.2	40.5% h	3
Testigo	0%	5

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes.

Cuadro 9. Antagonismo *in vitro* de 27 cepas nativas de *Trichoderma* spp. y 1 cepa comercial (TC) contra P2 de *Fusarium* spp., con puntaje (1-5) de acuerdo con la escala Bell *et al.* (1982).

Antagonismo de cepas nativas de <i>Trichoderma</i> spp.		
Cepa P2 <i>Fusarium</i> spp.		
Tratamiento	Medias PICR	Puntaje (escala Bell <i>et al.</i> (1982))
TP1 1.1	100.0% a	1
TP1 2.2	100.0% a	1
TP1 1.2	100.0% a	1
TJO 3.1	100.0% a	1
TR2 3.2	100.0% a	1
TH1	99.8% a	2
TC	95.0% ab	2
TF	93.5% abc	2
TR2 2.2	93.0% abcd	2
TR2 1.1	92.8% abcde	2
TCZA 1	89.5% abcde	2
TP2 2.1	86.8% abcdef	2
TJO 2.2	85.0% abcdef	2
TCM 1.1	80.5% abcdefg	2
TP1 2.1	77.5% abcdefg	2
TH2	75.0% abcdefg	2
TP2 3.2	73.5% abcdefg	2
TR1 2.2	73.0% abcdefg	2
TCZA 2	73.0% abcdefg	2
TR2 2.1	72.8% abcdefg	2
TCZM 1	66.8% bcdefg	2
TCA 2.1	65.8% cdefg	2
TR2 3.1	64.8% defg	2
TCM 2.1	64.5% efg	2
TCZM 2	59.0% fg	3
TCZB 2	59.0% fg	3
TCM 1.2	58.8% fg	3
TJO 2.1	56.0% g	3
Testigo	0%	5

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes.

Cuadro 10. Antagonismo *in vitro* de 27 cepas nativas de *Trichoderma* spp. y 1 cepa comercial (TC) contra P3 de *Fusarium* spp., con puntaje (1-5) de acuerdo con la escala Bell *et al.* (1982).

Antagonismo de cepas nativas de <i>Trichoderma</i> spp.		
Cepa P3 <i>Fusarium</i> spp.		
Tratamiento	Medias PICR	Puntaje (escala Bell <i>et al.</i> (1982))
TC	97.5% a	2
TJO 2.2	95.3% ab	2
TH1	95.0% ab	2
TF	88.5% abc	2
TCZA 1	87.0% abc	2
TP2 3.2	85.3% abcd	2
TP1 1.1	85.0% abcd	2
TCZB 2	84.5% abcd	2
TR2 3.1	82.3% abcde	2
TP2 2.1	81.8% abcde	2
TJO 2.1	81.5% abcde	2
TCZM 1	80.3% abcde	2
TJO 3.1	78.8% abcde	2
TP1 1.2	78.0% abcde	2
TP1 2.1	78.0% abcde	2
TR2 2.2	77.8% abcde	2
TR2 3.2	77.8% abcde	2
TCM 1.1	76.5% abcde	2
TCZA 2	76.3% abcdef	2
TCZM 2	72.8% bcdef	2
TR2 2.1	70.0% cdefg	2
TR2 1.1	68.5% cdefg	2
TP1 2.2	68.0% cdefg	2
TCA 2.1	64.3% defg	2
TCM 2.1	63.0% defg	2
TCM 1.2	61.3% efg	2
TR1 2.2	53.8% fg	3
TH2	48.0% g	3
Testigo	0%	5

Medias con una letra en común no son significativamente diferentes.

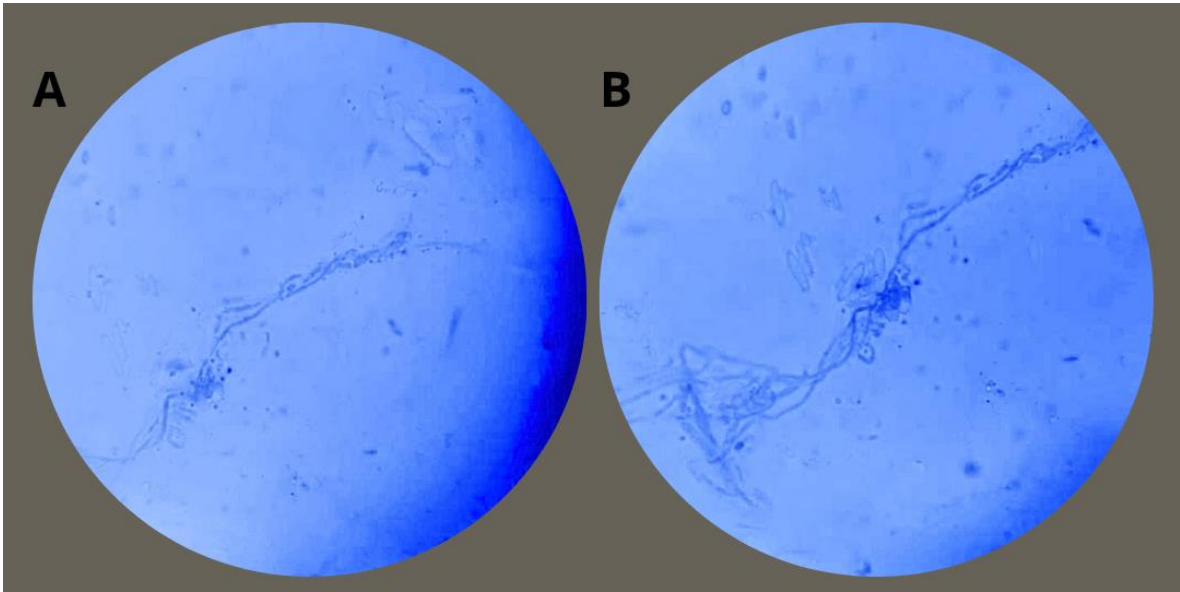


Figura 20. Microscopía de micoparasitismo en cultivos duales. (A) TH1 contra P3, (B) TP2 3.2 contra P3.

8. DISCUSIÓN

La presente investigación permitió la identificación y evaluación del potencial antagonico *in vitro* de 44 cepas nativas de *Trichoderma* spp. aisladas de suelos periurbanos del Valle de Puebla contra tres cepas del fitopatógeno *Fusarium* spp.

Los aislados nativos presentaron diversidad morfológica en cuanto a color, textura y tipo de micelio; sin embargo, todas compartieron características clave del género *Trichoderma*, como la presencia de conidios lisos, globosos, subglobosos y ovoides, conidióforos ramificados y fiálides lageniformes o ampuliformes. También se observó la formación de clamidosporas intercaladas y terminales que coincide con las claves taxonómicas descritas por Gary y Prakash (2015). Cabe resaltar que las cepas con micelio flocooso y velocidad de crecimiento superior a 15 mm/día tendieron a mostrar mayor eficacia antagonica.

Según la hipótesis propuesta, la cual plantea que al menos un aislado nativo presentaría igual o mayor efecto inhibitorio que una cepa comercial, fue confirmada a través de los análisis estadísticos aplicados.

La cepa TJO 2.2 mostró una inhibición del 100% contra la cepa P1 de *Fusarium*, superando a la cepa comercial (96.5%), mientras que TH1 obtuvo una inhibición de 98.8%. Ambas cepas se ubicaron en el grupo estadístico más alto según la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$), lo que indica que poseen un efecto antagonico significativamente superior o igual al del control comercial. En contraste, cepas como TP2 3.2, TR2 2.1 y TCZA 2 mostraron niveles bajos de inhibición (<50%), ubicándose en los grupos estadísticamente inferiores.

Para la cepa P2 de *Fusarium* spp., cinco cepas nativas (TP1 1.1, TP1 2.2, TP1 1.2, TJO 3.1 y TR2 3.2) alcanzaron una inhibición del 100%, todas estadísticamente iguales y superiores a la cepa comercial (95%). Este hallazgo resalta el alto potencial como biocontrol de múltiples cepas nativas frente a P2. Donde varias de estas cepas provienen de una misma localidad, lo que podría sugerir una adaptación ambiental favorable a este tipo de interacción microbiana.

La cepa comercial fue la más efectiva contra P3 (97.5%), sin embargo, fue seguida muy de cerca por las cepas TJO 2.2 (95.3%) y TH1 (95%), sin diferencias estadísticas significativas entre ellas. Este patrón refuerza la idea de que ciertas cepas nativas pueden igualar el rendimiento de productos comerciales, incluso frente a cepas patógenas diferentes.

Se observó que el mecanismo de acción de las cepas aisladas de *Trichoderma* en la mayoría de los tratamientos fue el micoparasitismo, pues una vez que se encontraban los microorganismos en la placa, *Trichoderma* comenzaba a crecer sobre *Fusarium*. Sin embargo, también se presencié la competencia de nutrientes al observar que el fitopatógeno disminuía considerablemente su crecimiento al transcurrir los días.

En conjunto, estos hallazgos respaldan la viabilidad de utilizar cepas nativas de *Trichoderma* spp. como agentes de control biológico y constituyen una base para futuras investigaciones en campo y estudios moleculares.

Es importante resaltar que los ensayos fueron realizados bajo condiciones controladas de laboratorio, lo cual representa una etapa preliminar esencial antes de su aplicación en campo. Si bien los resultados obtenidos muestran una alta efectividad de los tratamientos evaluados contra *Fusarium* spp., es previsible que dicha eficacia pueda disminuir en condiciones de campo abierto, donde factores ambientales y biológicos son más variables. Esta posible reducción no debe interpretarse como algo negativo, sino como una manifestación del principio fundamental del control biológico que no busca la erradicación total del organismo fitopatógeno, sino mantener sus poblaciones por debajo del umbral de daño económico.

Teniendo en cuenta lo anterior, aunque algunas cepas de *Trichoderma* spp. mostraron niveles de eficacia del 100% frente a *Fusarium* spp., esto no implica que deban ser descartadas, pues un control total no es deseable en estrategias de manejo agroecológico. En este sentido, se recomienda realizar pruebas complementarias en condiciones agroecológicas reales, con el fin de validar la

funcionalidad y estabilidad de las cepas seleccionadas dentro de sistemas productivos más complejos y ambientalmente variables.

9. CONCLUSIÓN

Las cepas nativas del género *Trichoderma* obtenidas de suelos de cultivos del valle de Puebla inhiben el crecimiento micelial *in vitro* de 3 fitopatógenos de *Fusarium* spp. proveniente de cultivos de maíz.

10. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar ensayos en condiciones de invernadero y a campo abierto para evaluar la eficacia de las cepas nativas más prometedoras (TJO 2.2, TH1, TP1 1.1, TP1 1.2, TR2 3.2) bajo variables ambientales reales y complejas.

Para complementar la identificación morfológica, se sugiere llevar a cabo análisis moleculares, secuenciación del ADN ribosomal que permitan confirmar la identidad taxonómica precisa de los aislados y detectar posibles especies o cepas con alto potencial biotecnológico. Y así a partir de las cepas con mejor desempeño, se recomienda desarrollar formulaciones para bioinsumos de fácil aplicación y viables para su uso para productores agrícolas de la región, siendo una alternativa a los insumos de síntesis química.

Se aconseja estudiar cómo estas cepas interactúan con otros microorganismos del suelo, así como su impacto sobre la microbiota benéfica y los cultivos.

11. BIBLIOGRAFÍA

- (4 de Octubre de 2023). Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/tree/?taxon=5506>
- (4 de Octubre de 2023). Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/taxonomy/tree/?taxon=5543>
- Aguilar, P. (2023). Auditoria Superior del Estado. Obtenido de <https://www.auditoriapuebla.gob.mx/sujetos-de-revision/cuentas-publicas/ayuntamientos/item/san-jeronimo-tecuaniapan>
- Alcantara, E. E., & Garza, P. &. (2020). Producción y calidad de conidios de cepas de entomopatógenos del género *Metarrhizium anisopliae*, aislados en zonas agrícolas del Estado de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* .
- Allouzi, M., Allouzi, S., Keng, Z., Supramaniam, C., & Singh, A. &. (2022). Liquid biofertilizers as a sustainable solution for agriculture. *Heliyon*, 1.
- Andrade, P., Luna, A., Osorio, E., Molina, E., Landero, N., & Barrales, H. (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 1259-1272.
- Avila, J., Avila, J., Martínez, D., & Rivas, F. (2014). El cultivo del maíz generalidades y sistemas de producción en el noroeste. Sonora: Universidad de Sonora.
- Barnett, H., & Hunter B. (1972). *Illustrated Genera of Fungi*. Minnesota: Burgess Publishing Company.
- Bell, D., Wells, H., & Markham, C. (1982). In Vitro Antagonism of *Trichoderma* species Against Six Fungal Plant Pathogens. *Phytopathology* 72, 379-380.
- Bezner, R., Madsen, S., Stuber, M., Liebert, J., Enloe, S., Borghino, N., . . . Prudhon, M. &. (2021). Can agroecology improve food security and nutrition? A review . *Global Food Security* , 1.
- Buechel, T. (4 de Octubre de 2023). PROMIX. Obtenido de <https://www.pthorticulture.com/es/centro-de-formacion/perfil-de-las-enfermedades-radiculares-fusarium/>
- CONAHCYT. (4 de Octubre de 2023). Obtenido de CONAHCYT: <https://conahcyt.mx/cibiogem/index.php/maiz>
- D., A. D. (1993). An adapted selective medium for the quantitative isolation of *Trichoderma* species. *Plant Pathology*, 686-690.

- Dosal, A., & Huerta, M. &. (2020). Percepción ambiental y el rompecabezas comunitario de San Jerónimo. *Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias* .
- Escobedo, H., Bahena, F., Alvarado, C., De la Torre, C., & Castolo, E. (14 de Junio de 2016). CIMMYT. Obtenido de Centro Internacional de Mejoramiento de Maz y Trigo: <https://idp.cimmyt.org/hongos-entomopatogenos-en-el-manejo-agroecologico-de-plagas/>
- FAO. (1993). *El maíz en la nutrición humana*. Roma: FAO.
- Gerwick, C., & Sparks, T. (2007). Can organic agriculture feed the world? *Renewable Agriculture and Food Systems*, 80-85.
- Godoy, J. (2007). Determinación de temperatura y humedad óptima para la germinación y esporulación de cinco aislamientos de *Beauveria bassiana*. *Rev. Fac. Agron.* [online], 415-425.
- González, F. (2021). *La agricultura y la alimentación en el centro de los 17 ODS*. Cartagena: Universidad Politécnica de Cartagena.
- Hellin, J., & Bellon, M. (2007). Manejo de semillas y diversidad del maíz. *LEISA revista de agroecología*, 9-11.
- Hernández, D., Ferrera, R., & Alarcón, A. (2019). Trichoderma: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistema de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean Journal of Agricultural*, 99.
- iNaturalist. (4 de Octubre de 2023). iNaturalist Ecuador. Obtenido de <https://ecuador.inaturalist.org/taxa/48448-Zea-mays>
- INEGI. (2017). *Anuario estadístico y geográfico de Puebla 2017*. Puebla: Instituto Nacional de Estadística y Geografía.
- INEGI. (2020). Data México. Obtenido de <https://datamexico.org/es/profile/geo/san-jeronimo-tecuaniapan#employment>
- Iraozqui, B. (2021). Identificación de especies de Trichoderma y su antagonismo in vitro contra *Sclerotium rolfsii* proveniente de cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) del norte de Sinaloa, México. Sinaloa: Tesis de Maestría Universidad Autónoma de Occidente.
- Mamani de Marchese, A., & Filippone, M. (2018). Bioinsumos: componentes claves de una agricultura sostenible. *Revista Agronómica del Noreste Argentino*, 9.
- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). Trichoderma spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista Protección Vegetal*, 1-11.

- Martínez, S., Andrade, P., Romero, O., Villa, N., & Landeta, G. &. (2021). Control in vitro de *Fusarium* sp. asociado al cultivo de cebolla mediante *Trichoderma harzianum*. *Revista Mexicana de fitopatología*, 314-328.
- Matas, A., Urías, C., Pérez, S., Flores, M., Escobedo, M., & Magallanes, M. &. (2022). Morphological and molecular characterization of a new autochthonous *Trichoderma* sp. isolate and its biocontrol efficacy against *Alternaria* sp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2621.
- Mendoza, M., López, A., Oyervides, A., Martínez, G., De León, C., & Moreno, E. (2003). Herencia Genética y Citoplásmica de la Resistencia a la Pudrición de la Mazorca del Maíz (*Zea mays* L.) Causada por *Fusarium moniliforme* Sheld. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 267-271.
- Mokobi, F. (29 de Septiembre de 2023). Microbenotes. Obtenido de <https://microbenotes.com/fusarium-spp/#treatment-prevention-control-and-management-of-fusarium>
- Monzón, A. (2001). Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Avances en el Fomento de Productos Fitosanitarios No-Sintéticos. Manejo Integrado de Plagas Costa Rica*, 95.
- Nava, E., Cipriano, G., & Elva, C. J. (2012). Bioplaguicidas: Una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 18.
- Nava, E., García, C., Camacho, J., & Elva, V. (2012). Bioplaguicidas: Una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 17.
- OMS. (1961). Toxicidad de los plaguicidas para el hombre: 12 informe del Comité de Expertos en Insecticidas. Ginebra: OMS.
- Ortiz, J., Hernández, G., Cruz, M., Figueroa, K., & Figueroa, B. &. (2013). Inhibición in vitro de aislamientos nativos de *Trichoderma* en presencia de la cepa comercial T22. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 126-137.
- Osorio, G. (2008). *Renewable Agriculture and Food Systems* . CIENCIA UANL, 77-81.
- Paliwal, R., Ginzalo, G., & Honor, L. (4 de Octubre de 2023). Obtenido de FAO: <https://www.fao.org/3/X7650S/x7650s00.htm#toc>
- Palomo, S., García, M., Hevia, V., Boeraeve, F., & Dendoncker, N. &. (2022). Do agroecological practices enhance the supply of ecosystem services? A comparison between agroecological and conventional horticultural farms . Elsevier , 1.

- Pérez, T. (6 de Octubre de 2023). Grupo Borau. Obtenido de <https://borauhermanos.com/principales-virosis-del-maiz/>
- PNUMA. (2022). Efectos de plaguicidas y fertilizantes sobre el medio ambiente y la salud y formas de reducirlos. ONU.
- Programa de Maíz del CIMMYT. (2004). Enfermedades del maíz: una guía para su identificación en el campo. Cuarta edición. México, DF.: CIMMYT.
- Rodríguez, R., & Wang, A. (2020). Efectividad a nivel in vitro de *Trichoderma* spp. nativos. *Agronomía Costarricense* 44, 109-125.
- SADER. (25 de Noviembre de 2023). Gobierno de México. Obtenido de SADER: <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/la-seguridad-alimentaria-con-soberania-objetivo-prioritario-de-este-gobierno-sader>
- SADER. (25 de Noviembre de 2023). Gobierno de Michoacán. Obtenido de <https://sader.michoacan.gob.mx/sader-sustituye-agroquimicos-por-microorganismos-para-combate-de-plagas-en-cultivos/>
- SAGARPA. (2017). Planeación agrícola nacional 2017-2030 maíz grano blanco y amarillo mexicano. México: SAGARPA.
- Samuels, G., & Hebbbar, P. (2015). *Trichoderma* Identification and agricultural applications. The American Phytopathological Society.
- SEMARNAT. (2023). SEMARNAT. Obtenido de http://dgeiawf.semarnat.gob.mx:8080/ibi_apps/WFServlet?IBIF_ex=D1_SAMBIENTAL04_01&IBIC_user=dgeia_mce&IBIC_pass=dgeia_mce&NOMBREENTIDAD=* &NOMBREANIO=*
- SENASICA. (2022). Directorio de laboratorios reproductores y comercializadores de agentes de control biológico en México. Colima, México: SADER.
- SENASICA. (2023). Ficha técnica *Fusarium* spp. . México: Dirección General de Sanidad Vegetal Dirección del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria .
- Sharma, A. (2020). *Trichoderma* Host Pathogen Interactions and Applications. India : Pratibha Sharma.
- SIAP. (4 de Octubre de 2023).
- Stocco, M. (2014). Control biológico de *Mycosphaerella graminicola*, patógeno de trigo, con cepas de *Trichoderma harzianum* caracterizadas por su morfología, fisiología, actividad enzimática y molecular . Argentina: Trabajo de Tesis para optar por el título de Doctor en Ciencias Naturales UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA.

- Suárez, L. &. (2008). Identificación de especies de cepas nativas de *Trichoderma* sp. y *Bacillus* sp. y evaluación de su potencial antagonista in vitro frente al hongo fitopatógeni nativo *Moniliophthora roreri* en el departamento de Norte de Santander. 47.
- Varón, F., & Sarria, G. (2007). ENFERMEDADES DEL MAIZ Y SU MANEJO. Palmira: ICA.
- Velarde, S., Valdez, N., Zamora, F., López, R., Melgoza, C., & Garzón, J. (2018). Molecular identification of *Fusarium* spp. isolated maize in Sinaloa, Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícola*, 1675-1689.

12. ANEXOS

12.1. Análisis estadístico

Código SAS

```
data datos;
  input Tratamiento $ Repeticion $ Patogeno $ PICR;
  datalines;
TC 1 P1 0.94
TC 2 P1 0.93
TC 3 P1 1.00
TC 4 P1 0.99
...
;
proc glm data=datos;
  class Tratamiento;
  model PICR = Tratamiento;

  /* Agrupación de medias tipo letras para Tukey y Scheffé */
  means Tratamiento / tukey lines scheffe lines;

  by Patogeno; /* Si tienes más de un patógeno */
run;
quit;

ods graphics off;
ods pdf close;proc sort data=datos;
  by Patogeno;
run;

ods output diffs=ComparacionesTukey;
proc glm data=datos;
  class Tratamiento;
  model PICR = Tratamiento;
  lsmeans Tratamiento / pdiff=all adjust=tukey;
  by Patogeno;
run;
```

Resultados de análisis estadístico

Información general		
Clase	Niveles	Valores
Tratamiento	28	TC TCA21 TCM11 TCM12 TCM21 TCZA1 TCZA2 TCZB2 TF TH1 TH2 TJO21 TJO22 TJO31 TP111 TP112 TP121 TP122 TP221 TP232 TR122 TR211 TR221 TR222 TR231 TR232 TZM1 TZM2
N.º observaciones leídas		112
Número de observaciones usadas		112

Análisis de varianza Patogeno=P1

Origen	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
Modelo	27	3.00518125	0.11130301	8.47	<.0001
Error	84	1.10342500	0.01313601		
Total corregido	111	4.10860625			

R-cuadrado	Var Coef.	Raíz MSE	Media de PICR
0.731436	15.55385	0.114612	0.736875

Origen	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
Tratamiento	27	3.00518125	0.11130301	8.47	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para PICR

Patogeno=P1

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	84
Error de cuadrado medio	0.013136
Valor crítico del rango estudentizado	5.43780
Diferencia significativa mínima	0.3116

Prueba de Scheffe para PICR

Patogeno=P1

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	84
Error de cuadrado medio	0.013136
Valor crítico de F	1.61885
Diferencia significativa mínima	0.5358

Análisis de varianza Patogeno=P2

Origen	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
Modelo	27	2.50678571	0.09284392	8.55	<.0001
Error	84	0.91180000	0.01085476		
Total corregido	111	3.41858571			

R-cuadrado	Var Coef.	Raíz MSE	Media de PICR
0.733282	12.93664	0.104186	0.805357

Origen	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
Tratamiento	27	2.50678571	0.09284392	8.55	<.0001

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para PICR Patogeno=P2

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	84
Error de cuadrado medio	0.010855
Valor crítico del rango estudentizado	5.43780
Diferencia significativa mínima	0.2833

Prueba de Scheffe para PICR Patogeno=P2

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	84
Error de cuadrado medio	0.010855
Valor crítico de F	1.61885
Diferencia significativa mínima	0.4871

Análisis de varianza Patogeno=P3

Origen	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
Modelo	27	1.51772411	0.05621200	8.05	<.0001
Error	84	0.58637500	0.00698065		
Total corregido	111	2.10409911			

R-cuadrado	Var Coef.	Raíz MSE	Media de PICR
0.721318	10.84943	0.083550	0.770089

Origen	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
Tratamiento	27	1.51772411	0.05621200	8.05	<.0001

**Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para PICR
Patogeno=P3**

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	84
Error de cuadrado medio	0.006981
Valor crítico del rango estudentizado	5.43780
Diferencia significativa mínima	0.2272

**Prueba de Scheffe para PICR
Patogeno=P3**

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	84
Error de cuadrado medio	0.006981
Valor crítico de F	1.61885
Diferencia significativa mínima	0.3906

12.2. Formulaciones

1. Hipoclorito 1%

Cloro comercial Cloralex	83.333 ml
Agua destilada	916.667 ml

2. Agar Dextrosa y Papa (PDA)

PDA	39 g
Agua destilada	1000 ml

*El medio se acidifica añadiendo ácido tartárico al 10%

3. Ácido tartárico 10%

Ácido tartárico	10 g
Agua destilada	100 ml

4. Medio Selectivo para Trichoderma (TSM)

MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2 g
K ₂ HPO ₄	0.9 g
KCl	0.15 g
NH ₄ NO ₃	1
Rosa de Bengala	0.15 g
D (+) Glucosa	3 g
Agar	20 g

*Biocidas por añadir tras el autoclavado

Cloranfenicol	0.25 g
Captan 80%	0.12 g
Previcur	1.2 ml
Agua destilada	1000 ml

5. Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA)

KH ₂ PO ₄	1 g
KNO ₃	1 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
KCl.....	0.5 g
Glucosa	0.2 g
Sacarosa	0.2 g
Agar	20 g
Agua destilada	1000 ml

6. Cornmeal dextrosa agar

Cornmeal	2 g
Dextrosa	10 g
Agar	15 g
Agua destilada	1000 ml