



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PROTECCION
AGRICOLA Y FORESTAL**

Etiología de enfermedades en el cultivo de piña (*Ananas comosus* L. cv. Monte lirio) y pruebas de antagonismo “*in vitro*” con *Trichoderma*. 2015-2016.

AUTORES

**Br. Marbely Solimar García Osorio
Br. Bryan Adolfo Orozco Gómez**

ASESORES

**Dr. Jorge Ulises Blandón Díaz
Lic. Isaías Sánchez Gómez**

MANAGUA, NICARAGUA

Agosto 2016



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PROTECCION
AGRICOLA Y FORESTAL**

Etiología de enfermedades en el cultivo de piña (*Ananas comosus* L.) cv. Monte Lirio y pruebas de antagonismo “*in vitro*” con *Trichoderma*. 2015-2016.

AUTORES

**Br. Marbely Solimar García Osorio
Br. Bryan Adolfo Orozco Gómez**

ASESORES

**Dr. Jorge Ulises Blandón Díaz
Lic. Isaías Sánchez Gómez**

Presentado al honorable tribunal examinador como requisito para optar al grado de
Ingeniero en Sistemas de Protección Agrícola y Forestal

**MANAGUA, NICARAGUA
Agosto 2016**

Hoja de aprobación del Tribunal Examinador

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable Tribunal Examinador designado por el Decanato de la Facultad de Agronomía como requisito parcial para optar al título profesional de:

Miembros del Tribunal Examinador

Presidente

Secretario

Vocal

Lugar y Fecha (día/mes/año) _____

INDICE

Sección	Página
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
INDICE DE CUADROS.....	iii
INDICE DE FIGURAS.....	iv
INDICE DE ANEXOS.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCION.....	1
II. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivo general.....	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
III. MATERIALES Y METODOS.....	4
3.1. Ubicación del estudio.....	4
3.2. Diseño metodológico.....	4
3.2.1. Fase de campo.....	4
3.2.2. Fase de laboratorio e invernadero.....	5
3.2.3. Pruebas de patogenicidad en invernadero.....	7
3.3. Variables evaluadas.....	13
3.4. Análisis de datos.....	13
IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	14
4.1. Identificación de microorganismos.....	15
4.2. Aislamiento de hongos partir de material vegetal enfermo y asintomático.....	15
4.3. Pruebas de patogenicidad en invernadero.....	17
4.4. Severidad de las enfermedades en invernadero.....	18
4.5. Evaluación in vitro de aislados de Trichoderma para el manejo de los principales patógenos en el cultivo de piña.....	22
4.6. Pruebas de antagonismo “in vitro”.....	26
4.7. Categorías Escala de Belt.....	28
V. CONCLUSIONES.....	29
VI. RECOMENDACIONES.....	30
VII. LITERATURA CITADA.....	31
VIII. ANEXOS.....	34

DEDICATORIA

A Dios por concedernos la sabiduría necesaria y las fuerzas para seguir adelante en cada circunstancia.

A nuestros padres Ana Mercedes Gómez y Augusto Cesar Orozco, Paula Osorio Delgado y Salomón Antonio García por ser nuestro apoyo incondicional y enseñarnos el camino para ser mejores personas cada día.

A nuestros amigo Camilo José Palma por apoyarnos en todo este tiempo de realización del trabajo.

A todas aquellas personas que nos apoyaron directa e indirectamente durante este proceso.

Br. Marbely Solimar García Osorio
Br. Bryan Adolfo Orozco Gómez

AGRADECIMIENTO

A Dios quien es el que nos provee las fuerzas y la paciencia para soportar las adversidades de la vida y la fe para seguir adelante a pesar de todas las cosas que se nos presentan en el camino.

A nuestros familiares que nos han brindado apoyo incondicional y han creído en nosotros ya que son el pilar de nuestra formación y la razón por el cual hemos llegado hasta aquí.

A nuestros asesores Dr. Jorge Ulises Blandón Díaz y Lic. Isaías Sánchez Gómez que nos brindaron su apoyo y creyeron en nuestra capacidad para realizar este trabajo investigativo y por su disponibilidad.

A todas aquellas personas que directa e indirectamente se vieron involucrado en la realización de este trabajo.

Gracias!!!

Br. Marbely Solimar García Osorio
Br. Bryan Adolfo Orozco Gómez

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Escala para la cuantificación de severidad de enfermedades causadas por <i>Colletotrichum</i> y <i>Curvularia</i> en hojas de piña cv. Monte Lirio.....	8
2. Escala ordinal para la evaluación de la severidad de la pudrición del cogollo de la piña causado por <i>Fusarium</i>	8
3. Tratamientos para la evaluación de porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) de los patógenos y grado antagónico de los aislados de <i>Trichoderma</i>	11
4. Escala para la evaluación de la capacidad antagónica de los biocontroladores.....	12
5. Clasificación de los Aislados de <i>Trichoderma</i> de las comunidades.....	28

INDICE DE FIGURAS

Figura	pagina
1. Diagrama de diluciones en serie de muestras de suelo para obtener cultivos puros de hongos que afectan al cultivo de piña.....	6
2. Crecimiento radial patógeno y antagonista.....	10
3. Identificación de microorganismos en el cultivo de piña de las diferentes comunidades.....	14
4. Frecuencias de organismos encontrados por comunidad en muestras de tejido y de raíces.....	16
5. Frecuencias de organismos encontrados por comunidad en muestras de suelo.....	18
6. Comparación de síntomas producidos por <i>Fusarium</i> sp en invernadero (A) y campo (B).....	18
7. Comparación de síntomas producidos por <i>Curvularia</i> sp en invernadero (A) y campo (B).....	17
8. Comparación de síntomas producidos por <i>Colletotrichum</i> sp en invernadero (A) y campo (B).....	18
9. Curva del progreso de la severidad del patógeno <i>Fusarium</i> sp. Asociado a la pudrición de raíces de piña. <i>Fusarium</i> sp aislado de la comunidad cebadilla (Fusceb), El edén (Fusced), La Francia II (Fusfra2), La Francia III (Fusfra3), Las Perlas(Fuslp) y Pablo Calero (Fuspc).....	19
10. Curva del progreso de la severidad del patógeno <i>Curvularia</i> sp. Asociado a manchas foliares en piña. <i>Curvularia</i> sp aislado comunidad cebadilla (Curceb), El edén (Curced), La Francia II (Curfra2), La Francia III (Curfra3), Las Perlas(CurLp) y Pablo Calero(Curpc).....	20
11. Curva del progreso de la severidad del patógeno <i>Colletotrichum</i> sp. Asociado a marchitamiento del ápice de las hojas de piña. <i>Colletotrichum</i> sp aislado comunidad cebadilla (Colceb), El edén (Colced), La Francia II (Colfra2), La Francia III (Colfra3), Las Perlas(ColLp) y Pablo Calero (Colpc).....	21

12. Crecimiento radial de los aislados de <i>Trichoderma</i> sp. Seleccionadas para enfrentamientos duales a los cuatro días de establecidas las pruebas <i>in vitro</i>	23
13. Crecimiento radial en mm hr ⁻¹ de los diferentes aislados de <i>Curvularia</i> sp. (Curved, Curved, Curfra2, Curvfra3, Curvlp, Curpc) seleccionadas para enfrentamiento duales a los cuatro días de establecidas las pruebas <i>in vitro</i>	24
14. Crecimiento radial en mm hr ⁻¹ de los diferentes aislados de <i>Colletotrichum</i> sp. (Colced, Coled, Colfra2, Colfra3, ColLp, Colpc) seleccionadas para enfrentamiento duales a los seis días de establecidas las pruebas <i>in vitro</i>	25
15. Crecimiento radial en mm hr ⁻¹ de los diferentes aislados de <i>Fusarium</i> sp. (Fusceb, Fused, Fusfra2, Fusfra3, Fuslp, Fuspc) seleccionadas para enfrentamiento duales a los seis días de establecidas las pruebas <i>in vitro</i>	26
16. porcentaje de Inhibición del crecimiento radial (PICR) en cultivos duales de <i>Colletotrichum</i> sp, <i>Curvularia</i> sp, <i>Fusarium</i> sp con <i>Trichoderma</i> sp aislados de las comunidades Francia 2 (F2), Francia 3(F3), Pablo Calero(PC), Las perlas(LP), El Edén (ED) y el Testigo (TG) durante 7 días de evaluación.....	27
17. Inhibición del crecimiento radial por aislados de <i>Trichoderma</i> sp sobre <i>Colletotrichum</i> sp (A), <i>Curvularia</i> sp (B), <i>Fusarium</i> sp (C) a los siete días de establecido las pruebas <i>in vitro</i>	27
18. Antagonismo por competencia por aislados de <i>Trichoderma</i> sp sobre <i>Colletotrichum</i> sp (A) <i>Curvularia</i> sp (B) y <i>Fusarium</i> sp (D).....	28

INDICE DE ANEXOS

Anexo	Página
1. Análisis de varianza y pruebas de separación de medias Tukey del porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de cada uno de los patógenos aislados.....	34
2. Análisis de varianza y prueba de separación de medias Tukey del crecimiento radial de los diferentes aislados de <i>Curvularia</i> sp, <i>Colletotrichum</i> sp, <i>Fusarium</i> sp.....	36
3. Modelos de comparación de la Enfermedad.....	38
4. Tablas porcentajes de frecuencia.....	39

RESUMEN

En este estudio se logró identificar los agentes patógenos que causan pudrición de raíces en el cultivo de piña c.v Monte Lirio como es el caso de *Fusarium*, manchas foliares por *Curvularia* y marchitez del ápice por *Colletotrichum*. La frecuencia de estos organismos en promedios fue de 60-70% para *Fusarium*, 45-60% para *Curvularia* y de 35-60% para *Colletotrichum* en el caso de muestras de tejido, pero en muestras de suelo fue entre 50-70% *Fusarium* y fue el único patógeno encontrado en muestras de suelo. La capacidad patogénica de estos fue probada en condiciones de invernadero mediante los postulados de Koch resultando patogénicos, mediante estas pruebas se logró una reproducción similar de los síntomas observados en campo. La severidad de la enfermedad que estos patógenos causaron fueron evaluadas utilizando una escala de severidad y después graficados en curvas del progreso de la severidad del patógeno. El hongo *Fusarium* causó más del 90% de severidad seguido de *Curvularia* con 80% y *Colletotrichum* con un 60% de severidad. Se midió el crecimiento radial de los patógenos y el antagonista en condiciones de laboratorio. El análisis de varianza al ($p < 0,0001$, $\alpha = 0.05$) mostró que hubo diferencias significativas. Los resultados mostraron que para el caso *Trichoderma* sp el ritmo de crecimiento fue de 1.21 mm hr^{-1} a los cuatro días de establecido los ensayos *in vitro*, *Curvularia* de 1.29 mm hr^{-1} , *Colletotrichum* mostró un crecimiento de 1 mm hr^{-1} , *Fusarium* fue de 1.12 mm hr^{-1} a los seis días de establecidos. Se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) así como el grado de antagonismo de cada uno de los aislados. La inhibición de los aislados de *Trichoderma* estuvo en el rango de 60 a 80% y se ubicaron en la categoría I y II por lo tanto se consideran altamente antagonistas.

Palabras claves: hongos fitopatógenos, piña, identificación, epidemiología.

ABSTRACT

In this study, pathogens that cause root rot such as *Fusarium*, *Curvularia* leaf spots and apex wilting by *Colletotrichum*, were identified. The frequency of these organisms were 60-70% averages for *Fusarium*, *Curvularia* 45-60% to 35-60% and to *Colletotrichum* in the case of tissue samples but in soil samples was between 50-70% of *Fusarium* however It was the only pathogenic found in soil samples. The pathogenicity of these were tested under greenhouse conditions by means of Koch's postulates result pathogenic through these tests a similar reproduction of symptoms observed in the field was achieved. The severity of the disease that these pathogens caused were evaluated using a severity scale and then graphed in progress curves severity of the pathogen being the *Fusarium* fungus which obtained more than 90% followed by *Curvularia* with 80% and *Colletotrichum* with 60% severity which gives us a pattern of damage they can cause in the field. Radial growth of pathogens and the antagonist in laboratory conditions was measured by analysis of variance was performed ($p < 0.0001$, $\alpha = 0.05$) which showed that there were significant differences. The results showed that for the case *Trichoderma* sp growth rate was 1.21 mm hr^{-1} to the four days of in vitro assays established, *Curvularia* of 1.29 mm hr^{-1} , *Colletotrichum* rate of 1.00 mm hr^{-1} *Fusarium* was 1.12 mm hr^{-1} six days of established. The percentage inhibition of radial growth (PIRG) and the degree of antagonism of each of the strains, showed that inhibition of the *Trichoderma* isolates ranged from 60% to 80% and placed in category I and II was determined therefore they considered highly antagonists.

Key words: phytopathogenic fungi, pineapple, identification, epidemiology

I. INTRODUCCION

La piña (*Ananás comosus*) es una planta herbácea perenne, perteneciente a la familia de las bromeliáceas son originaria de las Américas, y más precisamente de América del sur, su centro de origen está situado entre los 15° y 30° de latitud sur y los 40° y 60° de longitud oeste y comprende en particular el sur de Brasil, el norte de Argentina y el Paraguay (INTA, 2001).

Según estimaciones de la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO), se calcula que para 2014 la producción mundial de frutas tropicales llegará a 82 millones de toneladas; el 78 % corresponde a las “frutas principales” (mango, piña, aguacate y papaya) y el 22 % a las “frutas secundarias” (litchi, rambután, guayaba y maracuyá). Los países en desarrollo representan alrededor del 98 % de la producción total, mientras que los países desarrollados representan el 80 % del comercio mundial de importaciones (FAOSTAT, 2013).

La producción de piña es de importancia económica para las zonas tropicales y subtropicales del mundo, es el segundo fruto tropical producido después del mango. Los principales productores de piña se encuentran en Asia-Pacífico (Tailandia, India, Filipinas, China, Vietnam y Malasia) con el 47 % de la producción mundial. En América Latina los principales productores son Brasil y Costa Rica, ocupando el segundo y tercer lugar a nivel mundial respectivamente (FAOSTAT, 2013).

La piña fue introducida como cultivo a Nicaragua por primera vez desde Honduras, en el año 1958 con la variedad monte lirio y posteriormente se introdujo la variedad cayena lisa desde Costa Rica, en 1988. Actualmente el cultivo de la piña es uno de los que presenta mejores perspectivas socioeconómicas para Nicaragua, concentrándose la producción en cuatro zonas principales: Zona I que comprende algunas áreas del departamento de León, Zona II Masaya, Granada, Carazo y Rivas, Zona III solamente en el municipio de Nueva Guinea y Zona IV Managua (Ticuantepé) (López Díaz, 1995).

El mayor volumen de la producción se concentra en Ticuantepe, cerca de la ciudad de Managua. La mayor parte de la producción se encuentra en manos de cooperativas, las cuales agrupan aproximadamente a unos 350 productores. Se estima que actualmente se cultivan más de 1400 ha/año, con una producción promedio de 27,000 frutos/ha/año. La variedad más utilizada es Monte Lirio, la cual es muy apreciada en el mercado interno, pero de menor aceptación en el mercado internacional (INTA, 2001).

Conocer el agente o los agentes causales de las enfermedades es de mucha importancia para saber ante que microorganismos nos enfrentamos a la hora de dar una alternativa de manejo es por eso que en este sentido Agrios (2006) señala que el objetivo principal de los estudios etiológicos es el conocer las alteraciones fisiológicas o anomalías funcionales del hospedero o cualquiera de sus partes o productos que se suscitan durante el desarrollo de las enfermedades.

En Nicaragua han reportado oficialmente algunos patógenos que afectan al cultivo de la piña tales como: *Fusarium sp.*, *Curvularia sp.*, *Phytophthora sp.*, (MAGFOR-DGPSA, 2004) sin embargo no se han brindado alternativas no químicas para el manejo de estos problemas fitosanitarios de origen criptogámico. El uso del género *Trichoderma* como alternativa biológica para el control de diferentes enfermedades fúngicas que afectan los cultivos es claramente evidenciado ya que posee buenas cualidades para el control como: hiperparásito competitivo, adaptable a diferentes nichos ecológicos y producen metabolitos antifúngicos, Los mecanismos por los cuales las cepas del género *Trichoderma* desplazan al fitopatógeno son fundamentalmente de tres tipos: competencia directa por espacio, antibiosis y parasitismo (Ezzayani, 2004).

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Generar información acerca de los agentes causantes de enfermedades en el cultivo de piña cv. Monte Lirio en el Municipio de Ticuantepe y de aislados del hongo antagonista *Trichoderma*, como potencial agente de control biológico de patógenos en el cultivo de piña.

2.2. Objetivos específicos

- i) Identificar los agentes fitopatógenos que afectan el cogollo y las raíces de las plantas de piña en campo.
- ii) Evaluar la capacidad patogénica de los diferentes microorganismos encontrados afectando el cultivo de piña en campo y el progreso de las enfermedades en condiciones de invernadero.
- iii) Determinar mediante pruebas de antagonismo “in vitro” la capacidad inhibitoria que tienen los aislados del hongo antagonista *Trichoderma* sp., sobre el crecimiento de los agentes causantes de enfermedades en el cultivo de piña.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Ubicación del estudio

El estudio se realizó en el Laboratorios de Microbiología y en el invernadero del departamento de protección agrícola y forestal de la Universidad Nacional Agraria, ubicada en el km 12 ½ carretera norte Managua, en las coordenadas 12°08´ de latitud Norte y 86°09´ longitud Oeste.

El tipo de estudio fue descriptivo de corte transversal, el cual genero información acerca de las enfermedades incidentes que afectan el cultivo de piña cv. Monte Lirio en el Municipio de Ticuantepe y agentes de control biológico. El tipo de muestreo fue no probabilístico tomando como criterios de inclusión, las zonas con mayor producción de piña, altura de las localidades, fácil acceso al sitio y la disponibilidad de los productores para participar en el estudio.

3.2. Diseño metodológico

El estudio se realizó en dos fases; la de campo para la recolección de muestras y la de laboratorio e invernadero para aislamiento de los microorganismos causantes de daño y pruebas de patogenicidad respectivamente.

3.2.1. Fase de campo

a) Selección de los sitios de recolección de las muestras

Las muestras fueron colectadas en seis comunidades del municipio de Ticuantepe, Departamento de Managua, el cual está ubicado entre las coordenadas 12° 01' de latitud norte y 86°12' longitud oeste. Sus temperaturas medias oscilan entre los 22° y 28°C, se encuentra a 300 msnm la parte central y norte hasta los 600 msnm en todo el oeste, encontrándose aquí los puntos más altos del municipio. Se considera que el 60% del territorio presenta una topografía accidentada y estas en su mayoría son utilizadas para el

cultivo de piña (INIFOM, 2015). Se seleccionaron 6 comunidades dentro del municipio y en cada comunidad se seleccionó una finca donde se cultiva piña a nivel comercial, las comunidades seleccionadas fueron: Cebadilla, Pablo Calero, Las Perlas, El Edén, Francia II y Francia III.

b) Recolección de material enfermo y muestras de suelo

En cada finca se seleccionó 5 sitios y en cada sitio se examinaron 10 plantas para un total de 50 plantas por finca. Se tomaron además 2 muestras de suelo por cada sitio de muestreo para un total de 10 muestras de suelo por finca. Las muestras de suelo se tomaron a una profundidad de 20 cm alrededor de la planta de piña, con un peso aproximado de 1Kg, posteriormente se depositaron en bolsas plásticas protegidas de la luz. El material vegetal que presentó síntomas de pudriciones blandas y/o cualquier otro tipo de sintomatología se recolectó en bolsas de papel y fue depositado en bolsas plásticas para luego ser trasladadas al Laboratorio de Microbiología de la UNA. También se colectó material vegetal que no presentaba síntomas, en las proximidades del material vegetal enfermo.

3.2.2. Fase de laboratorio e invernadero

a) Aislamiento de hongos a partir de material vegetal enfermo y asintomático

Las plantas de piña enfermas se lavaron bajo el chorro de agua potable para eliminar exceso de tierra. Se cortaron trozos de 5 mm² entre tejido sano y enfermo, se desinfectó por inmersión en etanol al 70% posteriormente se removió el exceso de etanol con agua destilada estéril por 20 segundos y se secaron con toallas de papel absorbente estéril. Se colocaron 5 trozos en medio de cultivo PDA (papa-dextrosa-agar) + Ácido láctico para hongos (Alvarado-Rosales et al., 2007) por cada aislado se sembraron 3 replicas. Posteriormente, los crecimientos miceliales se transfirieron a medio PDA para la obtención del cultivo puro del patógeno.

b) Aislamiento de hongos a partir de muestras de suelo

Para la obtención de cultivos puros de hongos a partir de muestras de suelo se realizó la técnica diluciones en serie, la cual se detalla a continuación. De las muestras de suelo extraídas se tomarán 10 gramos y se diluyeron en Erlenmeyer con 90 ml agua destilada estéril (ADE), se agito con fuerza para homogenizar la solución. Posteriormente se transfirió 1 ml de la solución madre a un tubo con 9 ml de ADE transfiriendo a cada uno de los tubos desde 10^{-1} hasta 10^{-5} . De la dilución 10^{-3} y 10^{-4} se tomó 10 μ l con una pipeta para ser depositado en un plato Petri con medio PDA suplementado con ácido láctico y se extendió cuidadosamente el inóculo sobre la superficie de la placa con la ayuda de una varilla de vidrio acodada (espátula de Drigalsky) estéril (Figura 1).

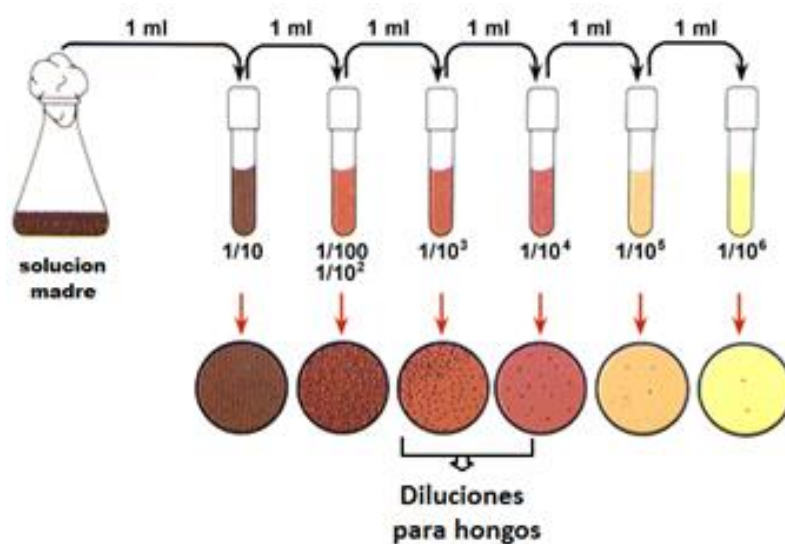


Figura 1. Diagrama de diluciones en serie de muestras de suelo para obtener cultivos puros de hongos que afectan al cultivo de piña.

c) Identificación y frecuencia de microorganismos en tejido vegetal y suelo

Para la identificación de los microorganismos aislados de suelo y de material vegetal se utilizaron claves donde se describen la morfología. Se utilizó la clave de Barnett y Hunter (1999). La frecuencia de los microorganismos aislados se calculó en laboratorio de las muestras se contó el número de colonias que crecían en cada plato Petri y se tomó en tablas diseñadas en las que se refleja en que puntos y partes de la planta se encontraron (Anexo 4).

3.2.3. Pruebas de patogenicidad en invernadero

Se utilizaron hijos de piña de la variedad Monte Lirio las cuales se sembraron en macetas de 2 kg de capacidad. Se aplicó abono 12-30-10 (abono completo) en dosis de 5 g por maceta. La preparación del inóculo se realizó de los cultivos puros de cada microorganismo causante de daño. Se utilizaron 90 plantas de piña en total. Se inocularon 24 plantas por cada aislado de los posibles patógenos procedentes de cada una de las comunidades. Se realizaron pruebas de patogenicidad siguiendo los postulados de Koch, mediante inoculación vía heridas en raíces para *Fusarium* e inoculación foliar para *Colletotrichum* y *Curvularia*. Simultáneo a las pruebas de patogenicidad, se determinó la severidad de las enfermedades utilizando la escala de Bowen (2008) para enfermedades foliares (*Colletotrichum* y *Curvularia*) y la escala ordinal de severidad de Souza et al., (2011) para pudriciones radiculares y del cogollo causadas por *Fusarium* (Cuadros 1 y 2 respectivamente). Se tomaron cinco hojas al azar para la cuantificación de la severidad. Para estimar de forma más precisa la intensidad de la enfermedad, los rangos de severidad obtenidos en cada una de las escalas se transformaron a índice de enfermedad mediante la fórmula de Townsend-Heuberger (1943):

$$I = \left(\frac{\sum n \times v}{iN} \right) \times 100$$

Donde:

I = porcentaje de intensidad de ataque del patógeno

$(n \times v)$ = total de plantas con un grado por su respectivo grado de la escala

N = total de plantas evaluadas

i = grado máximo de la escala ($i = 5$)

Cuadro 1. Escala para la cuantificación de severidad de enfermedades causadas por *Colletotrichum* y *Curvularia* en hojas de piña cv. Monte Lirio (Bowen, 2008).

Grado	Rango de severidad (%)
0	0
1	0-20
2	20-40
3	40-60
4	60-80
5	80-100

0= sin enfermedad; 1=Pocas lesiones bien formadas en las hojas o lesiones en tallos superficiales; 2=pocas lesiones bien formadas en hojas o lesiones ampliadas en tallos; 3=Muchas lesiones grandes en hojas o lesiones profundo en tallos con bastante esporulación o una planta con más del 50% de defoliación; 4=Muchas lesiones grande o lesiones de tallo con más del 75% del área de la planta afectada o defoliada; 5=planta defoliada en gran medida las hoja o tallos con lesiones y abundante esporulación esta escala se utilizó para patógenos foliares.

Cuadro 2. Escala ordinal para la evaluación de la severidad de la pudrición del cogollo de la piña causado por *Fusarium* (Souza et al., 2011).

Grado	Descripción
0	Sin síntomas
1	Pudrición inicial del cogollo
2	Pudrición leve del cogollo
3	Pudrición media del cogollo
4	Pudrición severa del cogollo
5	Pudrición total del cogollo y la planta

- **Método de inoculación de *Fusarium***

Se utilizó la técnica de inoculación por heridas las cuales fueron equidistantes a la base de la planta. La concentración de conidias fue determinada por conteo en el hemacitómetro de Neubauer y fue ajustada a una concentración de 1×10^5 conidias/ml Las heridas se realizaron con bisturí y la inoculación se realizó con una pipeta 5 ml (Matos y Cabral, 2006).

- **Método de inoculación de *Colletotrichum* y *Curvularia***

La concentración de conidios se ajustó a 20×10^4 conidios/ml La suspensión de conidios se depositó en frascos asperjadores plásticos previamente lavados con detergente y desinfectados con alcohol al 70%. La inoculación se realizó de manera independiente, maceta a maceta en todas las hojas, e inmediatamente fueron cubiertas con bolsas de nailon transparente a fin de crear condiciones favorables al patógeno durante 72 hrs a temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). Se sembró dos testigos, uno asperjado con agua destilada estéril y sin asperjar (Estrada y Sandoval, 2004).

3.2.4. Evaluación in vitro de los aislados de *Trichoderma* para el manejo de los principales patógenos en el cultivo de piña

No se hizo una selección rigurosa de los aislados de *Trichoderma* que fueron usadas para las pruebas de antagonismo “*in vitro*”, sino que se aislaron de los mismas muestras que se procesaron para el aislamiento de los patógenos de suelo y foliares de la piña. Estos fueron encontrados también en los mismos platos Petri donde crecían los patógenos, donde se pudo observar de forma preliminar que inhibían el crecimiento de los patógenos. Posteriormente se siguió un procedimiento de selección el cual consistió en probar aquellos aislados de *Trichoderma* que tuvieran un crecimiento rápido en el medio de cultivo donde fueron purificadas. El rápido crecimiento de las aislados de *Trichoderma* está asociado a su habilidad para controlar patógenos de plantas (Matroudi et al., 2009). Los aislados de *Trichoderma* fueron identificados a nivel de género mediante la clave de (Barnett y Hunter 1999) antes de proceder con las siguientes etapas del experimento, las cuales fueron la medición del crecimiento radial tanto del patógeno como del antagonista y con las pruebas de antagonismo “*in vitro*” propiamente dichas.

a) Crecimiento radial de los patógenos y el antagonista

Para el crecimiento radial se colocaron discos de 5 mm proveniente de cultivos puro de *Trichoderma*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Curvularia* en el centro del medio PDA. Se realizaron observaciones cada 24 horas en el caso de los patógenos y cada 12 horas en el caso del antagonista. Se midió el avance del patógeno y el antagonista en los cuatro radios del plato petrit hasta llenar por completo el plato (Figura 2).

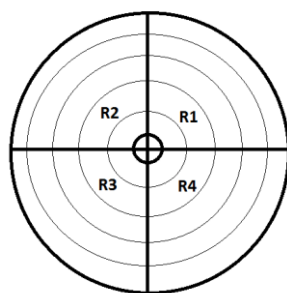


Figura 2. Crecimiento radial patógeno y antagonista.

b) Pruebas de antagonismo “*in vitro*”

Se utilizaron cinco aislados de *Trichoderma* procedentes de las fincas de donde se tomaron las muestras de suelo y de material vegetal y un aislado de *Trichoderma* mantenida en el cepario del Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Agraria como testigo enfrentados a tres patógenos: *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp. Para cada uno de los patógenos se utilizó un diseño completo al azar (DCA) en arreglo factorial de $6 \times 6 + 1$ (seis aislados del patógeno, seis aislados de *Trichoderma* y un testigo) con seis repeticiones (Cuadro 3). Cada unidad experimental consistió de un plato Petri donde se encontraban el antagonista y el patógeno.

Cuadro 3. Tratamientos para la evaluación de porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) de los patógenos y grado antagónico de los aislados de *Trichoderma*. Este diseño fue utilizado para cada uno de los patógenos aislados de cada finca.

<i>Trichoderma</i>	Patógeno			
Tr1	R1	R2	R3	R4
Tr2	R1	R2	R3	R4
Tr3	R1	R2	R3	R4
Tr4	R1	R2	R3	R4
Tr5	R1	R2	R3	R4
TrTg	R1	R2	R3	R4

Tr 1, 2, 3, 4, 5,6: son los aislados de *Trichoderma* de cada una de las comunidades más un testigo (TrTg) R 1, 2, 3,4: Son las repeticiones de los patógenos aislados de las comunidades. Este diseño será usado para cada uno de los patógenos aislados de cada comunidad.

Se utilizó el método del cultivo dual que consiste en un enfrentamiento entre los patógenos y el antagonista. En un plato Petri de 90 × 15 mm con medio de cultivo (PDA) en un extremo se colocó un disco de 5 mm de diámetro a 1.5 cm del micelio del patógeno desde la orilla y en el otro extremo un disco de 5 mm del micelio del antagonista, la distancia entre patógeno y antagonista fue de 6 cm dándole dos días de ventajas *Fusarium*, *Colletotrichum* un día para el caso de *Curvularia* sp debido a que antagonistas y patógenos presentan diferencia en sus tasas de crecimiento (Reyes 2007).

Para evaluar la capacidad antagónica de los aislados de *Trichoderma* spp., se registraron los valores de los siguientes parámetros: porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), comparación del crecimiento radial de los patógenos enfrentados a los aislados de *Trichoderma* con los testigos de los patógenos y la invasión de los aislados de *Trichoderma* a los patógenos.

a) Porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR).

Para la obtención del PICR se utilizó la siguiente fórmula (Skidmore y Dickinson, 1976):

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

Donde,

R1= es el radio del patógeno testigo y

R2= es el radio del patógeno en presencia del antagonista.

- b) Comparación del crecimiento de los patógenos enfrentados a los aislados de *Trichoderma* con los testigos de los patógenos.

Se midió el radio de crecimiento de los hongos patógenos y antagonistas a los 3 y 7 días después de establecido el bioensayo. El grado de antagonismo de los aislados de *Trichoderma* se estimó utilizando la escala de Bell et al (1982) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Escala de Bell et al (1982) para la evaluación de la capacidad antagónica de los biocontroladores.

Clases	Descripción
1	El antagonista crece completamente sobre la colonia del patógeno y cubre toda la superficie del medio de cultivo.
2	El antagonista cubre al menos las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo.
3	El antagonista y el patógeno cubren aproximadamente la mitad de la superficie del medio de cultivo.
4	El patógeno cubre al menos dos terceras partes del medio de cultivo limitando el crecimiento del antagonista.
5	El patógeno crece sobre la colonia del antagonista y cubre toda la superficie del medio de cultivo.

3.3. Variables evaluadas

- a) Frecuencia de organismos patógenos encontrados de acuerdo a los sitios de muestreos en cada finca y localidad.
- b) Crecimiento radial del patógeno y antagonista.
- c) Porcentaje de inhibición del crecimiento del patógeno (PICR)
- d) Clase antagonica de los aislados de *Trichoderma*.
- e) Severidad de las enfermedades en invernadero
- f) Tasa de incremento de la enfermedades en invernadero

3.4. Análisis de datos

Se hizo un análisis descriptivo de los hongos encontrados. Se determinó la frecuencia de los patógenos encontrados por fincas y por cada una de las muestras. Se realizó un análisis de varianza con medidas repetidas para el crecimiento radial de los patógenos y de los aislados del antagonista *Trichoderma*. Para los datos de porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de los patógenos se realizó un análisis de varianza (ANDEVA). Los datos del PICR fueron sometidos a la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks (modificado) antes de realizar el ANDEVA. El grado antagonico de cada uno de los aislados de *Trichoderma* fue expresado en forma tabular de acuerdo a la escala de clases de Bell et al., (1982).

Los datos de severidad de las enfermedades en las pruebas de patogenicidad en invernadero, se graficaron con respecto al tiempo para obtener las curvas de progreso de la severidad del patógeno y se ajustaron a cuatro modelos linealizados: i) exponencial, $\ln(y) = \ln(y_0) + r_{Et}$; monomolecular, $\ln[1/(1-y)] = \ln[1/(1-y_0)] + r_{Mt}$; logístico, $\ln[y/(1-y)] = \ln[y_0/(1-y_0)] + r_{Lt}$; y Gompertz, $-\ln[-\ln(y)] = -\ln[-\ln(y_0)] + r_{Gt}$. Los criterios para determinar cuál de los modelos ajustaba mejor los datos del progreso de la enfermedad fueron el coeficiente de determinación (R^2), significancia estadística ($Pr > F$), cuadrado medio del error (CME). El modelo que mejor ajustó los datos de progreso temporal de la enfermedad, permitió conocer la tasa de progreso de enfermedad o la velocidad del progreso temporal de la enfermedad en condiciones de invernadero (Campbell y Madden, 1990). Todos los análisis fueron realizados con la ayuda del programa estadístico Infostat (2008) y el paquete estadísticos SAS versión 9.1

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Identificación de microorganismos

De las muestras de tejido y de suelo se aislaron tres microorganismos *Colletotrichum* sp, *Fusarium* sp y *Curvularia* sp. Las colonias de *Colletotrichum* sp de los diferentes aislados presentaron una morfología similar, con formación de abundante micelio. Los crecimientos micelial presentaban coloración marrón en los aislados ColPc, ColCeb, Colfra2, Colfra3 y Coled (figura A) el aislado ColLp presentaba una coloración blancuzca, mediante preparaciones microscópicas se observaron acérvulos (figura B) y conidios unicelulares (figura C). Las colonias de *Fusarium* al comienzo eran lisa, algo algodonosa tornándose posteriormente un poco lanosa de coloración blanca en la parte superior y en la parte inferior de coloración purpura (figura G) microscópicamente estos presentaron micro y macro conidios abundante, hialinos, ovalados con uno o dos septos (Figura H,I). Todos los aislados de *Curvularia* sp presentaron colonias algodonosas de color blanco a gris en la parte superior que se tornaban de color negro a medida que maduraban.(figura D) Microscópicamente se observó hifas septadas, conidios elipsoidales curvadas en la célula central con 3 a 4 septos (figura E,F) (Figura 3)

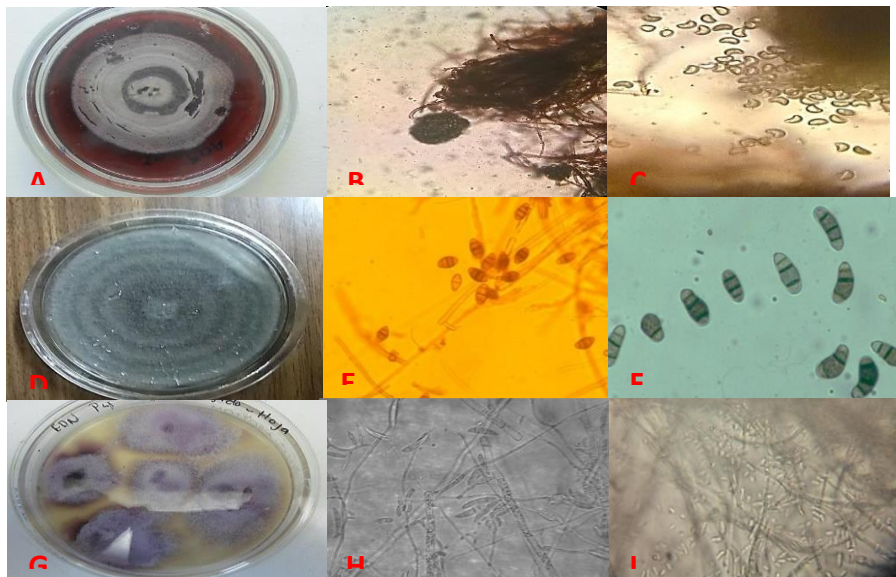


Figura 3. (A) cultivo puro de *Colletotrichum*. (B) acérvulos de *Colletotrichum*. (C) conidios unicelulares de *Colletotrichum* (D) cultivo puro de *Curvularia* sp. (E) hifa y conidio de *Curvularia* (F) conidios de *Curvularia* sp. (G) Cultivo puro de *Fusarium* sp. (H) hifas y macro conidias de *Fusarium* sp. (I) micro conidias de *Fusarium* sp.

4.2. Aislamiento de hongos a partir de material vegetal enfermo y asintomático

De las muestras de tejido obtenidas de las plantas con síntomas y signos de pudrición de cogollo y/o otros síntomas que se recolectaron en campos, se aislaron hongos. En el medio PDA se encontró *Curvularia*, *Colletotrichum* y *Fusarium*. En la figura 4 se puede observar el porcentaje de frecuencia de estos microorganismos en el laboratorio, el cual fue variable. Para el caso de *Colletotrichum* el mayor porcentaje de frecuencia lo obtuvo el aislado de la comunidad El edén con 56.7%, seguida respectivamente de Francia II y Francia III con más del 50% y con menor frecuencia los aislados de las comunidades de Cebadilla, Las perlas y Pablo Calero con más del 30% de frecuencia. En el caso de *Curvularia* sp se observa que el aislado de la comunidad Las perlas tuvo 67% de frecuencia cuyo porcentaje fue mayor con respecto a los demás ya que los aislados de las comunidades Pablo Calero, El Edén, Cebadilla, Francia II Y Francia III con rangos de 40-50% de frecuencia. En el caso de pudrición del cogollo se aisló el hongo *Fusarium* sp, en la comunidad Cebadilla se registró el mayor porcentaje de frecuencia con 72.7%, seguida de la comunidad La Francia II con 66.7% y menor frecuencia en el aislado de la comunidad El Edén con 60%; cabe destacar que en el caso de las muestras de raíces procesadas, más del 60% se aisló *Fusarium*, esto muestra que de cada 50 plantas procesadas en más de 30 planta se aisló *Fusarium*. Además, es importante señalar que no se encontró en muestras de tejido presencia de oomicetes ya que no se evidencio crecimiento en medio nutritivo agar V8.

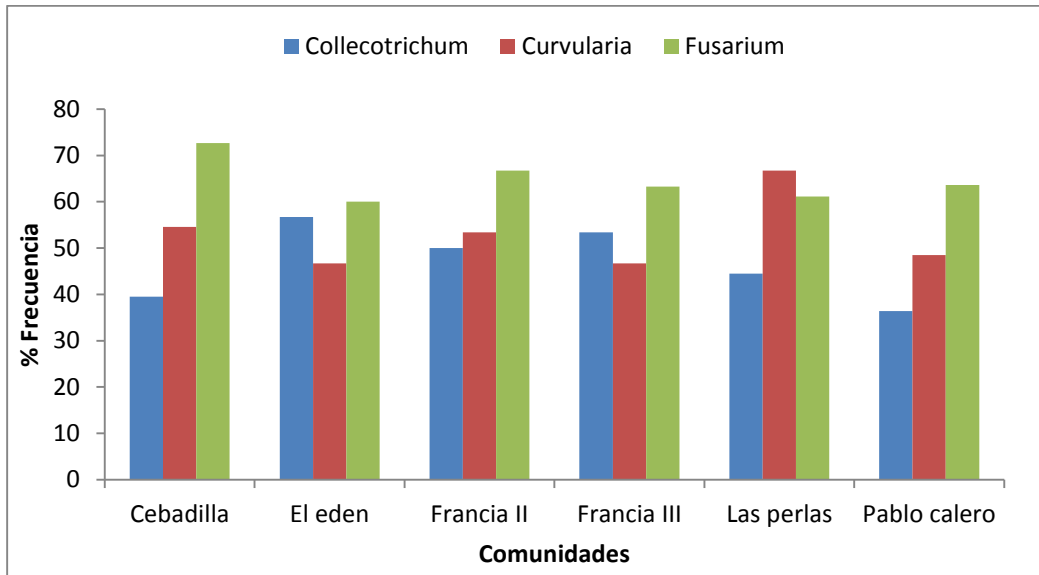


Figura 4. Frecuencias de microorganismos aislados en muestras de tejido y de raíces. En el cultivo de piña de las diferentes comunidades.

c) Aislamiento de hongos a partir de muestras de suelo

De las muestras de suelos recolectadas en las fincas se aisló el hongo *Fusarium*. (La figura 5) refleja el porcentaje de frecuencia de este microorganismo en suelos donde se cultiva piña c.v Monte Lirio. El mayor porcentaje de frecuencia del hongo *Fusarium* fue en la comunidad de Cebadilla con 66.7 %, seguido del El Edén con 63.3%, Pablo Calero y Francia II con 60% la comunidad que presento menor frecuencia es Las perlas con 53.3% y Francia III con 50 %. El patógeno *Fusarium* se encuentra ampliamente distribuido en los suelos donde se cultiva piña ya que en más del 60% de todas las muestras procesadas de suelo, se aisló este microorganismo.

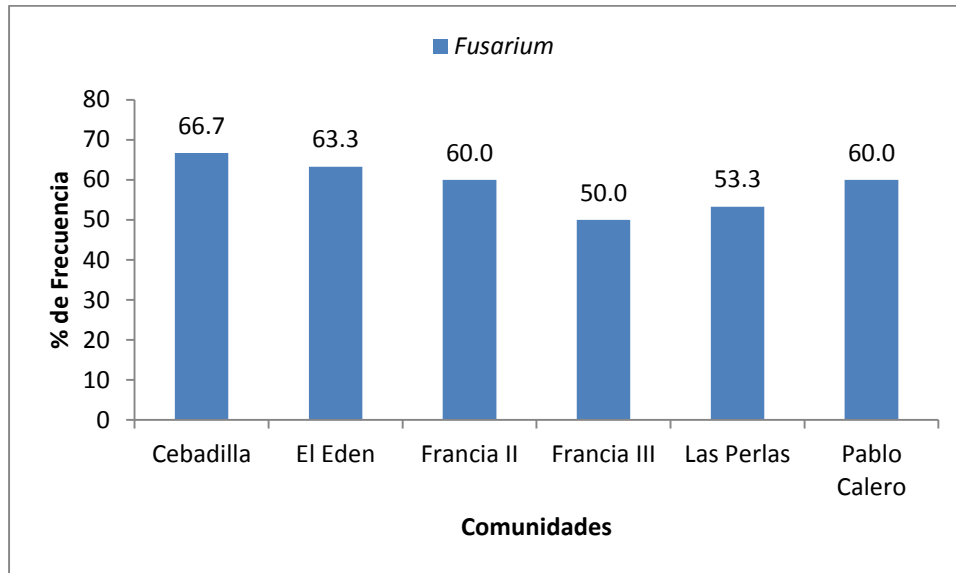


Figura 5. Frecuencias de microorganismos aislados en muestras de suelos en el cultivo de piña de las diferentes comunidades.

4.3. Pruebas de patogenicidad en invernadero

Todos los microorganismos inoculados resultaron patogénicos en las plantas de piña *Curvularia* sp, *Fusarium* sp y *Colletotrichum*. Mediante estas pruebas se logró una reproducción similar de los síntomas, Podemos observar (Figura 7, Figura 8 y Figura 9) la similitud de sintomatología de las plantas en campo a los inoculados en invernadero. Hernández et al., (2011), reporta patogenicidad del hongo *Fusarium* sp en viveros de piña el ataque de *Fusarium* comienza desde etapas tempranas del desarrollo de la planta. Farr *et al.*, (2006) en un estudio de especies de *Colletotrichum* sp en agave reporta que lo síntomas de este patógeno en las plantas son pequeñas manchas circulares a la vez necrosamiento en los bordes y ápices de las hojas. Los síntomas observados en piña por *Curvularia* sp son semejantes a los descritos por Estrada et al., (2004) el cual observo pequeñas manchas puntiformes y ojivales, pardo-rojizas, algunas con halo amarillento alrededor, que podían llegar a unirse y secar una gran parte de la hoja, con síntomas similares a un atizonado.



Figura 6: Comparación de síntomas producidos por *Fusarium* sp en invernadero (A) y campo (B)



Figura 7: Comparación de síntomas producidos por *Curvularia* sp en invernadero (A) y campo (B)



Figura 8: Comparación de síntomas producidos por *Colletotrichum* sp en invernadero (A) y campo (B)

4.4. Severidad de las enfermedades en invernadero

Los datos obtenidos de las evaluaciones fueron representados por la escala de severidad de (Bowen, 2007) para patógenos foliares y Souza *et al.*, (2011) para patógenos de suelo el cual muestra el comportamiento de estos en el tiempo. Los aislados del patógeno *Fusarium* sp de las localidades Francia II (fusfra2) y Francia III (fusfra3) no causaron daño en las dos primeras evaluaciones a los 2 y 4 días después de la inoculación (ddi) y cuarta

evaluación sin embargo para la sexta evaluación mostraron un comportamiento acelerado, con un aumento de 0 a 29 % de daño. En la última evaluación a los doce (ddi) se observó que el aislado de la comunidad de Cebadilla (Fusceb) presento el mayor porcentaje de severidad con un 98,0%, de severidad causando la muerte de la planta seguida respectivamente con el aislado de Pablo Calero (Fuspc) con 80% es decir que la plantas llegaron a un estado de pudrición severa. Los aislados de las comunidades Francia II (Fusfra2), Francia III (Fusfra3), Las perlas (Fuslp) y El Edén (Fused) presentaron porcentajes altos de severidad superior al 70 % lo que indica que daños considerables en plantas de piña y que la enfermedad comienza a presentar primeros síntomas dentro de las primeras 48hrs (ddi) lo que muestra que es un patógeno que ataca agresivamente por eso se debe considerarse una enfermedad de importancia fitosanitaria que puede causar pérdidas considerables para el rubro piña (Figura9). Hernández et al (2011) reporta que la enfermedad avanza de forma rápida en los tallos y asciende a las yemas en desarrollo; su veloz progreso impide originar posturas, los síntomas de pudrición se detectan generalmente en la parte basal de la postura en formación.

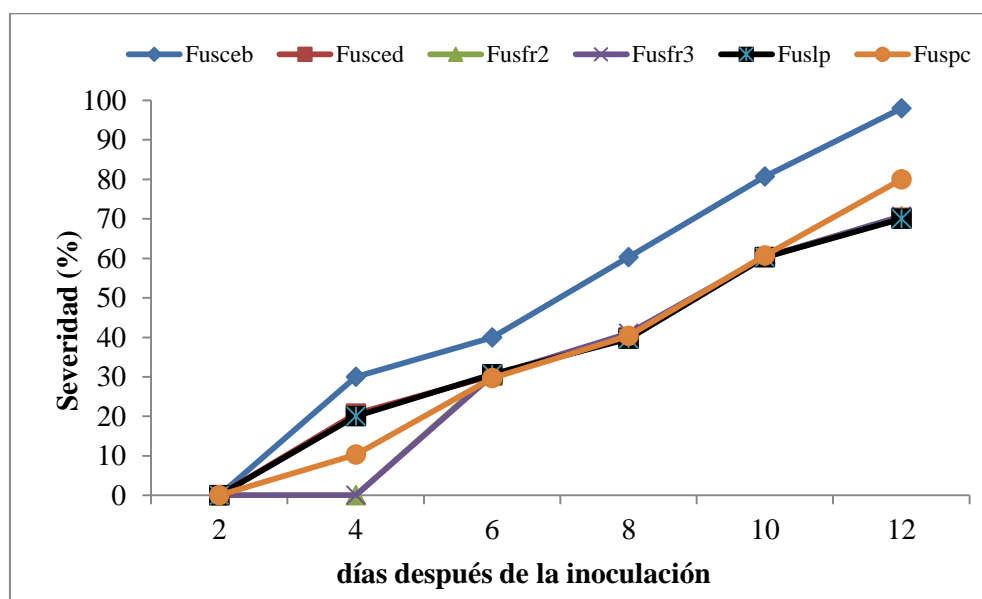


Figura 9. Curva del progreso de la severidad del patógeno *Fusarium* sp. Asociado a la pudrición de cogollo. *Fusarium* sp aislado de la comunidad cebadilla (Fusceb), El edén (Fused), La Francia II (Fusfra2), La Francia III (Fusfra3), Las Perlas (Fuslp) y Pablo Calero (Fuspc).

Para *Curvularia* sp el comportamiento de la enfermedad fue lento, sin embargo los daños se observaron al cuarto (ddi) exceptuando los aislados de Francia II (curfra2) Y Francia III (curfra3) que no se evidencio ningún daño en las plantas. A los seis y ocho días (ddi) los aislados presentaron un comportamiento similar en cuanto al porcentaje de severidad. Para el doceavo día hubo incremento similar en los aislados de las localidades de El Edén (cured), Francia II (curfra2), Francia III (curfra3) y Las Perlas (curLp) que se mantuvieron en un rango de 65-70% de severidad por otra parte el que presento máxima severidad de la enfermedad fue: Pablo Calero (curpc) con 80% y el menor Cebadilla (curceb) 52,7 % (Figura 10). En el caso de manchas foliares por *Curvularia* sp más del 50% de las plantas presentaron daño. El aislado inoculado de la comunidad de Pablo Calero (Curpc) presento daños considerables en la lámina foliar.

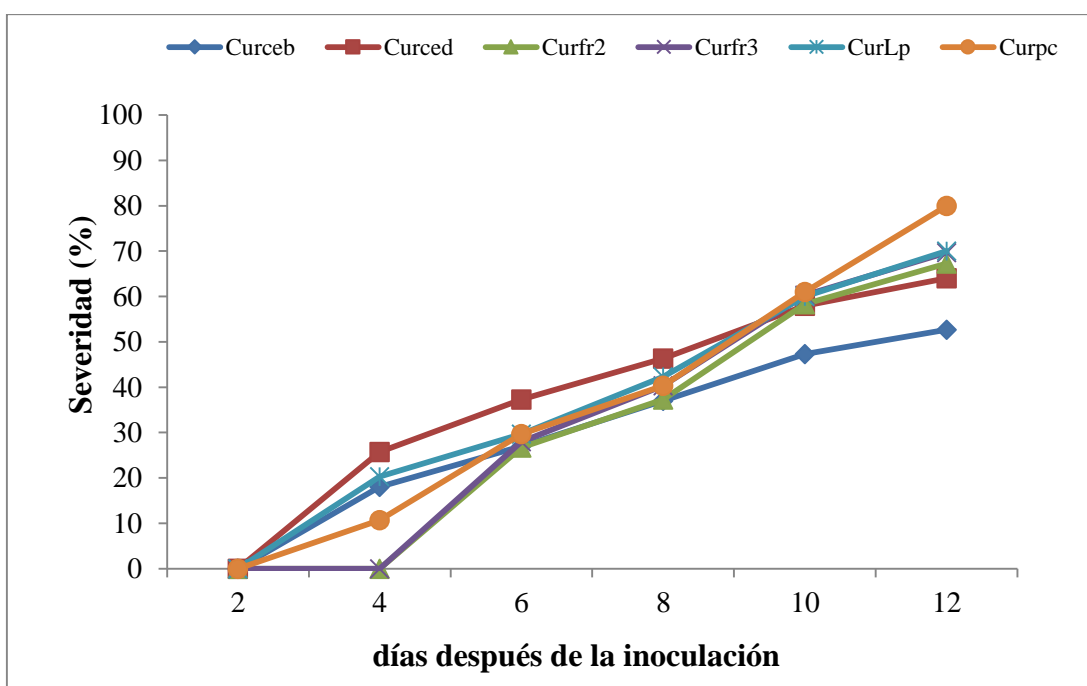


Figura 10. Curva del progreso de la severidad del patógeno *Curvularia* sp. Asociado a manchas foliares en piña. *Curvularia* sp aislado comunidad cebadilla (Curceb), El edén (Curced), La Francia II (Curfra2), La Francia III (Curfra3), Las Perlas(CurLp) y Pablo Calero (Curpc).

Los aislados del hongo *Colletotrichum* sp mantuvieron un comportamiento similar a través de los días evaluados. Al segundo (ddi) las plantas mostraron porcentajes de severidad entre 5 a 10% el avance de la enfermedad aumento similarmente y fue leve en todos los aislado inoculados. A los 12 días después de la inoculación los porcentajes de los aislados de las diferentes comunidades se mantuvieron en un rango de 40 a 60% por lo que se puede considerar que el ataque de *Colletotrichum* sp en piña no es agresivo comparado con *Curvularia* sp pese a eso se constató que el avance se dio del borde hasta el centro nos muestra característica importante del daño ya que se da un necrosamiento una vez del avance (Figura 11). En Nicaragua no se encuentra reportado este patógeno en plantas de piña por lo que se debe considerar al momento de tomar de decisiones en el manejo de problemas fitosanitarios en el cultivo de piña.

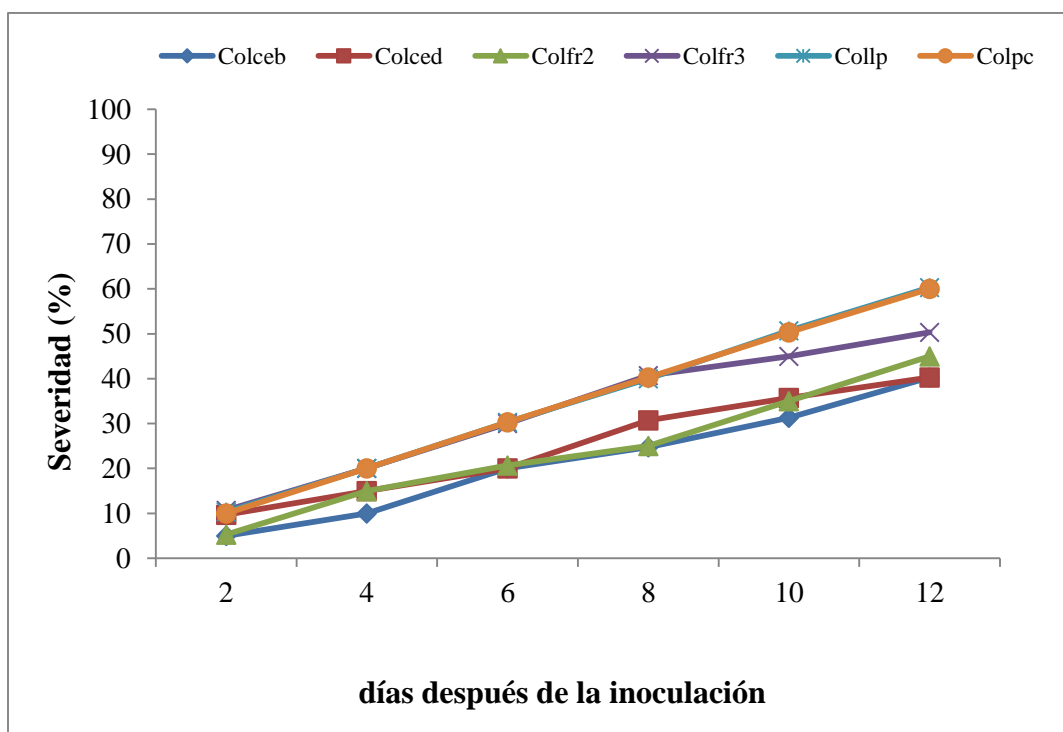


Figura 11. Curva del progreso de la severidad del patógeno *Colletotrichum* sp. Asociado a marchitamiento del ápice de las hojas de piña. *Colletotrichum* sp aislado comunidad cebadilla (Colceb), El edén (Colced), La Francia II (Colfra2), La Francia III (Colfra3), Las Perlas (Collp) y Pablo Calero (Colpc).

Se logró determinar que los signos y sintomatología expresada por las plantas inoculadas con los diferentes hongos aislados de las comunidades estudiadas corresponden a la expresión patógena de los aislados inoculados. Por lo tanto se comprueba la patogenicidad de los aislados.

Con respecto al progreso de las enfermedades bajo condiciones de invernadero, el mejor ajuste se logró con el modelo de Gompertz y el modelo Logístico. Para el patógeno *Curvularia* sp (Curfra3) con el modelo de Gompertz se obtuvo una tasa de incremento de la enfermedad (r) de 0.33 (33%/día), con un R^2 de 0.94 y un cuadrado medio del error (CME) DE 0.07. Para el patógeno *Colletotrichum* sp (Colfra2), con el modelo logístico se obtuvo un (r) de 0.25 (25% dia⁻¹), con un R^2 de 0.93 y un CME DE 0.04. En el caso del patógeno *Fusarium* sp (Fuspc), el modelo logístico determino un (r) de 0.45 (45%.dia⁻¹), con un R^2 de 0.95 y un CME de 0.06.

En general se puede aseverar que la tasa de incremento de la enfermedad fue mayor en el caso del patógeno *Fusarium* sp y más específicamente con el aislado que se obtuvo en la comunidad Pablo Calero (Fuspc). Los resultados de la comparación de los modelos para cada uno de los patógenos y sus diferentes aislados pueden ser consultados en el Anexo 3.

4.5. Evaluación in vitro de aislados de Trichoderma para el manejo de los principales patógenos en el cultivo de piña

a) Crecimiento radial de los patógenos y el antagonista

Según el análisis de varianza existen diferencias significativas en los aislados de *Trichoderma* sp ($p < 0,0001$; $\alpha = 0.05$) para la variable crecimiento radial. El aislado que presenta mayor crecimiento radial es el aislado de la localidad Pablo Calero (Tricpc) con 1.21 mmhr⁻¹ a las 72 hrs mostrando diferencias significativas respecto a los aislados restantes. El resto mostro menor crecimiento radial en el mismo lapso de tiempo y siendo el que presento menor crecimiento el aislado de la localidad de Las Perlas con un crecimiento de 1.01 mmhr⁻¹. Calvo *et al* (2012) reporta un crecimiento radial a los cuatro

días después de establecidas las pruebas *in vitro*. Los aislados están dentro del rango de crecimiento normal y a la vez muestran crecimiento rápido en el medio (Figura 12).

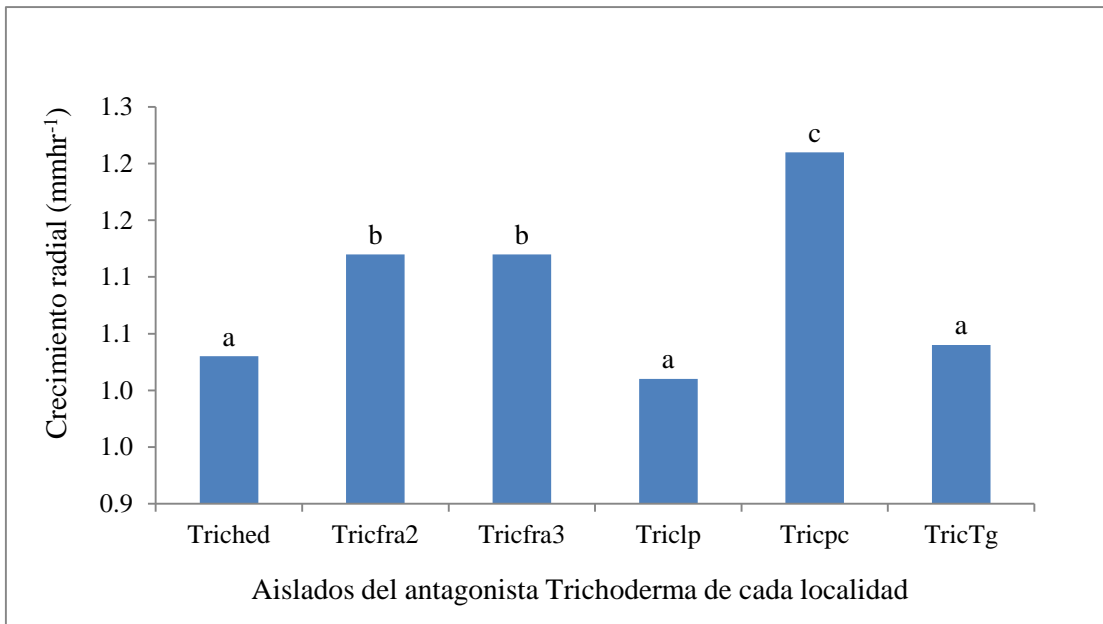


Figura 12. Crecimiento radial de los aislados de *Trichoderma* sp de cada localidad *Trichoderma* El Eden (Triched), *Trichoderma* Francia II (Tricfra2), *Trichoderma* Francia III (Tricfra3), *Trichoderma* Las perlas (Triclp), *Trichoderma* Testigo (TricTg), Seleccionadas para enfrentamientos duales a los cuatro días de establecidas las pruebas *in vitro*. * Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0,05).

Para *Curvularia* sp, el análisis de la varianza mostro diferencias significativas ($p < 0,0001$, $\alpha = 0,05$). En cuanto a los aislados de las comunidades. Los mayores crecimientos radiales correspondieron a los aislados de las localidades de El Edén (Curved) con 1.29 mmhr^{-1} seguido respectivamente de Francia II (Curvfra2) 1.08 mm.hr^{-1} y Francia III (Curvfra3) 1.05 mmhr^{-1} los cuales fueron agrupados dentro de la misma categoría y crecieron a los cuatro días de establecidos las pruebas *in vitro* (Figura 14). Así mismo los que presentaron crecimiento más lento fueron los aislados de Las perlas (Curvlp) 0.76 mmhr^{-1} , Cebadilla (Curvceb) 0.79 mmhr^{-1} y Pablo Calero (Curvpc) con 0.8 mmhr^{-1} . Se puede observar en el grafico una clara diferencia del comportamiento de los aislados a pesar de ser mismo patógeno.

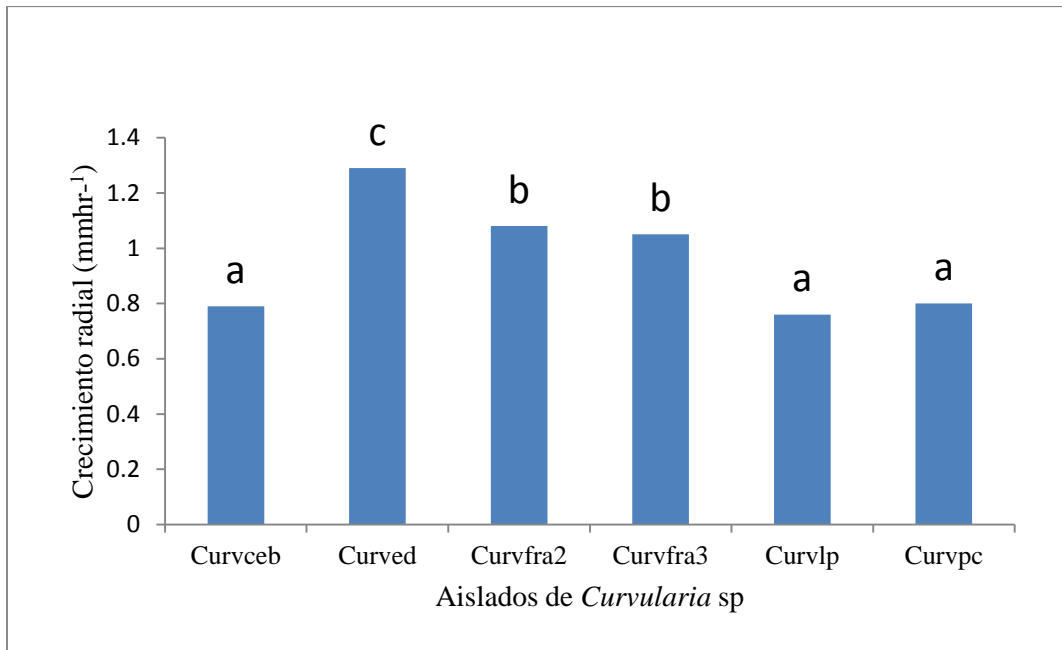


Figura 13. Crecimiento radial en mmhr⁻¹ de los diferentes aislados de *Curvularia* sp. *Curvularia* Cebadilla (Curvceb), *Curvularia* El Edén (Curved), *Curvularia* Francia II (Curfra2), *Curvularia* Francia III (Curvfra3), *Curvularia* Las Perlas (Curvlp), *Curvularia* Pablo Calero (Curvpc) seleccionadas para enfrentamiento duales a los cuatro días de establecidas las pruebas *in vitro*. * Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0,05).

Según el análisis de varianza se hubo diferencias significativas ($p < 0,0001$, $\alpha = 0,05$) en cuanto el porcentaje de crecimiento radial para el caso de *Colletotrichum* sp el aislado que mostro un mayor crecimiento radial fue el aislado de la localidad Las perlas (ColLp) con 1.06 mmhr⁻¹ seguido de Francia III (Colfra3) con 1.05 mmhr⁻¹ y El Eden (Coled) con 1.05 mmhr⁻¹. El que presento menor crecimiento fue Cebadilla (Colceb) con 1 mmhr⁻¹ (Figura 15). Pese a que hay diferencias, el crecimiento del patógeno es lento y que las diferencias no son amplias. Los aislados de *Colletotrichum* sp terminaron de crecer a los siete días después establecidas las pruebas *in vitro* siendo este el que obtuvo crecimiento radiales menores en mm.hr⁻¹ comparado con *Trichoderma* sp y *Curvularia*.

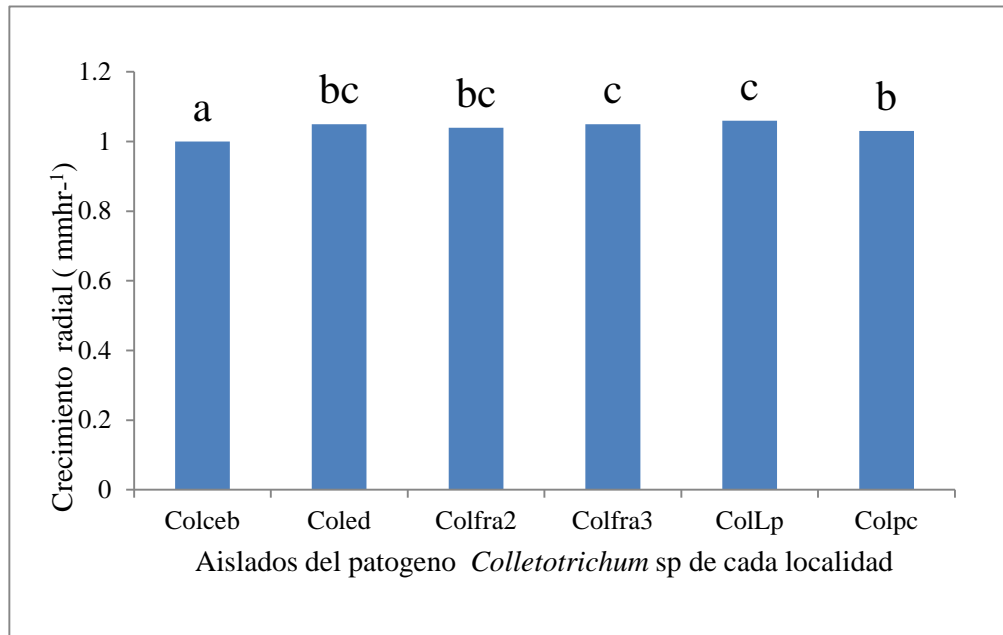


Figura 14. Crecimiento radial en mmhr^{-1} de los diferentes aislados de *Colletotrichum* sp. *Colletotrichum* Cebadilla (Colced), *Colletotrichum* El Edén (Coled), *Colletotrichum* Francia II (Colfra2), *Colletotrichum* Francia III (Colfra3), *Colletotrichum* Las Perlas (ColLp), *Colletotrichum* Pablo Calero (Colpc) seleccionadas para enfrentamiento duales a los seis días de establecidas las pruebas *in vitro*. * Letras diferentes indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

El análisis de varianza al ($p < 0,0001$, $\alpha = 0,05$) para los aislados de *Fusarium* sp detectó diferencias significativas en el crecimiento radial. Los aislados que presentaron mayor crecimiento radial $\text{mm}\cdot\text{hr}^{-1}$ fueron los de las localidades: La Francia III (Fusfra3) con $1,08 \text{ mmhr}^{-1}$, Las Perlas (FusLp) $1,1 \text{ mmhr}^{-1}$ y Francia II (Fusfra2) y Pablo Calero (Fuspc) con $1,12 \text{ mmhr}^{-1}$ y los que presentaron el menor crecimiento fueron: Cebadilla (Fusceb) $0,99 \text{ mmhr}^{-1}$ y El Eden (Fused) con $0,95$ pese hacer el mismo patógeno se observa las diferencias mmhr^{-1} de los aislados además el ritmo de crecimiento es similar al de *Colletotrichum* sp ya que los dos patógenos crecieron a los siete días de establecidas las pruebas *in vitro* (Figura 16).

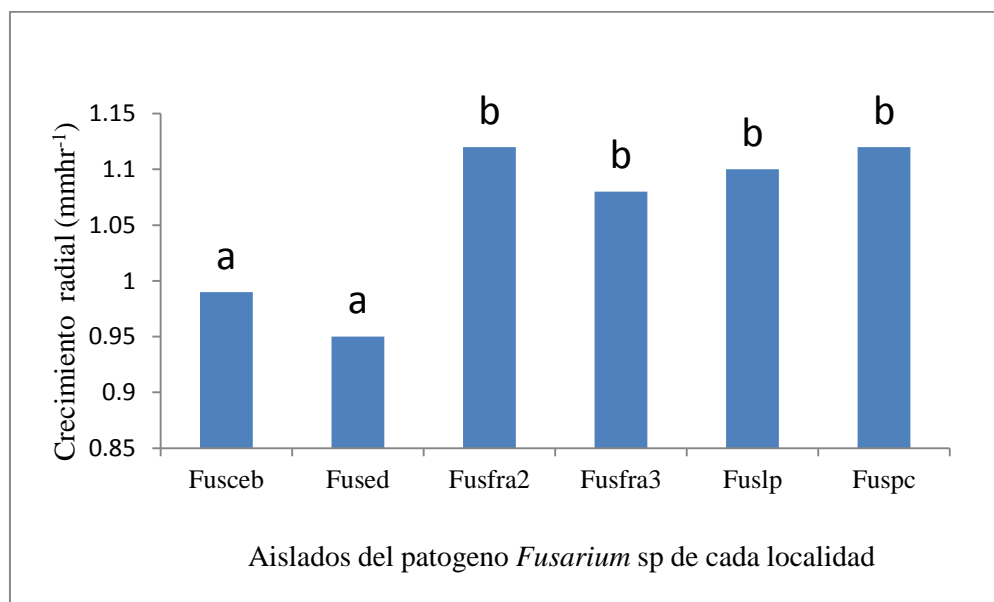


Figura 15. Crecimiento radial en mmhr⁻¹ de los diferentes aislados de *Fusarium* sp. *Fusarium* Cebadilla (Fusceb), *Fusarium* El Edén (Fused), *Fusarium* Francia II (Fusfra2), *Fusarium* Francia III (Fusfra3), *Fusarium* Las perlas (Fuslp), *Fusarium* Pablo Calero (Fuspc) seleccionadas para enfrentamiento duales a los seis días de establecidas las pruebas *in vitro*. * Letras diferentes indican diferencias significativas (P<0,05).

4.6. Pruebas de antagonismo “*in vitro*”

Para la obtención del PICR se utilizó la fórmula (Skidmore y Dickinson, 1976). A los datos obtenidos se le realizó un análisis de varianza (ANDEVA) a ($p < 0,0001$, $\alpha = 0.05$). El comportamiento de los cultivos duales con respecto a la reducción del crecimiento de los patógenos se evaluó por siete días. El aislamiento LP presentó los valores más altos de inhibición de crecimiento de *Colletotrichum* con un PICR 79.2%, valor que es significativamente diferente con respecto a los demás antagonistas. Así mismo los demás aislados mostraron alta capacidad para inhibir el crecimiento presentando valores de PICR superiores al 70%. En el caso de *Curvularia* los valores más altos de inhibición los presentó el aislamiento F3 con un PICR de 73.51% sin embargo los demás aislados mostraron porcentajes de inhibición mayores al 60%. Con respecto a la reducción de crecimiento radial de *Fusarium* se observó que para el séptimo día el aislamiento de PC fue quien exhibió el mayor PICR con un 77.15% de igual manera los demás aislados mostraron niveles altos mayor al 70% de inhibición. Esto demuestra que hay diferencias significativas en el comportamiento de los antagonistas con respecto a los patógenos ya que el comportamiento inhibitorio fue diferente entre patógenos y aislados de *Trichoderma*. Con la metodología empleada se logró aislar y evaluar cinco aislados de microorganismos antagonistas como es el caso *Trichoderma* provenientes de plantaciones de piña, lo cual es de importancia ya que

no se cuenta con un microorganismo de control biológico específico para patógenos en piña.

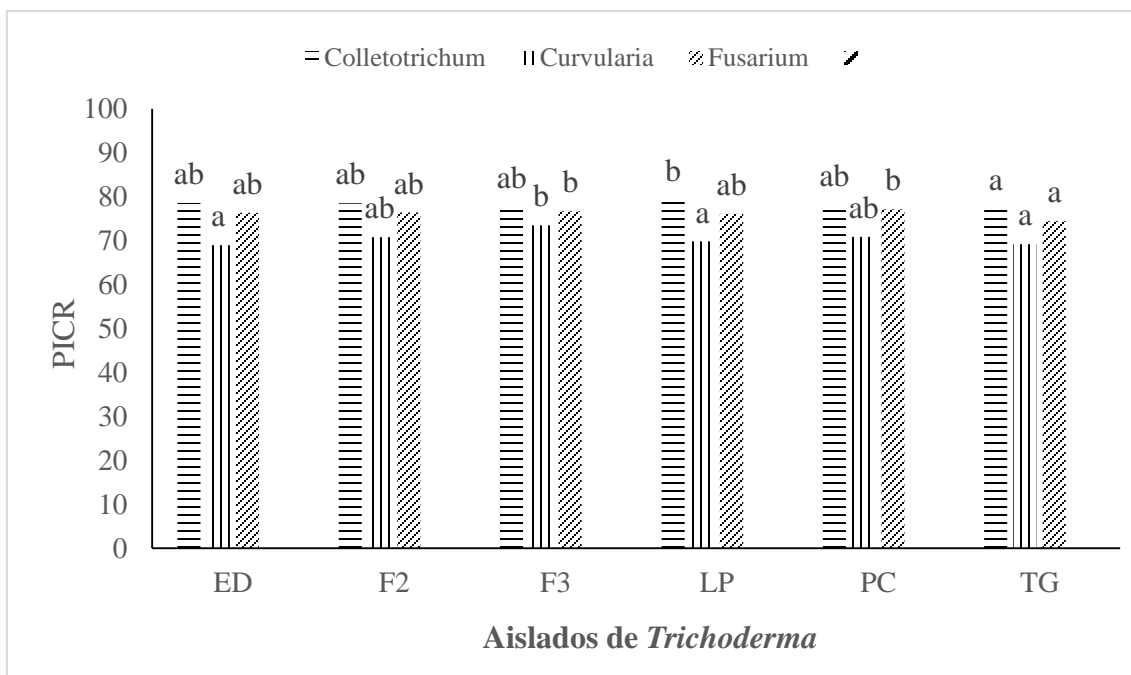


Figura 16. Inhibición del crecimiento radial (PICR) en cultivos duales de *Colletotrichum* sp, *Curvularia* sp, y *Fusarium* sp con *Trichoderma* sp aislamientos comunidades Francia 2 (F2), Francia 3 (F3), Pablo Calero (PC), Las perla (LP), El Edén (ED) y el Testigo (TG) durante 7 días de evaluación.

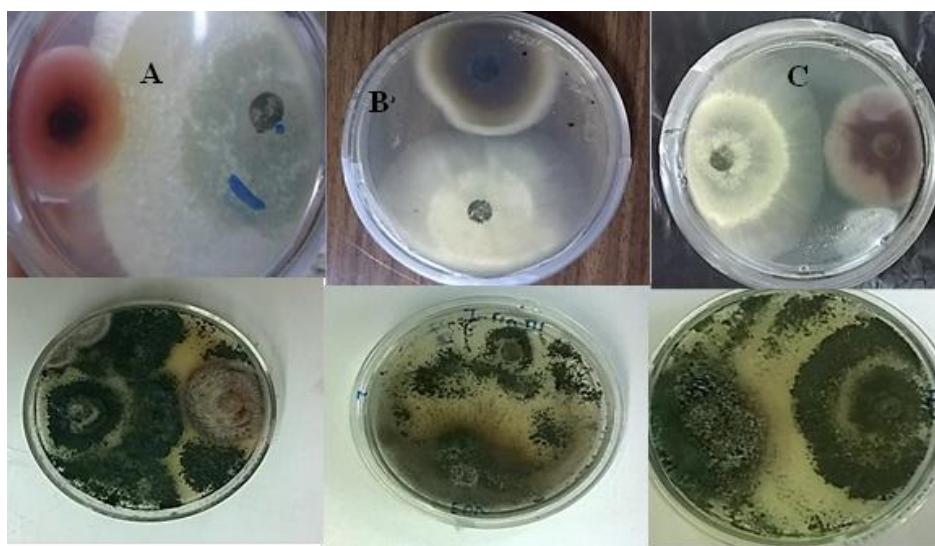


Figura 17. Inhibición del crecimiento radial por aislados de *Trichoderma* sp sobre *Colletotrichum* sp (A), *Curvularia* sp (B), *Fusarium* sp (C) a los siete días de establecido las pruebas *in vitro*.

4.7. Categorías Escala de Belt

Para la evaluación de la capacidad antagonista se utilizó la escala Bell *et al.* (1982), Todos los aislamientos de *Trichoderma* se ubicaron en las clase I y II (Cuadro 5). El 61% de los aislados se ubicaron en la Clase I y el 39% en la Clase II lo cual los coloca en clase de antagonistas de *Curvularia* sp, *Colletotrichum* sp, *Fusarium* sp Cabe mencionar que el único aislado de *Trichoderma* sp que logro Clase I para todos los patógenos fue la que se aisló localidad de la Francia II (Trfr2), sin embargo las demás aislados mostraron buenos resultados en el control de los patógenos. Bell *et al.* (1982), reporta resultados satisfactorios en pruebas de competencia por sustratos quienes encontraron que un 65% de las aislados de este hongo se ubicaron en la clase I y un 85% se ubicó en la Clase II al evaluarse contra *Rhizoctonia solani* G-2 igualmente el estudio realizado por Calvo *et al* (2012) en frutos de mora ubicaron a *Trichoderma* sp. En la Clase I y II al evaluarlo contra *Botrytis cinerea*.

Cuadro 5: Aislados de *Trichoderma* de las diferentes comunidades

Antagonistas	Patógenos		
	<i>Curvularia</i>	<i>Colletotrichum</i>	<i>Fusarium</i>
Ted	1	2	2
Trf2	1	1	1
Trf3	2	2	1
Trlp	1	2	2
Trpc	2	1	1
Trtg	1	2	2

*Clasificación en conformidad con la escala de Bell et al

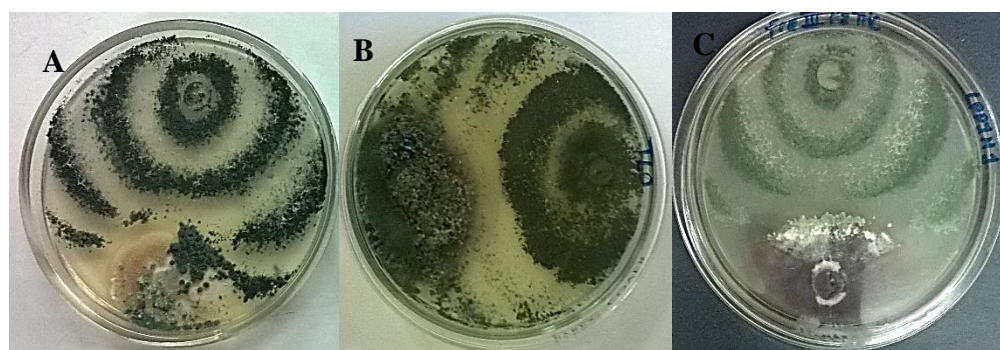


Figura 18. Aislados de *Trichoderma* Comunidad Pablo Calero (Trpc) sobre *Colletotrichum* sp (A) aislado comunidad El edén (Ted) sobre *Curvularia* sp (B) y aislado comunidad Francia III (Trfr3) sobre *Fusarium* sp (C).

V. CONCLUSIONES

- El cultivo de la piña es afectado por patógenos que causan pudrición de raíces como *Fusarium* y manchas foliares causadas por *Curvularia* y *Colletotrichum*.
- Los hongos aislados de las muestras de piña demostraron ser patogénicos al cultivo de piña en las pruebas de patogenicidad en invernadero.
- La tasa de progreso de la enfermedad más alta se observó en las inoculaciones realizadas con el aislado de *Fusarium* obtenido de la comunidad Pablo Calero (Fuspc).
- En el agroecosistema piña se lograron aislar cinco *Trichoderma* con buena potencialidad para ser usados como agentes de control biológico de patógenos que afectan a este cultivo.

VI. RECOMENDACIONES

- En base a los resultados obtenidos en laboratorio e invernadero se sugiere el uso de *Trichoderma* sp para el manejo de enfermedades en piña y contribuir de esta forma a la reducción de productos químicos.
- Investigar el uso de biocontroladores a potenciar.
- Determinar bajo condiciones de campo la tasa de progreso de enfermedad de los patógenos que fueron encontrados en este estudio.
- Caracterizar los géneros de hongos a nivel de especie.

VII. LITERATURA CITADA

- Agrios, N.G. 2006. Fitopatología. Segunda Edición. Limusa, S.A de C.V. Mexico. 759P.
- Alvarado-Rosales, D., Saavedra-Romero, L. de L., Almaraz-Sánchez, A., Tlapal-Bolaños, B., Trejo-Ramírez, O., Davidson, J.M., Kliejunas, J.T., Oak, S., O'Brien, J.G., Orozco-Torres, F. y Quiroz-Reygadas, D. 2007. Agentes asociados y su papel en la declinación y muerte de encinos (*Quercus*, Fagaceae) en el centro-oeste de México. *Polibotánica* 23:1-21.
- Asociación de Trabajadores del Campo (ATC). 2010. Manual del cultivo de la piña. Escuela Obrera Campesina Internacional Francisco Morazán. 62 p.
- Barnett, H.L., and Hunter, B.B. 1999. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth Edition. Minnesota, USA. APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. 218 p.
- Bell, D; Well, H; Markham, C. 1982. "In vitro" antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72:379-382.
- Bowen, K.L. 2007. Plant Disease Epidemiology. In: Plant Pathology: Concepts and Laboratory Exercises. Trigiano, R.N., M.T. Windham and A.S. Windham (Eds.). 2nd Edn., CRC Press, New York. p. 281-294.
- Campbell, C. L. and Madden, L. V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Wiley & Sons, New York. 532 p.
- CENTA (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal). s. 2011. Guía Técnica del cultivo de la piña. Ministerio de Agricultura y Ganadería, El Salvador. 20 p.
- Estrada, G. y Sandoval, I. 2004. Patogenicidad de especies de *Curvularia* en arroz. *fitosanidad*. 8 (4):23-26.
- Ezziyani, M., Pérez-Sánchez, C., Requena, M.E., Rubio, L., Candela, M.E. 2004. Biocontrol por *Streptomyces rochei* -Ziyani-, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. *Anales de Biología* 26:69-78.
- Farr-D, Aime-C, Rossman-A, palm-A. 2006. Species of *Colletotrichum* on Agavaceae. *mycological research* 110, 1395-1408.
- FAOSTAT, 2013. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Consultado Enero 2016. <http://faostat.fao.org>
- Fundación de Desarrollo Agropecuario (FDA). 1992. Cultivo de la piña. Serie Cultivos. Boletín Técnico No. 11. Santo Domingo, República Dominicana. 24 p.

- Hardham, A. 2005. *Phytophthora cinnamomi*. Molecular Plant Pathology 6:589-604.
- Hernández, A.; Bertha Lina Muiño; Carmen Rosón; Caridad Casola; Ángela Porras; Aliana López: hongos y oomycetes fitopatógenos en viveros de piña *ananas comosus* (L.) merrill en ciego de ávila, FITOSANIDAD 15 (3) septiembre 137-142 La Habana, 2011^a
- INTA (Instituto Nicaragüense de Tecnología Agrícola), 2001. Cultivo de la piña. Managua, Nicaragua. Guía Tecnológica No. 7. 24 p.
- INIFOM.2015 .FichamunicipalTicuantepe.
www.inifom.gob.ni/municipios/documentos/MANAGUA/ticuantepe.pdf Acceso: 23 de febrero del 2016.
- Lloyd M., 1967. Mean crowding. Journal of Animal Ecology 36:1-30.
- López Díaz, R. 1995. Evaluación de insecticidas químicos y botánicos para el manejo de *Thecla basilides* en piña. Centro experimental “Campos Azules”, Masatepe, Masaya. 5 p.
- Matos, A. P. Métodos de inoculação com *Fusarium moniliforme* Sheld. var. *subglutinans* WR & RG em abacaxizeiro ‘Pérola’. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 1, n.1, p. 37-42, 1978.
- Matroudi, S., Zamani, M.R., and Motabelli, M. 2009. Antagonistic effects of three species of *Trichoderma* sp. on *Sclerotinia sclerotiorum*, the causal agent of canola stem rot. Egyptian Journal of Biology 11:37-44.
- Morisita M., 1959. Measuring of the dispersion and analysis of distribution patterns. Memories of the Faculty of Sciences, Kyushu University. Series E. Biology 2:215-235.
- OIRSA (Organismo Interregional de Sanidad Agropecuaria). 2003. Buenas prácticas de cultivo de piña. Proyecto Regional de Fortalecimiento de la Vigilancia Fitosanitaria en Cultivos de Exportación no Tradicional (VIFINEX). Manual técnico. Seminario sobre producción y manejo de postcosecha de la piña para exportación. El Salvador, San Salvador. 69 p.
- Reyes, R., Rodríguez, G., Pupo, Z., Alarcón, P. y Limonta, C. 2007. Efectividad in vitro de *Trichoderma harzianum* (Rifai) en el biocontrol de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Pyricularia grisea* (Sacc.) en el cultivo de arroz (*Oriza sativa*). Instituto de investigaciones de sanidad vegetal. La Habana. p. 5
- Rose, S, E. 2006. El cultivo de piña en el municipio de Ticuantepe: situación actual y perspectivas. Encuentro 74:69-79.
- Shaner, G., and FINNEY, R.E. 1977. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. Phytopathology 67:1051-1056.

Skidmore, A.M., and Dickinson, C.H. 1976. Colony interactions and hyphal interference between *Septoria nodorum* and phylloplane fungi. Transactions of British Mycological Society 66:57-64.

Tortora, G.J., Funke, B.R., Case-Gaed, C.L. 2007. Introducción Microbiología. 9^{na} Edición. Buenos Aires, Argentina. Médica Panamericana. 988 p.

Townsend, G.R., and Heuberger, I.W. 1943. Methods for estimating losses caused by disease in fungicide experiments. Plant Disease Reporter 27(17):340-343.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza y pruebas de separación de medias Tukey del porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de cada uno de los patógenos aislados.

Análisis de la varianza del PICR de *Colletotrichum*

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PICR	144	0.37	0.16	2.88

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	317.45	35	9.07	1.79	0.0125
patogeno	34.55	5	6.91	1.36	0.2449
tricho	57.09	5	11.42	2.25	0.0546
patogeno*tricho	225.80	25	9.03	1.78	0.0229
Error	548.49	108	5.08		
Total	865.94	143			

Aislados	ED	F2	F3	LP	PC	TG
Colceb	78.48a	79.70a	78.78a	77.23a	77.53a	75.65a
Coled	80.03a	75.95a	78.45	79.10a	80.00a	77.53a
colfra2	77.83a	80.03a	80.03a	79.73a	78.48a	78.45a
colfra3	77.83a	78.15a	76.90a	79.73a	78.48a	78.45a
ColLp	79.13a	78.80a	74.1a	79.40a	77.53a	79.10a
Colpc	77.50a	78.48a	77.83a	80.03a	76.93a	74.4a

Análisis de la varianza del PICR de *Curvularia*

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PICR	144	0.67	0.57	5.07

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2845.54	35	81.30	6.35	<0.0001
Patógeno	1132.77	5	226.55	17.70	<0.0001
tricho	330.17	5	66.03	5.16	0.0003
patogeno*tricho	1382.60	25	55.30	4.32	<0.0001
Error	1382.72	108	12.80		
Total	4228.26	143			

Cuadro PICR <i>Curvularia</i>						
Aislados	ED	F2	F3	LP	PC	TG
Curceb	72.20cdefgh	71.90cdefgh	75.03efgh	77.53fgh	72.53cdefgh	74.43efgh
Cured	61.28ab	68.80abcdef	79.38gh	60.65a	66.90abcde	65.35abcde
Curfra2	71.58cdefgh	71.28cdefgh	71.28cdefgh	71.58cdefgh	71.90cdefgh	70.98bcdefgh
Curfra3	67.83abcdef	65.98abcde	62.85abc	64.40abcd	69.73abcdefg	67.83abcdedf
CurLp	72.83cdefgh	73.15defgh	72.50cdefgh	72.85defgh	72.85defgh	72.20cdefgh
Curpc	68.18abcdef	73.80defgh	80.03h	71.90cdefgh	71.28cdefgh	64.40abcd

Análisis de la varianza del PICR de *Fusarium*

Variable N R² R² Aj CV
PICR 144 0.73 0.64 3.10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1622.95	35	46.37	8.29	<0.0001
patogeno	889.26	5	177.85	31.79	<0.0001
tricho	106.00	5	21.20	3.79	0.0034
patogeno*tricho	627.70	25	25.11	4.49	<0.0001
Error	604.17	108	5.59		
Total	2227.12	143			

Cuadro PICR <i>Fusarium</i>						
Aislados	ED	F2	F3	LP	PC	TG
Fusceb	78.78cdefghij	79.73efghij	77.20bcdefghij	77.20bcdefghij	80.03fghij	79.10defghij
Fused	81.30ij	80.68ghij	80.03fghij	80.35fghij	80.98hij	78.15bcdefghij
Fusfra2	74.70bcdefghi	75.63bcdefghij	74.70bcdefghi	76.93bcdefghij	74.40bcdefgh	73.78bcdef
Fusfra3	73.15bcde	74.10bcdefg	72.83bcd	73.15bcde	75.63bcdefghij	75.03bcdefghij
FusLp	71.90ab	72.20abc	73.75bcdef	71.90ab	75.65bcdefghij	74.73bcdefghi
Fuspc	78.15bcdefghij	75.95bcdefghij	81.50j	77.23bcdefghij	76.25bcdefghij	65.65a

Anexo 2. Análisis de varianza y prueba de separación de medias Tukey del crecimiento radial de los diferentes aislados de *Curvularia* sp, *Colletotrichum* sp y *Fusarium* sp.

Análisis de la varianza de CR de *Curvularia* (mm.hora⁻¹)

Variable N R² R² Aj CV
crecradhora 120 0.98 0.97 8.59

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	25.97	23	1.13	165.93	<0.0001
patógeno	4.60	5	0.92	135.14	<0.0001
tiempo	19.33	3	6.44	946.72	<0.0001
patógeno*tiempo	2.05	15	0.14	20.04	<0.0001
Error	0.65	96	0.01		
<u>Total</u>	<u>26.63</u>	<u>119</u>			

Cuadro Interacciones Crecimiento Radial <i>Curvularia</i>				
Aislados	24	48	72	96
Curvceb	7.82a	16.22cde	20.16ef	31.62jk
Curved	10.58ab	34.52jkl	38.58lm	40m
Curvfra2	7.18a	26.42hi	34.76jkl	35.50kll
Curvfra3	7.36a	25.18gh	33.92jk	34.08jkl
Curvlp	7.14a	15.40cd	19.78def	30.32ij
Curvpc	8.38a	14.44bc	20.92fg	32.52jk

Análisis de la varianza de CR de *Colletotrichum* (mm.hora⁻¹)

Variable N R² R² Aj CV
crecradhora 210 1.00 1.00 2.68

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	43.11	41	1.05	1357.24	<0.0001
patógeno	0.06	5	0.01	16.71	<0.0001
tiempo	42.62	6	7.10	9167.95	<0.0001
patógeno*tiempo	0.43	30	0.01	18.53	<0.0001
Error	0.13	168	7.7E-04		
<u>Total</u>	<u>43.24</u>	<u>209</u>			

Cuadro de Interacciones Crecimiento Radial <i>Colletotrichum</i>							
Aislados	24	48	72	96	120	144	168
Colceb	9.56a	14.08bc	17.28 ef	24.52g	30.56i	34.74j	38.08k
Coled	9.82a	13.72bc	17.22ef	28h	31.60 i	35.18j	40 l
Colfra2	9.66a	12.86b	16.38be	25.12g	31.22i	39.06kl	40 l
Colfra3	9.78a	12.94b	16.82ef	26.86h	31.60 i	38.78kl	40 l
Collp	9.32a	14.98cd	18.20 f	24.28g	31.12 i	39.82l	40 l
Colpc	9.18a	15.06cd	18.40f	23.82g	31.02 i	34.56j	40 l

Análisis de la varianza de CR de Fusarium (mm.hora⁻¹)

Variable N R² R² Aj CV
crecradhora 210 0.98 0.98 6.30

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<u>F.V.</u>	<u>SC</u>	<u>gl</u>	<u>CM</u>	<u>F</u>	<u>p-valor</u>
Modelo.	43.73	41	1.07	239.46	<0.0001
patógeno	0.87	5	0.17	39.06	<0.0001
tiempo	42.18	6	7.03	1578.36	<0.0001
patógeno*tiempo	0.68	30	0.02	5.09	<0.0001
Error	0.75	168	4.5E-03		
<u>Total</u>	<u>44.48</u>	<u>209</u>			

Cuadro de Interacciones Crecimiento Radial <i>Fusarium</i>							
Aislados	24	48	72	96	120	144	168
fusceb	8.46ab	13.68def	17.52fgh	23.08 i	30.54jkl	34.84mnopq	38.22pqrs
fused	8.28ab	12.22bcd	18.76gh	23.16 i	27.54j	32.74klmn	37.28opqrs
fusfra2	9.58abc	14.38def	20.38ghi	30.28 jkl	34.62mnop	37.88opqrs	40 s
fusfra3	8.52ab	13.38cde	20.48ghi	29.08 jk	33.98 lmno	36.92opqrs	39.60rs
fuslp	7.98a	16.52efg	21.34hi	30.62jkl	32.84 klmn	35.96mnopqr	38.76 qrs
fuspc	8.52ab	13.42cde	18.94gh	32.02klm	36.14nopqrs	38.94 rs	40 s

Anexo 3. Modelos de comparación del progreso de enfermedad bajo condiciones de invernadero

Se realizó los modelos de comparación de la enfermedad para cada uno de los patógenos aislados de las comunidades.

Modelos de comparación de *Curvularia* sp

Código	Modelo	R²	Cuadrado medio del error	Parámetro r
Curceb	Monomolecular	0.980097	0.025547	0.07470979
Cured	Monomolecular	0.977009	0.032171	0.099996569
Curfra2	Gompertz	0.939976	0.069231	0.318511027
Curfra3	Gompertz	0.935009	0.074479	0.329153007
CurLp	Monomolecular	0.957666	0.053217	0.119413344
Curpc	Gompertz	0.959571	0.061036	0.316885529

Modelo de comparación de *Colletotrichum* sp

Código	Modelo	R²	Cuadrado medio del error	Parámetro r
Colceb	Gompertz	0.941525	0.030619	0.116668308
Coled	Gompertz	0.940607	0.027952	0.098373944
Colfra2	Logístico	0.926803	0.040024	0.252700242
Colfra3	Monomolecular	0.954044	0.030423	0.060541372
ColLp	Gompertz	0.970719	0.030435	0.148493421
Colpc	Gompertz	0.979146	0.025805	0.149448869

Modelo de comparación de *Fusarium* sp

Código	Modelo	R²	Cuadrado medio del error	Parámetro r
Fusceb	Logístico	0.949019	0.077956	0.549744915
Fused	Logístico	0.968391	0.041228	0.311648495
Fusfra2	Logístico	0.961680	0.045984	0.318062483
Fusfra3	Logístico	0.972500	0.039495	0.324362062
Fuslp	Logístico	0.956058	0.048710	0.313194748
Fuspc	Logístico	0.952507	0.064572	0.454073298

