

**Efecto de Hongos Endofíticos sobre
Promoción de Crecimiento en Vitro plantas
de Banano y Piña**

Leonela Michelle Ramos Martínez

Zamorano

Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria
Noviembre, 2006

ZAMORANO
CARRERA DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

Efecto de Hongos Endofíticos sobre Promoción de Crecimiento en Vitro plantas de Banano y Piña

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera Agrónoma en el Grado
Académico de Licenciatura

Presentado por
Leonela Michelle Ramos Martínez

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2006

La autora concede a Zamorano permiso para reproducir y distribuir copias de este trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

Leonela Michelle Ramos Martínez

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2006

Efecto de Hongos Endofíticos sobre la Promoción de Crecimiento en Vitro plantas de Banano y Piña

presentado por

Leonela Michelle Ramos Martínez

Aprobada

Luis Ernesto Pocasangre, Ph.D.
Coasesor Principal

Alfredo Rueda, Ph.D.
Coordinador de Área Temática
Fitotecnia

Gloria Arévalo de Gauggel, M. Sc.
Coasesor

Abelino Pitty, Ph.D.
Director Interino Carrera de
Ciencia y Producción
Agropecuaria

Rogelio Trabanino, M. Sc.
Asesor

George Pilz, Ph.D.
Decano Académico

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

DEDICATORIA

A mi madre Gloria Martínez
A mi hermana Fanny
Quienes siempre me han apoyado.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Luís Pocasangre, consejero principal, por su orientación, disposición, apoyo y enseñanzas brindadas.

A la Ing. Gloria Arévalo, por su paciencia, colaboración y valiosos consejos

Al Ing. Rogelio Trabanino, por su disposición y consejos.

Al CATIE, por la oportunidad de realizar ésta investigación en dicha institución.

A la Red Internacional para el Mejoramiento del Banano y Plátano (INIBAP), por el apoyo brindado para la realización de esta investigación y por sus esfuerzos en la búsqueda del bienestar de los pequeños productores de banano y plátano.

A Emilge Riveros, por todas sus enseñanzas, disposición, colaboración y valiosos consejos.

A los compañeros de laboratorio Carmen, Cindy, Blanca, Alexandra, Danny, Manrique, Alfonso, José y Miguel, por compartir sus conocimientos, su amistad y apoyo.

A fanny, por sus consejos, por escucharme, por su amistad y por siempre cuidar de mí.

A Cristian Quispe por ser un gran apoyo, por su cariño, consejos, por acompañarme en momentos difíciles y darme ánimo.

A Jaime Fernández, por su apoyo, cariño, amistad y por estar siempre dispuesto a ayudar y escuchar.

A mis amigos de Zamorano Kory, Jessenia, Alina, Indira, Pamela, David y Daysi, por su compañía, apoyo y amistad.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

Al Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria (FONTAGRO), por el financiamiento para la realización de esta investigación.

A la Secretaría de Agricultura y Ganadería de Honduras, que me dio el soporte económico para realizar mis estudios.

RESUMEN

Ramos, L. 2006. Efecto de hongos endofíticos sobre promoción de crecimiento en vitroplantas de banano y piña. Proyecto Especial del programa de Ingeniero Agrónomo de la carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Zamorano, Honduras. 29 p.

Los hongos endofíticos son microorganismos benéficos, que viven dentro de los tejidos de la planta de una forma no sintomática. Establecen una simbiosis con la planta desarrollando una infección que puede llevarlas a aumentar su crecimiento y resistencia al estrés. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de promoción de crecimiento de hongos endofíticos sobre vitroplantas de banano y piña bajo invernadero. Se evaluaron 14 tratamientos: 12 inóculos de hongos endofíticos, seis aislamientos del género *Trichoderma* y seis aislamientos de cepas no patogénicas del género *Fusarium*, provenientes de suelos supresivos de Guatemala y Costa Rica; un inóculo con Mycoral[®] y un testigo absoluto. Un total de 280 vitroplantas fueron inoculadas, 140 de banano del cultivar Gran Enano y 140 de piña del híbrido MD-2. Se inocularon sumergiendo las raíces de las vitroplantas en 12 suspensiones de esporas, una por cada tratamiento, a una concentración de 1×10^6 esporas/ml durante cinco minutos. Luego fueron sembradas en macetas plásticas con capacidad de 1 litro para su endurecimiento. Los resultados obtenidos para promoción de crecimiento después de 60 días, mostraron que las plantas inoculadas con hongos endofíticos presentaron una mayor promoción de crecimiento comparados con el testigo. En banano las plantas inoculadas con los tratamientos Endofítico 1 (*Trichoderma*), Endofítico 2 (*Trichoderma*), 6.8 *Fusarium* y Endofítico 4 (*Fusarium*), mostraron los valores más altos en las variables altura, diámetro del pseudotallo, número de hojas activas, peso foliar y radical y desarrollo radical, el mayor desarrollo de sistema radical se registro en el tratamiento Mycoral[®]. En piña los tratamientos inoculados con Endofítico 3 (*Fusarium*), 2.10 *Trichoderma*, 3.10 *Trichoderma* y 1.4 *Trichoderma* mostraron un mejor desarrollo en las mismas variables. Para la variable número de hojas activas no se encontró diferencia significativa, sin embargo el mayor número se presentó siempre en tratamientos inoculados con hongos endofíticos.

Palabras clave: Cepas no patogénicas, *Fusarium oxysporum*, micorrizas, mutualistas, suelos supresivos, *Trichoderma*.

SUMMARY

Ramos Martinez, L. 2006. Effect of endophytic fungus on the growth promotion in banana and pineapple vitro plants. Thesis Ing. Agr. Zamorano, Honduras. 29 p.

The endophytic fungi are beneficial microorganisms, that live into the plant tissues in a non-symptomatic way. They establish a symbiosis with the plant developing an infection that can help them to get better growth rates and resistance to stress. The objective of the present study was to evaluate the growth promotion effect of the endophytic fungi and mycorrhizas on vitro plants of banana and pineapple under green house conditions. Fourteen treatments were evaluated: Twelve inoculums of endophytic fungi, six isolated strains of the genus *Trichoderma* and six isolated strains of the genus *Fusarium*, coming from suppressive soils of Guatemala and Costa Rica; one inoculum with Mycoral[®] and an absolute control. A total of 280 vitro plants were inoculated, 140 of the Grand Nain banana cultivar and 140 of the MD-2 hybrid of pineapple. They were inoculated submerging the vitro plants roots in the 12 spore suspensions, one per treatment, with a concentration of 1×10^6 spores/mL for five minutes. They were then transplanted into plastic pots with a capacity of 1 L for their hardening. The results obtained for the growth promotion after 60 days, showed that plants inoculated with endophytic fungi presented a higher growth promotion compared with the control. In banana, the plants inoculated with the Endofitico 1 (*Trichoderma*), Endofitico 2 (*Trichoderma*), 6.8 *Fusarium* and Endofitico 4 (*Fusarium*) treatments, showed the higher values in the height, pseudostem diameter, active leaf quantity, foliar and radical weight and radical development variables, the highest radical system development was registered in the Mycoral[®] treatment. In pineapple the plants inoculated with Endofitico 3 (*Fusarium*), 2.10 *Trichoderma*, 3.10 *Trichoderma* y 1.4 *Trichoderma* treatments showed a better development in the same variables. For the active leaf quantity variable there was not a significative difference, however the higher quantity was always observed in the treatments inoculated with endophytic fungi.

Key words: *Fusarium oxysporum*, mycorrhizas, mutualists, non-pathogenic strains, suppressive soils, *Trichoderma*.

CONTENIDO

Portadilla.....	i
Hoja de autoría	ii
Hoja de firmas	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos.....	v
Agradecimiento a patrocinadores	vi
Resumen	vii
Summary.....	viii
Contenido	ix
Índice de cuadros.....	xii
Índice de figuras	xii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 Revisión de literatura.....	3
1.2.1 Descripción botánica del banano	3
1.2.2 Descripción botánica de la piña.....	3
1.2.3 Hongos endofíticos.....	4
1.2.4 <i>Trichoderma</i>	5
1.2.5 <i>Fusarium oxysporum</i> (cepas no patogénicas).....	5
1.2.6 Micorrizas (VAM).....	6
2. OBJETIVOS	7
2.1 General	7
2.2. Específicos.....	7
2.3. Hipótesis	7
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
3.1 LOCALIZACIÓN	8
3.2 MATERIALES.....	8
3.2.1 Material vegetal	8
3.2.2 Hongos endofíticos.....	8
3.2.3 Micorrizas	8
3.2.4 Sustrato y recipiente de siembra	8
3.3 METODOLOGÍA.....	9
3.3.1 Cultivo de hongos	9
3.3.2 Preparación del inóculo	9
3.3.4 Establecimiento de las plantas	10
3.3.5 Medición de variables.....	10
3.4. Evaluación de las variables	11
3.5 Tratamientos	11
3.6 Diseño experimental y análisis estadístico	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13

4.1	Promoción de crecimiento en banano.....	13
4.1.1	Foliar.....	13
4.1.2	Peso Foliar y Radical.....	15
4.1.3	Sistema radical.....	17
4.2	Piña.....	18
4.2.	Promoción de crecimiento parte foliar	18
4.2.2	Pesos foliar y radical.....	20
4.2.3	Sistema Radical	22
5.	CONCLUSIONES	24
6.	RECOMENDACIONES	25
7.	BIBLIOGRAFÍA	26

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
1. Descripción de los tratamientos usados en el estudio del efecto de hongos endofíticos sobre promoción de crecimiento in vitro plantas de banano piña.....	12
2. Efecto de hongos endofíticos sobre la promoción de crecimiento en banano cultivar Gran Enano, después de seis semanas de crecimiento en condiciones de invernadero, CATIE, Costa Rica, 2006.	13
3. Efecto de hongos endofíticos en la producción de hojas activas en plantas de banano, CATIE, Costa Rica, 2006.....	15
4. Efecto de los hongos endofíticos sobre el peso foliar y radical en gramos, en plantas de banano cultivar Gran Enano, después de seis semanas de crecimiento bajo invernadero, CATIE, Costa Rica, 2006.	16
5. Efecto de hongos endofíticos sobre la promoción de crecimiento en raíces de banano cultivar Gran Enano después de seis semanas de crecimiento, CATIE, Costa Rica, 2006.....	17
6. Efecto de hongos endofíticos sobre la promoción de crecimiento en piña cultivar MD-2, después de seis semanas de crecimiento en condiciones de invernadero, CATIE, Costa Rica, 2006.....	19
7. Efecto de hongos endofíticos en la producción de hojas activas en plantas de banano, CATIE, Costa Rica, 2006.....	20
8. Efecto de hongos endofíticos sobre el peso foliar y radical en gramos, de plantas de piña variedad MD-2, después de seis semanas de crecimiento bajo invernadero, CATIE, Costa Rica, 2006.....	21
9. Efecto de hongos endofíticos sobre el crecimiento de raíces en plantas de piña variedad MD-2, después de seis semanas de crecimiento, CATIE, Costa Rica, 2006.....	22

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1.	Protocolo para la preparación de inóculo de hongos endofíticos.....9
2.	Protocolo de inoculación de vitro plantas con hongos endofíticos.10
3.	Incremento de los tratamientos inoculados con hongos endofíticos con relación al testigo para la variable altura y diámetro del pseudotallo en plantas de banano, CATIE, Costa Rica, 2006.14
4.	Incremento de los tratamientos inoculados con hongos endofíticos con relación al testigo en la evaluación del peso foliar y radical de plantas de banano variedad Gran Enano, CATIE, Costa Rica, 2006.16
5.	Incremento de los tratamientos inoculados con hongos endofíticos, con relación al testigo para la evaluación de raíces en planas de banano variedad Gran enano, CATIE, Costa Rica, 2006.....18
6.	Incremento de los tratamientos inoculados con hongos endofíticos, con relación al testigo para la variable altura y diámetro del pseudotallo en plantas de piña, CATIE, Costa Rica, 2006.19
7.	Incremento en pesos de plantas de piña inoculadas con hongos endofíticos comparado con el testigo, CATIE, Costa Rica, 2006.....21
8.	Incremento en crecimiento de raíces de piña promocionado por hongos endofíticos, con relación al testigo CATIE, Costa Rica, 2006.23

1. INTRODUCCIÓN

El banano y plátano (*Musa spp.*) es considerado el cuarto producto alimenticio más importante del mundo, el banano es uno de los cultivos con mayor extensión sembrada y la exportación de esta fruta ocupa el primer lugar en el ámbito de frutas frescas en el mundo (Sabio *et al.* 2001). El banano y plátano proporcionan alimento básico, producto para comercio local e internacional para más de 400 millones de personas en países del trópico y subtrópico (Panis *et al.* 2001).

En los últimos años, las producciones han disminuido debido a fitoparásitos y enfermedades que afectan al cultivo de banano, dentro de estas las más importantes son las Sigatokas (*Mycosphaerella spp.*) que causa daños en el follaje, el picudo (*Cosmopolitas sordidus*) afectando el cormo y los fitonemátodos que afectan el cormo y las raíces. Todo esto ha obligado a desarrollar nuevas estrategias de manejo en los ámbitos genético, químico, biológico y cultural, que ayuden a disminuir en alguna medida los daños ocasionados por estos fitoparásitos y enfermedades (Montiel *et al.* 1997).

La piña (*Ananas comosus*) tiene su origen en el norte de Brasil. El mercado de fruta fresca ha tenido auge desde la década de 1980 y esa tendencia ha continuado, por lo que se han dedicado grandes esfuerzos en investigación. Los principales mercados para la piña son Estados Unidos y Europa, abastecidos por Hawái, Honduras, Costa Rica y República Dominicana. En Costa Rica el volumen exportado en 1995 fue de 180,000 toneladas métricas de piña lo que generó un total de sesenta millones de dólares al país (Jiménez 1999). En los últimos años, ha incrementado la superficie dedicada a este cultivo, lo que ha logrado un precio más atractivo del producto. Pero a medida que aumenta la superficie, las enfermedades comienzan a convertirse en limitantes importantes en la producción (FONIAIAP 1993).

Estudios han demostrado que los aislamientos endofíticos promueven el crecimiento en plantas de banano. Pocasangre *et al.*(2000) y Meneses (2003), encontraron que el peso de las plantas y las raíces, así como el largo total de las raíces fue incrementado significativamente en plantas inoculadas con hongos endofíticos. Además Zum Felde (2002) señala que vitroplantas inoculadas con aislados del género *Fusarium* y *Trichoderma*, tuvieron un incremento en el peso de raíces de 35% y del sistema foliar de 19%, comparado con plantas que no fueron inoculadas. Menjivar (2005) encontró que la inoculación con hongos endofíticos de vitroplantas de banano, promovió el crecimiento significativamente, este efecto ocasionó que la siembra a campo definitivo se realizara dos semanas antes de la fecha programada.

Según Pocasangre (2003) recientes investigaciones acerca de poblaciones de hongos endofíticos presentes en tejidos de raíces de banano y plátano mostraron que el 10 % de

los hongos colectados poseen una alta actividad antagonista sobre el nemátodo barrenador *Radopholus similis*. Además presentaron una reducción del 90% en la población final del nemátodo *R. similis* en el sistema radical de las plantas protegidas con hongos endofíticos, mostrando un incremento en el peso radical y foliar en comparación con las plantas no protegidas. Igualmente Menjivar (2005) reportó que plantas protegidas con hongos endofíticos presentaron densidades de *R. similis* inferiores al testigo absoluto en fincas comerciales de Costa Rica.

Se han realizado estudios en vitroplantas de musáceas donde se ha mostrado un efecto positivo en la colonización de micorrizas (Pinochet *et al.* 1997). En Zamorano la respuesta del plátano micro propagado fue positiva en variables como crecimiento y desarrollo; las plantas que fueron inoculadas con micorriza mostraron mejor conformación y fueron más sanas que las no tratadas (Reyes 2001). Además Solís (2003) reportó que en plátano la tasa de crecimiento, expresada en altura y peso fue superior en plantas inoculadas con micorrizas, mostrando diferencias significativas contra el testigo.

El uso de hongos endofíticos abre paso a la tecnología del mejoramiento biológico de plantas, dicha tecnología consiste en introducir microorganismos benéficos, que bien pueden ser hongos endofíticos o micorrizas, al sistema de la planta, en este caso vitroplantas de banano y piña; esto a manera de ofrecer una protección temprana al material de siembra, esta tecnología puede mejorar el crecimiento de las plantas, aumentar su resistencia a plagas y es una alternativa para el control biológico de nemátodos, debido a su potencial antagonista (CATIE 2005).

Recientes estudios muestran que la inoculación con hongos endofíticos y otros microorganismos simbiotes, es una alternativa para sustituir a las fitohormonas en sistemas tecnológicos amigables. Estudios han demostrado que al inocular *Casuarina equisetifolia* con microorganismos simbiotes como ser la bacteria fijadora de nitrógeno *Frankia* en co-inoculación con el hongo micorrízico arbuscular *Glomus intraradices*, mostró un efecto de promoción de crecimiento significativamente superior al efecto producido por las fitohormonas comerciales, mostrando un incremento de 750% con respecto al testigo (Valdés *et al.* 2003).

En la actualidad las nuevas prácticas agrícolas, en especial las destinadas a exportación, exigen una producción más limpia, tratando de disminuir el uso de productos químicos que además de ser poco eficientes afectan en gran medida al medio ambiente. Una alternativa para estas nuevas exigencias es el uso de hongos endofíticos, los cuales ofrecen ventajas como 1) Asegurar la sobrevivencia de vitroplanta en la fase *ex vitro* mejorando su crecimiento, ya que estas son llevadas al campo en un estado muy débil; 2) Llevar al campo material de siembra protegido, lo cual las hace mas resistentes a ataques de plagas y fitoparásitos. Razón por la cual, la presente investigación busca estudiar el potencial de los hongos endofíticos y las micorrizas como promotores de crecimiento en cultivos de tanta importancia como son el banano y la piña, dada la existente necesidad de asegurar la sobrevivencia de las vitroplantas en la fase *ex vitro*.

1.2 Revisión de literatura

1.2.1 Descripción botánica del banano

El banano es una planta herbácea, monocotiledónea, pertenece a la familia de las musáceas, género *Musa* y orden Zingiberales (Simmonds 1966). Las raíces del banano aparecen en grupos de 3 ó 4, posee raíces superficiales y se desarrollan en una capa de 30 a 40 cm, aunque la mayoría se encuentran en los primeros 15 a 20 cm. Su longitud puede variar de 1 a 5 metros lateralmente y 1.5 metros de profundidad. La raíces de banano tienen un poder de penetración débil y su distribución está en función de la estructura y textura del suelo (Laville 1964). El tallo se define morfológicamente como un tallo que desarrolla hojas en la parte superior y raíces adventicias en la parte inferior, produce una yema vegetativa o retoño que sale de la planta madre, que al crecer forma el cormo. Los nudos están agrupados y en cada uno de ellos hay una hoja que se extiende lateralmente hasta circundarlo. El cormo tiene cerca del 35% de materia seca de la planta, es un importante órgano de almacenamiento que ayuda a sustentar el crecimiento del racimo (Champton 1968).

Las hojas se originan del punto central de crecimiento o meristemo terminal, situado en la parte superior del bulbo, luego se forma precozmente el pecíolo y la nervadura central terminada en filamento, lo que será la vaina posteriormente. La producción de las hojas cesa cuando emerge la inflorescencia (Soto 2002). El pseudotallo ofrece a la planta apoyo y la capacidad de almacenar reservas amiláceas; por otra parte, le permite alcanzar mayor altura y elevar el nivel de las láminas foliares que captan la luz solar. En una planta adulta puede medir 5 m de altura y 40 cm de diámetro según el clon. Su estructura es resistente y puede soportar el peso de las láminas foliares y de su inflorescencia que llega hasta 75 kg (Simmonds 1973).

Cuando se han producido cerca de 20 hojas, surge el tallo floral, cuya continuación forma el eje de la inflorescencia, donde las hojas son reemplazadas por brácteas femeninas y masculinas dando origen a la bellota. El fruto se forma partiendo de los ovarios de las flores pistiladas que muestran un gran aumento en volumen; la parte comestible es el resultado del engrosamiento de las paredes del ovario convertido en una masa parenquimatosa cargada de azúcar y almidón (León 1987).

1.2.2 Descripción botánica de la piña

La piña es una planta herbácea, monocotiledónea, pertenece a la familia de las Bromeliaceas, género *Ananas* y orden Bromeliales. Es una planta perenne que puede llegar a medir un metro de alto, el tallo está anclado al suelo, cuando alcanza su desarrollo puede llegar a medir hasta 80 o 100 mm de diámetro. De las yemas del tallo salen los retoños, del pedúnculo de la fruta salen hijos y de la parte superior sale la corona, ambos poseen yemas que pueden emitir raíces.

Una planta madura tiene alrededor de unas 60 a 80 hojas adheridas al tallo, las hojas poseen venas paralelas y espinas que se encuentran en la punta de la hoja, retienen un 7% del agua absorbida por las raíces, las hojas están cubiertas por un polvo blanco llamados tricomas que protegen a la planta de la pérdida de agua, los estomas se encuentran en el

envés de las hojas. Las plantas recién sembradas poseen raíces primarias, estas tienen una vida corta. La mayoría de las raíces son fibrosas, adventicias y secundarias. Las raíces que se encuentran en contacto con el suelo son cortas y huecas, excepto en suelos bien aireados. La inflorescencia comienza en el ápice del tallo, produce una flor color lavanda, primero abren las flores de la base; pasados 20 días todas las flores abren. Se producen de 100 a 200 flores por inflorescencia y el desarrollo de la fruta es partenocárpico. Aunque en algunos casos se puede dar polinización cruzada y se producirán semillas. La piña es una fruta compuesta cuyo corazón es una extensión del pedúnculo, la fruta es un racimo de frutículos individuales (Jiménez 1999).

1.2.3 Hongos endofíticos

Según Wilson (1995) son hongos que viven por todo o al menos una parte significativa de su ciclo de vida de una forma no sintomática dentro de tejidos o células de plantas. Carroll (1988) menciona que los endofíticos han evolucionado de un estado patogénico a un estado de latencia asociado a una reducción de la virulencia, estos hongos son residentes abundantes de las plantas en algunos casos más que los patógenos y micorrizas. Cuando la colonización de los tejidos le confiere una protección a la planta hospedera contra el ataque de agentes bióticos y abióticos, estos se denominan mutualistas (Carroll 1990; Latch 1993).

El hongo puede expresar su simbiosis hacia la planta de dos maneras; una de ellas es desarrollando una infección que produce una resistencia sistémica debido a una biomasa sustancial interna y por la producción de potentes toxinas que presentan un efecto detrimental hacia los patógenos que atacan a las plantas (Clay 1988). Micólogos y ecologistas que investigan la interacción endofítico-planta aceptaron estas interacciones como mutualismo (Breen 1994, Carroll 1986). De Bary (1986) afirma que es posible convenir que los endofíticos que viven internamente en la planta de una manera no sintomática han llegado a ser sinónimo de mutualistas.

Sikora (1992) y Pocasangre (2003), señalan que la mayoría de los hongos endofíticos pertenecen al grupo de los ascomicetos. Éstos pueden beneficiar a las plantas de dos maneras: alterando la fisiología de la planta, llevándolas a aumentar su crecimiento y pueden incrementar la resistencia al estrés causado por factores abióticos. Esto puede ser consecuencia de la producción de biomasa radical y el efecto biocontrolador que tienen sobre los fitonemátodos, lo que permite el aumento de la eficiencia del sistema radical en la obtención de nutrientes.

La presencia de microorganismos como rizobacterias, hongos depredadores de nemátodos, endomicorrizas y hongos endofíticos, hace más efectiva la capacidad amortiguadora de un suelo en la naturaleza, para suprimir la mayoría de los patógenos de suelo y problemas de nemátodos (Sikora 1992). Según Zum Felde (2002) en Guatemala suelos de fincas comerciales suprimen a los nemátodos y esta supresión fue transmitida de una plantación a otra, mediante el trasplante de cormo. Lo que puede indicar que la acción antagonista de estos hongos es desarrollada por una interacción endofítico-nemátodo, dentro de los tejidos de la planta. Se aislaron hongos de las mismas fincas

comerciales y se evaluaron en un bioensayo donde se reportó que plántulas inoculadas con hongos endofíticos presentaron una reducción directa en poblaciones de nemátodos.

Según Pocasangre *et al.* (2000) y Schuster *et al.* (1995), el uso de vitroplantas en plantaciones comerciales son una alternativa de protección al cultivo, pero al ser producidas *in vitro*, estas se encuentran libres de antagonistas, siendo más susceptibles a nemátodos y mal de panamá, a diferencia del material de siembra convencional que están colonizados con antagonistas naturales, por lo que es de suma importancia el mejoramiento biológico de vitroplantas, mediante la inoculación con hongos endofíticos que tengan una actividad antagonista contra nemátodos.

1.2.4 *Trichoderma*

El género *Trichoderma* es uno de los hongos ampliamente utilizado, debido a sus múltiples beneficios, es el fungicida biológico más estudiado y empleado, de igual forma es estimulador de crecimiento en plantas y utilizado como agente de bioremediación ya que degrada algunos grupos de pesticidas de alta persistencia en el ambiente (Esposito & Da Silva, 1998).

1.2.5 *Fusarium oxysporum* (cepas no patogénicas)

Booth (1984) señala que *Fusarium* es básicamente un género con esporas asexuales hialinas, septadas y cuya célula basal lleva una característica estructura de tacón. Beckman (1987) señala que las cepas no patogénicas son capaces de colonizar los tejidos de la planta, pero no desencadenan la enfermedad debido a que no tiene la capacidad de penetrar en el sistema vascular de la planta, esto es por una eficaz combinación de interacciones celulares, por las fuertes estructuras del tejido de la planta y por las respuestas de defensa de la planta.

Se han realizados estudios de control biológico desarrollados a partir del descubrimiento de la existencia de suelos supresores de las vasculariosis producidas por *Fusarium*. En donde se ha comprobado la existencia en esos suelos de cepas no patogénicas de *F. oxysporum* y cepas de *Pseudomonas fluorescens* cuya presencia e interacción producen un efecto supresor. La eficacia de un control biológico de este tipo esta en función de la densidad de la población de este microorganismo antagónico y de las cepas, debido a que no todas tienen la misma eficacia (Alabouvette *et al.* 1998).

Se ha demostrado que las cepas no patogénicas de *F. oxysporum* tiene tres modos de acción: competencia por nutrientes en la rizósfera, competencia por la infección de sitios en la rizósfera y la inducción de resistencia (Friting & Regrind, 1993; Hammerschmidt & Kuc, 1995).

Vu (2005) hace mención que aislados endofíticos de *F. oxysporum* al término de un periodo largo de 14 semanas, influyó significativamente en el crecimiento de banano correspondiendo en un 16-28% de peso fresco en raíces y tallos, en ausencia de *R. similis*. Otros estudios han documentado que aislados de *F. oxysporum* no tienen efecto en el crecimiento de banano con la presencia del nemátodo barrenador *R. similis*, aunque sí

reducen la capacidad reproductiva de los nemátodos en el sistema radical (Pocasangre *et al.* 2000; Niere 2001).

1.2.6 Micorrizas (VAM)

Los hongos micorrízicos pertenecen a la clase de los *Zygomycetes* y a la orden de los *Glomales*, distribuidos en seis géneros (*Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora* y *Scutellispora*). Estos se establecen en la zona cortical del sistema radical de sus hospederos, llegando a formar estructuras internas. Los arbusculos son estructuras que ayudan al aumento de la capacidad de absorción y aprovechamiento de nutrimentos en ambos simbioses y las vesículas, tienen la función de almacenar reservas que serán usadas por el hongo cuando exista una limitante energética.

Ambas estructuras son formadas por el micelio el cual tiene la característica de traslocar los gránulos de polifosfatos a los sitios donde el fósforo es demandado. Además del beneficio nutrimental que ofrecen, estos pueden beneficiar a la planta actuando como biocontroladores de patógenos de hábito radical. La actividad y beneficios obtenidos de los hongos micorrízicos es mayor cuando estos se encuentran en suelos con deficiencias de fósforo (Alarcón y Ferrera 1999).

2. OBJETIVOS

2.1 GENERAL

Determinar la acción de promoción de crecimiento de aislamientos endofíticos y micorriza sobre vitroplantas de banano y piña.

2.2. ESPECÍFICOS

- Seleccionar aislamientos endofíticos prospectos para la promoción de crecimiento.
- Determinar los dos mejores aislamientos endofíticos para cada cultivo.
- Determinar el efecto de Mycoral[®] en vitroplantas de banano y piña bajo invernadero.

2.3. HIPÓTESIS:

Hongos endofíticos y micorrizas inoculados en vitroplantas de banano y piña promueven el crecimiento.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LOCALIZACIÓN

El estudio se realizó en el laboratorio de Nematología y Calidad y Salud del Suelo del CATIE, el cual se encuentra en el cantón de Turrialba en la provincia de Cartago, Costa Rica, localizado a 9°52' latitud norte y 83°38' latitud oeste y a una altura de 602 msnm, la temperatura promedio es de 21.6 °C, 87% de humedad relativa.

3.2 MATERIALES

3.2.1 Material vegetal

Se usaron vitroplantas de banano cultivar Gran Enano y vitroplantas de piña MD-2, provenientes del laboratorio comercial de cultivo de tejidos Cristal Vitro. Estas se establecieron en la fase IV con seis semanas de endurecimiento colectivo bajo invernadero.

3.2.2 Hongos endofíticos

Se seleccionaron 12 aislamientos endofíticos, se usaron cepas de *Trichoderma* provenientes de suelos supresivos de Guatemala y Costa Rica, y cepas no patogénicas de *Fusarium oxysporum* provenientes de aislados recolectados en Sixaola y Talamanca en Costa Rica, estos se mantuvieron en incubadora a 24 °C en donde estuvieron en esporulación por dos semanas (cuadro 1).

3.2.3 Micorrizas

Se utilizó la fórmula comercial Mycoral[®], elaborado en La Escuela Agrícola Panamericana (EAP), que contiene tres especies de micorrizas vesículo-arbusculares (*Glomus* spp., *Acaulospora* spp. y *Entrophospora* spp.) seleccionadas por su efectividad simbiótica con plantas afines.

3.2.4 Sustrato y recipiente de siembra

Se realizó una mezcla de suelo y arena de río (1:1), la cual fue esterilizada en autoclave a 120°C, durante 40 minutos, en bolsas especiales para autoclavado. Las plantas se desarrollaron en macetas plásticas con capacidad de 1 litro.

3.3 METODOLOGÍA

3.3.1 Cultivo de hongos

A partir de los aislados endofíticos que se mantenían almacenados en el laboratorio de Salud y Calidad de Suelos se extrajo la cepa, la cual fue sembrada y cultivada en PDA (papa, dextrosa, agar) al 100%, permitiendo una esporulación de dos semanas, bajo condiciones asépticas. El procedimiento se repitió con cada uno de los aislados endofíticos.

3.3.2 Preparación del inóculo

Del cultivo de aislamientos endofíticos obtenido en platos petri, se removieron las esporas agregando 25 mL de agua estéril sobre el plato petri, después se hizo un raspado del micelio con una espátula de 3 cm de ancho y bordes redondeados. La solución obtenida del raspado del plato petri, fue filtrada haciendo uso de gasas y decantada en un beaker de 250 ml para obtener la suspensión de esporas. De cada suspensión se hizo un conteo de esporas usando un Hematocimetro de Neubauer, para medir la concentración de esporas, luego se ajustó la suspensión hasta llegar a una concentración de 1×10^6 esporas/mL. Se prepararon 12 suspensiones, una para cada hongo endofítico (figura1).

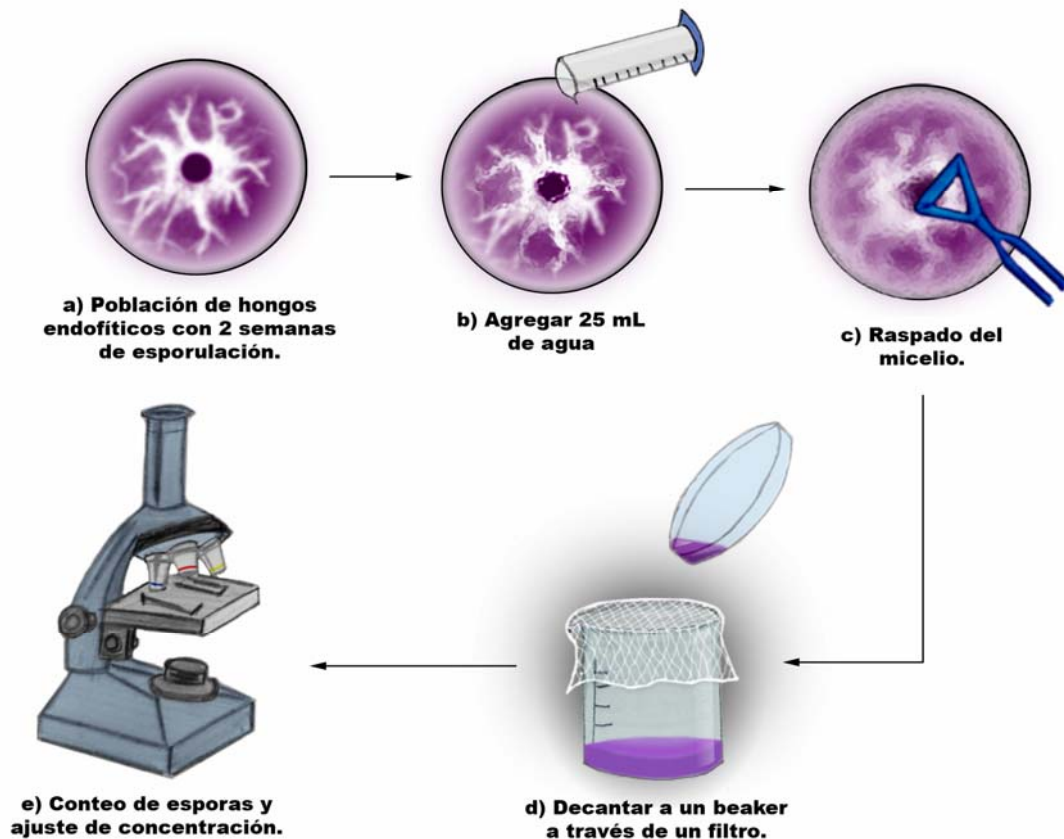


Figura 1. Protocolo para la preparación de inóculo de hongos endofíticos.

3.3.3 Inoculación

Se inocularon un total de 280 vitroplantas, 140 de banano y 140 de piña, de la siguiente manera: Se vertió cada una de las suspensiones en un recipiente grande, en donde se sumergieron 10 plantas de piña y 10 plantas de banano durante 5 minutos, pasado éste tiempo se retiraron de la suspensión. Luego, se procedió a transplantar las vitroplantas a las macetas plásticas con un sustrato de suelo y arena a una relación de 1:1 (figura 2). Para el tratamiento con micorrizas, se agregó 50 g de Mycoral[®], al momento del trasplante, agregando 25 g en el pilón y 25 g en las paredes y el fondo del hoyo de siembra.

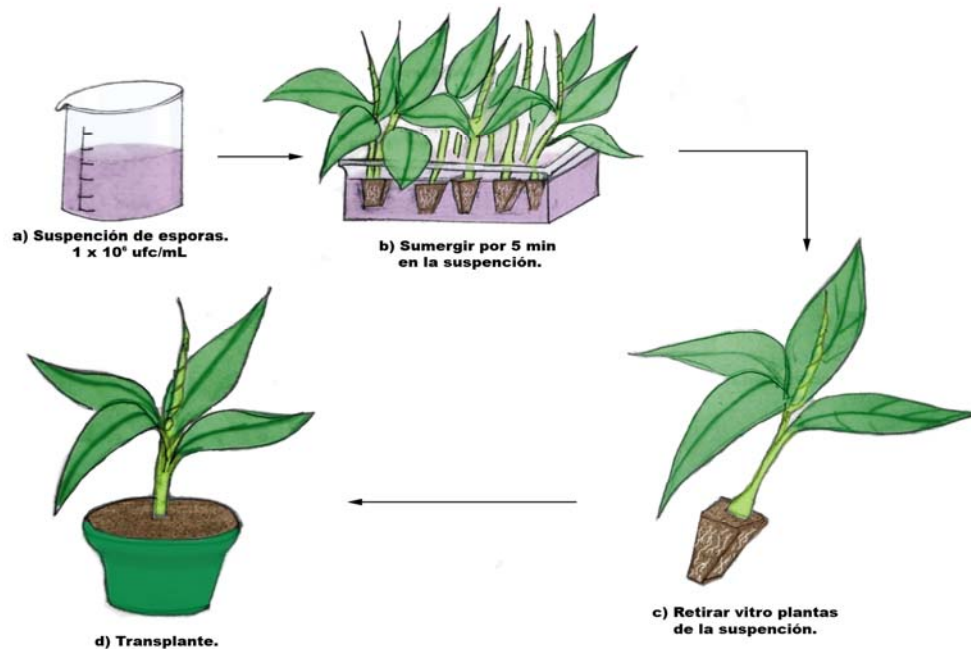


Figura 2. Protocolo de inoculación de vitroplantas con hongos endofíticos.

3.3.4 Establecimiento de las plantas

Las plantas se mantuvieron durante 60 días en crecimiento bajo invernadero, a una temperatura promedio de 22°C, con una humedad relativa de 87%. Se aplicaron 50 mL de agua cada dos días.

3.3.5 Medición de variables

Se determinaron las siguientes variables: Altura de la planta, diámetro del pseudotallo y número de hojas activas en la etapa de invernadero. Estas variables fueron medidas cada 20 días a partir de su establecimiento, para un total de tres mediciones durante todo el experimento.

Al día 60 se hizo el levantamiento del experimento y se procedió a evaluar las raíces de las plantas para medir el efecto de los hongos endofíticos como promotores de

crecimiento en raíces. Las variables medidas fueron: longitud de raíz, área superficial, diámetro promedio y volumen radical. Además se midió el peso fresco de planta y del sistema radical.

3.4. Evaluación de las variables

Foliar

La altura de la planta se midió colocando la regla desde el comienzo del rizoma hasta donde nace la hoja más reciente. El diámetro del pseudotallo se midió dos centímetros a partir del rizoma, haciendo uso de un pie de rey y se contaron las hojas activas que presentaba la planta en cada medición.

Pesos

El peso foliar y radical, se determinó al extraer la planta de la maceta y lavar las raíces a bajo caudal para evitar el daño de las mismas, luego con la ayuda de un bisturí se separó la parte foliar de la radical y se tomaron los pesos de ambas partes.

Sistema radical

Una vez pesadas las raíces, estas fueron analizadas mediante el software winRhizo[®]. Las raíces de cada planta se separaron y fueron extendidas en bandejas de 10 × 30 cm, donde se escanearon. Se determinó la longitud (cm), diámetro promedio (mm), área superficial (cm²) y volumen radical (cm³) de las plantas.

Incremento con respecto al testigo

Se calculó el incremento con relación al testigo de cada uno de los tratamientos en todas las variables, excepto en el número de hojas activas. El incremento se determinó con la fórmula:

$$\text{Incremento} = ((Mt / Mo) - 1) \times 100$$

Donde

Mt = medida del tratamiento en variable x

Mo = medida del testigo absoluto

3.5 Tratamientos

Fueron 14 tratamientos: Seis cepas de *Trichoderma*, seis cepas de *Fusarium*, Mycoral[®] y un testigo absoluto.

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos usados en el estudio del efecto de hongos endofíticos sobre promoción de crecimiento en vitroplantas de banano y piña, CATIE, Costa Rica, 2006.

Tratamiento	Código	Origen	Ingrediente Activo
T0	Testigo		
T1	End1	Guatemala	Trichoderma atroviride, MT 20
T2	End 2	Sixaola, Costa Rica	Trichoderma atroviride , S2
T3	2.7F	Duacaré, Costa Rica	Fusarium Aislado
T4	3.5F	Duacaré, Costa Rica	Fusarium Aislado
T5	3.16F	Duacaré, Costa Rica	Fusarium Aislado
T6	6.8F	Duacaré, Costa Rica	Fusarium Aislado
T7	End 3	Sixaola, Costa Rica	Fusarium,S9
T8	End 4	Talamanca, Costa Rica	Fusarium, P12
T9	1.4T	Duacaré, Costa Rica	Trichoderma Aislado
T10	2.10 T	Duacaré, Costa Rica	Trichoderma Aislado
T11	3.10T	Duacaré, Costa Rica	Trichoderma Aislado
T12	9.2 T	Duacaré, Costa Rica	Trichoderma Aislado
T13	Micorrizas	Zamorano (EAP)	Mycoral [®]

3.6 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), donde existieron 14 tratamientos (seis aislamientos de *Trichoderma*, seis aislamientos de *Fusarium*, uno con Mycoral[®] y el testigo), con 10 repeticiones, para cada cultivo. Los datos de cada variable fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA). El nivel de significancia usado fue $P < 0.05$, esto. También se hizo una comparación de medias usando la prueba Duncan.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Promoción de crecimiento en banano

4.1.1 Foliar

Al analizar la promoción de crecimiento bajo invernadero, se encontró diferencias significativas a favor de las plantas inoculadas con hongos endofíticos y Mycoral[®]. El cuadro 2 muestra que para la variable altura todos los tratamientos superaron al testigo siendo el de mayor valor el tratamiento 6.8 Fusarium, el cual mostró un incremento con relación al testigo de 154.39%. Para la variable diámetro del pseudotallo, todos los tratamientos superaron al testigo, excepto el 2.7 Fusarium. El tratamiento 9.2 Trichoderma y Endofítico 1 presentaron la mayor diferencia de diámetros, superando al testigo en 67 y 66% respectivamente (cuadro 2 y figura 3).

Cuadro 2. Efecto de hongos endofíticos sobre la promoción de crecimiento en banano cultivar Gran Enano, después de seis semanas de crecimiento en condiciones de invernadero, CATIE, Costa Rica, 2006.

Tratamiento	Altura (cm)						Diámetro(mm)					
	Inicial		Final		Diferencia		Inicial		Final		Diferencia	
Testigo	6.1	abc [‡]	7.8	d	1.7	f	6.7	d	8.3	gh	1.5	ab
Endofítico 1	6.9	ab	10.3	ab	3.4	abcd	8.3	ab	10.9	a	2.6	a
Endofítico 2	5.9	abc	8.7	cd	2.8	def	6.8	cd	8.9	efg	2.1	a
2.7 Fusarium	6.4	ab	8.7	cd	2.2	ef	7.1	bcd	7.7	h	0.5	b
3.5 Fusarium	5.3	c	9.6	bc	4.2	ab	7.1	bcd	8.9	fg	1.8	a
3.16 Fusarium	6.7	ab	10.9	a	4.1	abc	8.4	a	10.8	ab	2.3	a
6.8 Fusarium	6.6	ab	11.0	a	4.3	a	8.4	a	10.7	abc	2.2	a
Endofítico 3	6.6	ab	8.5	cd	1.8	ef	7.4	abcd	9.7	cdef	2.3	a
Endofítico 4	6.4	ab	9.5	bc	3.1	bcde	7.8	abcd	9.9	bcd	2.1	a
1.4 Trichoderma	7.0	a	9.5	bc	2.5	def	8.1	abc	10.0	abcd	1.9	a
2.10 Trichoderma	5.9	cd	9.5	bc	3.6	abcd	7.8	abcd	9.9	bcde	2.0	a
3.10 Trichoderma	6.2	abc	9.0	c	2.8	def	7.8	abcd	10.1	abcd	2.3	a
9.2 Trichoderma	6.5	ab	8.7	cd	2.2	ef	7.7	abcd	10.4	abc	2.6	a
Mycoral [®]	5.8	bc	8.8	c	3.0	cde	6.7	d	9.2	defg	2.5	a

[‡] Promedios acompañados de letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas según prueba Duncan $P \leq 0.05$.

Este efecto de promoción de crecimiento encontrado en la presente investigación, coincide con Menjivar (2005) quién al analizar la promoción de crecimiento de banano en vivero, encontró diferencias significativas a favor de los hongos endofíticos, obteniendo

valores mayores al testigo en altura y diámetro del pseudotallo. De igual forma Meneses (2003) demostró que ocho semanas después de proteger plantas con hongos endofíticos, estas presentan diferencias altamente significativas en promoción de crecimiento comparadas con el testigo.

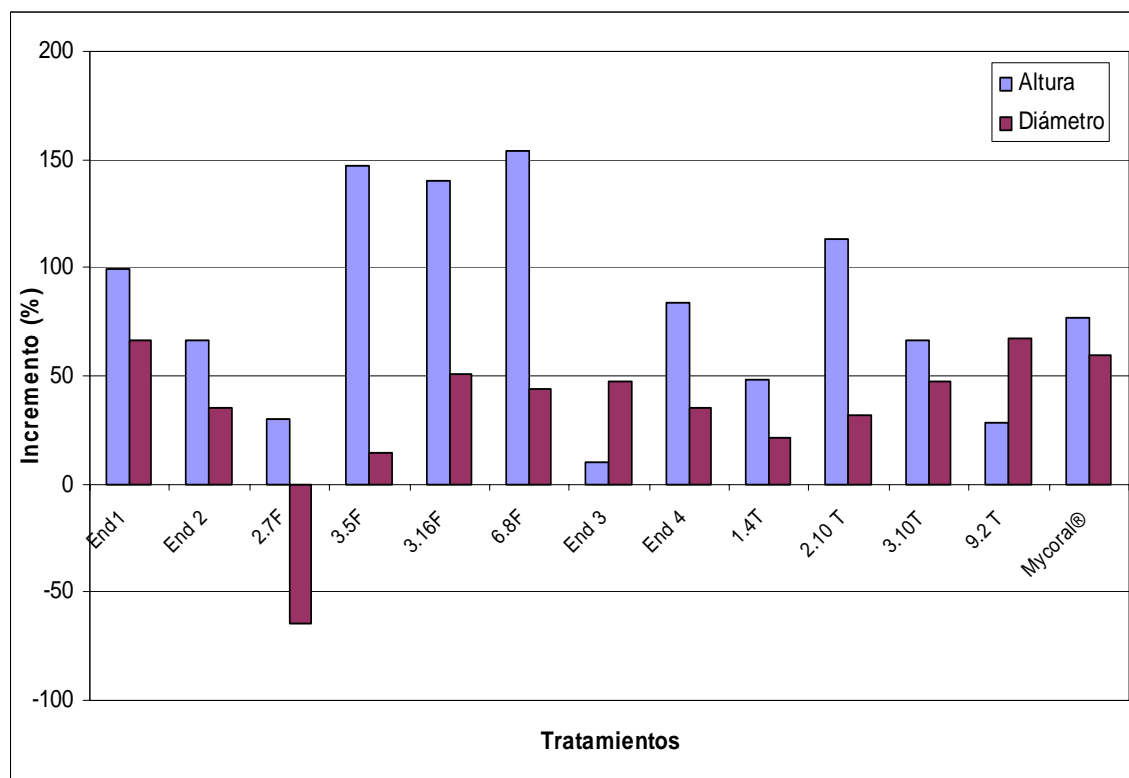


Figura 3. Incremento de los tratamientos inoculados con hongos endofíticos con relación al testigo para la variable altura y diámetro del pseudotallo en plantas de banano, CATIE, Costa Rica, 2006.

Hojas activas

Todos los tratamientos mostraron un comportamiento similar en la emisión de hojas, al contar el número de hojas a los 20 días después de la inoculación no se encontró diferencia significativa, sin embargo a los 60 días se encontró diferencias, siendo el tratamiento Endofítico 1 el que mostró el mayor número de hojas activas (cuadro 3). Menjivar (2005) registra que hongos endofíticos mostraron la misma tendencia que el testigo en número de hojas activas y que los endofíticos presentan un mayor número de hojas.

Cuadro 3. Efecto de hongos endofíticos en la producción de hojas activas en plantas de banano, CATIE, Costa Rica, 2006.

Tratamiento	Hojas activas (número de hojas)					
	20 [§]		40		60	
Testigo	5.6	abc [¶]	6.1	ab	5.6	bc
Endofítico 1	6.2	a	6.5	ab	6.9	a
Endofítico 2	5.3	abc	5.7	ab	5.1	cd
2.7 Fusarium	4.7	c	4.1	c	4.3	d
3.5 Fusarium	5.3	bc	5.6	b	5.4	bcd
3.16 Fusarium	5.8	ab	6.4	ab	6.5	ab
6.8 Fusarium	5.6	abc	6.3	a	5.7	abc
Endofítico 3	5.7	ab	6.1	ab	5.8	abc
Endofítico 4	6.1	ab	6.2	ab	6.6	ab
1.4 Trichoderma	5.7	ab	6.0	ab	6.2	abc
2.10 Trichoderma	5.6	abc	6.0	ab	6.1	abc
3.10 Trichoderma	5.7	ab	6.4	ab	6.2	abc
9.2 Trichoderma	5.7	ab	6.3	ab	6.7	ab
Mycoral [®]	5.6	abc	6.8	a	6.1	abc

[¶]Promedios acompañados de letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas según prueba Duncan $P \leq 0.05$.

[§] Conteos a los 20, 40 y 60 días después de siembra.

4.1.2 Peso Foliar y Radical

Para la variable peso foliar de la planta se encontró diferencia significativa a favor de los hongos endofíticos, el tratamiento con el valor más alto es el 6.8 Fusarium con 14.30g, superando al testigo en un 95 %. Para el peso radical el Endofítico 1 fue el más alto, con un incremento con relación al testigo del 43% (cuadro 4 y figura 4).

Meneses (2003) encontró que las plantas inoculadas con los hongos endofíticos correspondientes al género *Trichoderma*, tuvieron un incremento altamente significativo en peso del sistema foliar con un 29%, al compararlo con el testigo absoluto. Resultados similares fueron encontrados por Zum Felde (2002) quien encontró que plantas inoculadas con los aislados del género *Trichoderma* y *Fusarium*, incrementaron el peso de raíces y del sistema foliar en plantas de banano.

Cuadro 4. Efecto de los hongos endofíticos sobre el peso foliar y radical en gramos, en plantas de banano cultivar Gran Enano, después de seis semanas de crecimiento bajo invernadero, CATIE, Costa Rica, 2006.

Tratamiento	Peso foliar		Peso radical	
Testigo	7.3	de ^u	4.4	bcd
Endofítico 1	11.4	bc	6.3	a
Endofítico 2	8.8	cd	5.4	abc
2.7 Fusarium	5.6	e	1.7	e
3.5 Fusarium	8.6	cd	1.4	e
3.16 Fusarium	13.6	ab	3.2	d
6.8 Fusarium	14.3	a	3.4	d
Endofítico 3	8.7	cd	4.1	cd
Endofítico 4	9.1	cd	5.6	ab
1.4 Trichoderma	11.5	bc	5.1	abc
2.10 Trichoderma	11.0	bc	4.5	bcd
3.10 Trichoderma	10.8	bc	5.1	abc
9.2 Trichoderma	10.3	cd	4.8	bcd
Mycoral [®]	8.3	cde	5.1	abc

^u Promedios acompañados de letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas según prueba Duncan $P \leq 0.05$.

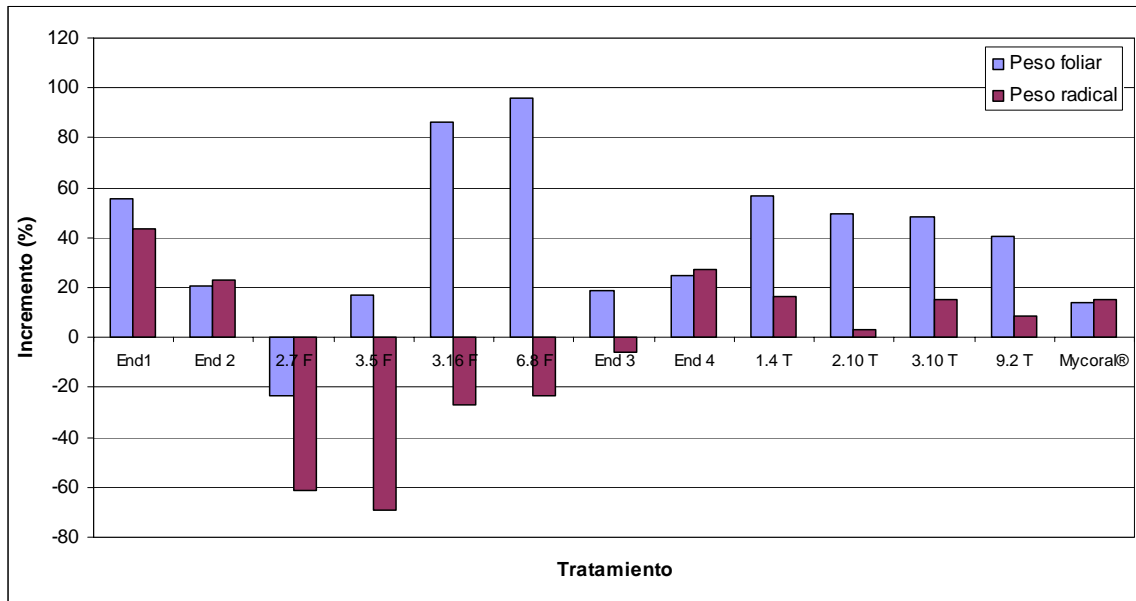


Figura 4. Incremento de los tratamientos inoculados con hongos endofíticos con relación al testigo en la evaluación del peso foliar y radical de plantas de banano variedad Gran Enano, CATIE, Costa Rica, 2006.

4.1.3 Sistema radical

Se encontró diferencia significativa para la variable longitud a favor de tratamientos inoculados con hongos endofíticos, el tratamiento Mycoral[®] mostró los valores más altos en longitud, volumen y área superficial de raíz con incrementos de 34, 23 y 28% por encima del testigo, respectivamente (cuadro 5). El tratamiento Endofítico 2 superó al testigo en un 20% en longitud, 13% en volumen de raíz y 17% en área superficial. Para el diámetro de raíces se encontró que el mejor tratamiento bajo las condiciones dadas es el 6.8 Fusarium con 1.40 cm seguido de 3.16 Fusarium con 1.35 cm, ambos superando al testigo en un 21 y 17% respectivamente, el menor valor se registró en el tratamiento 9.2 Trichoderma con 1.075 mm de diámetro y Mycoral[®] con 1.09 mm, siendo valores más bajos que el testigo (figura 5).

Tanto la promoción de crecimiento, como el cambio en la morfología de raíces en plantas protegidas con hongos endofíticos, fue demostrado por Pocasangre (2002) quién encontró que el peso de las plantas y las raíces, así como el largo total de las raíces fue incrementado significativamente en plantas inoculadas con hongos endofíticos, en distintos cultivares de banano (Gran enano, Gros michel, Bluggoe y FHIA-23).

Cuadro 5. Efecto de hongos endofíticos sobre la promoción de crecimiento en raíces de banano cultivar Gran Enano después de seis semanas de crecimiento, CATIE, Costa Rica, 2006.

Tratamiento	Longitud		Diámetro		Volumen		Área Superficial	
	cm		Mm		(cm) ³		(cm) ²	
Testigo	1027.2	bcd [†]	1.1	cdef	10.5	bc	367.2	bcde
Endofítico 1	905.1	cd	1.2	bcd	10.8	cd	349.4	cde
Endofítico 2	1232.9	ab	1.1	def	11.9	ab	430.1	ab
2.7 Fusarium	431.0	e	1.2	bc	5.3	f	170.6	f
3.5 Fusarium	387.7	e	1.2	bc	4.6	f	148.5	f
3.16 Fusarium	453.0	e	1.3	ab	6.2	ef	187.3	f
6.8 Fusarium	503.0	e	1.4	a	7.6	de	219.5	f
Endofítico 3	973.0	dc	1.1	cdef	9.2	cd	333.8	de
Endofítico 4	1070.6	bc	1.2	cdef	11.9	ab	398.6	bcd
1.4 Trichoderma	953.9	cd	1.2	bedef	10.7	abc	361.1	bcde
2.10 Trichoderma	875.6	cd	1.2	bede	10.1	bc	333.1	de
3.10 Trichoderma	797.0	d	1.2	cdef	9.0	cd	300.8	e
9.2 Trichoderma	1224.2	ab	1.0	f	11.0	abc	410.4	abc
Mycoral [®]	1378.6	a	1.0	ef	12.9	a	473.3	a

[†]Promedios acompañados de letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas según prueba Duncan $P \leq 0.05$.

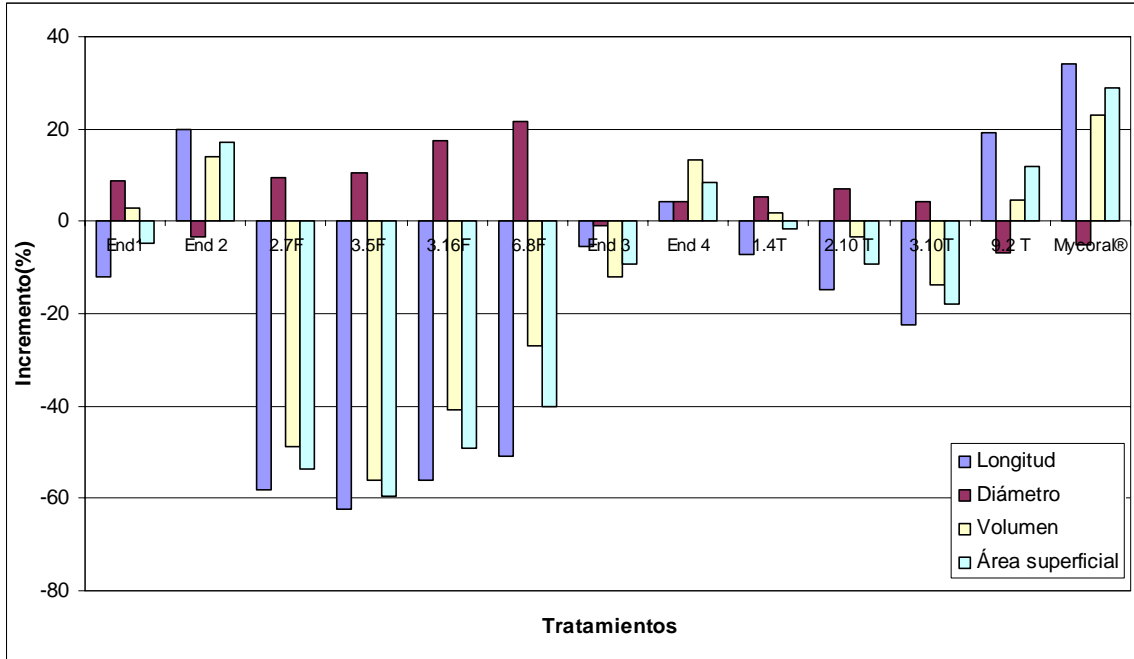


Figura 5. Incremento de los tratamientos inoculados con hongos endofíticos, con relación al testigo para la evaluación de raíces en planas de banano variedad Gran enano, CATIE, Costa Rica, 2006.

4.2 Piña

4.2.1 Promoción de crecimiento parte foliar

Para la variable altura se encontró diferencia significativa a favor de los hongos endofíticos, el tratamiento con mayor valor fue Endofítico 3 que supera al testigo un 120%. Para el diámetro se encontró que el mejor tratamiento fue Endofítico1 con 90% más que el testigo (cuadro 6 y figura 6).

Este efecto de promoción de crecimiento fue demostrado por Pocasangre (2004) quien encontró una promoción de crecimiento para las variables altura, diámetro y emisión de hojas en plantas de banano. Vu (2005) encontró en aislamientos no patogénicos de *F. oxysporum*, promovieron el crecimiento de banano en un periodo de 14 semanas, influyendo significativamente sobre el crecimiento de banano en un 16-28% de peso fresco en raíces y tallos. Sosa (2005) reportó que plantas protegidas con hongos endofíticos mostraron un crecimiento significativo de 11% para la variable altura de planta, 9% para circunferencia de pseudotallo y un 6% en la emisión foliar y un 14% en el peso de la raíz funcional, comparado a las plantas del testigo absoluto.

Cuadro 6. Efecto de hongos endofíticos sobre la promoción de crecimiento en piña cultivar MD-2, después de seis semanas de crecimiento en condiciones de invernadero, CATIE, Costa Rica, 2006.

Tratamiento	Altura (cm)			Diámetro (mm)		
	Inicial	Final	Diferencia	Inicial	Final	Diferencia
Testigo	13.5	15.9	2.4	14.1	16.1	2.0
Endofítico 1	14.7	18.9	4.2	13.7	17.0	3.3
Endofítico 2	15.7	19.3	3.6	14.3	17.4	3.0
2.7 Fusarium	13.8	15.7	1.9	13.5	15.5	2.0
3.5 Fusarium	13.1	15.4	2.3	13.6	16.9	3.3
3.16 Fusarium	13.3	16.2	2.8	14.6	16.9	2.2
6.8 Fusarium	14.4	16.4	2.0	13.4	15.8	2.3
Endofítico 3	13.7	18.9	5.2	13.8	16.4	2.6
Endofítico 4	14.3	18.0	3.7	15.1	17.3	2.2
1.4 Trichoderma	14.2	17.2	3.0	15.4	17.6	2.2
2.10 Trichoderma	14.5	18.9	4.4	14.6	17.1	2.2
3.10 Trichoderma	14.1	17.3	3.1	14.6	16.7	2.1
9.2 Trichoderma	13.1	14.8	1.7	13.3	15.3	2.0
Mycoral®	13.5	15.9	2.3	15.2	17.3	2.1

[†] Promedios acompañados de letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas según prueba Duncan $P \leq 0.05$.

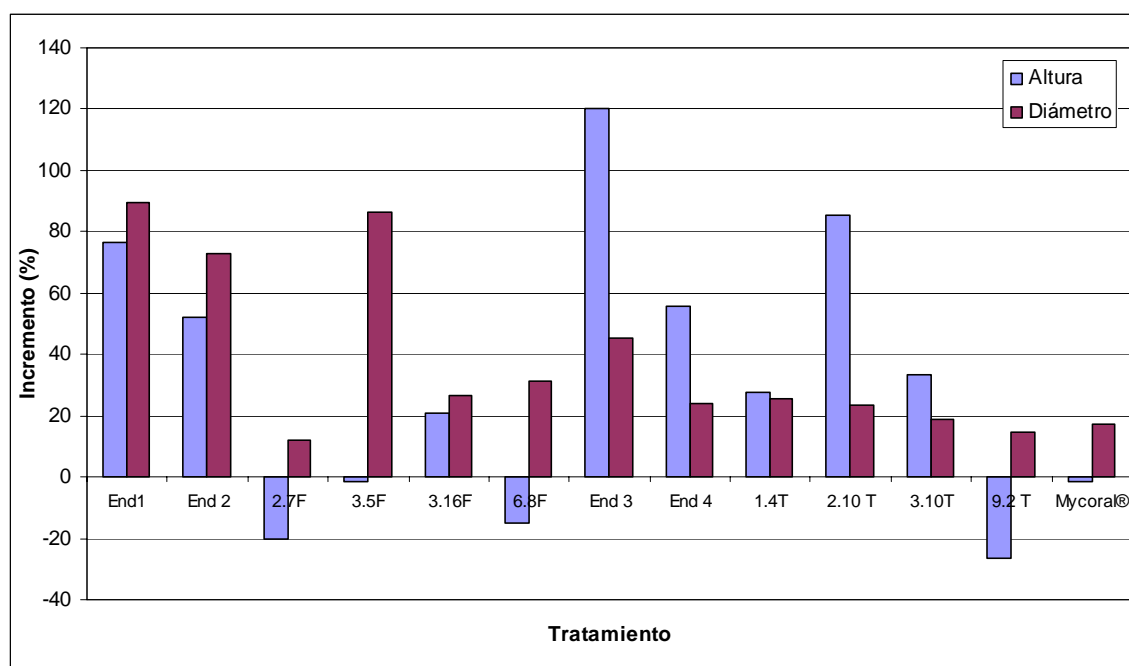


Figura 6. Incremento de los tratamientos inoculados con hongos endofíticos, con relación al testigo para la variable altura y diámetro del pseudotallo en plantas de piña, CATIE, Costa Rica, 2006.

Hojas activas

Todos los tratamientos mostraron un comportamiento similar en la emisión de hojas activas, sesenta días después de la inoculación con hongos endofíticos no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos, pero el mayor valor fue encontrado en el tratamiento 2.10 *Trichoderma* con 19.7 hojas (cuadro 7).

Cuadro 7. Efecto de hongos endofíticos en la producción de hojas activas en plantas de banano, CATIE, Costa Rica, 2006.

Tratamiento	Hojas activas (número de hojas)					
	20 [§]		40		60	
Testigo	14.3	abc [*]	15.4	bc	17.2	ab
Endofítico 1	15.9	a	17.6	a	17.1	ab
Endofítico 2	14.1	abc	16.7	abc	19.4	ab
2.7 <i>Fusarium</i>	13.3	bc	15.1	c	17.4	ab
3.5 <i>Fusarium</i>	14.6	abc	16.0	abc	16.8	ab
3.16 <i>Fusarium</i>	13.7	bc	16.5	abc	17.4	ab
6.8 <i>Fusarium</i>	14.1	abc	16.2	abc	17.5	ab
Endofítico 3	14.6	abc	17.8	a	16.5	ab
Endofítico 4	15.6	ab	17.7	a	15.8	b
1.4 <i>Trichoderma</i>	16.0	a	17.5	ab	17.8	ab
2.10 <i>Trichoderma</i>	15.5	ab	17.1	abc	19.7	a
3.10 <i>Trichoderma</i>	14.5	abc	16.2	abc	16.2	ab
9.2 <i>Trichoderma</i>	14.8	abc	15.2	c	16.5	ab
Mycoral [®]	15.3	abc	16.0	abc	16.3	ab

^{*}Promedios acompañados de letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas según prueba Duncan $P \leq 0.05$.

[§] Conteos a los 20, 40 y 60 días después de la siembra.

4.2.2 Pesos foliar y radical

Las plantas que obtuvieron pesos mayores fueron las tratadas con Endofítico 3 y Endofítico 4 con 22.6 y 22.2 gramos respectivamente, superando al testigo en 50.47 y 47.8%, respectivamente. Para el peso radical no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos, por lo que presentaron la misma tendencia, el tratamiento con mayor valor fue el Endofítico3 con 35.9% más que el testigo (cuadro 8 y figura 7).

Zum Felde (2002) encontró que vitroplantas inoculadas con aislados del género *Fusarium* y *Trichoderma*, habían tenido un incremento en peso de raíces y del sistema foliar, de 35% y 19% comparado a plantas que no fueron inoculadas.

El efecto de promoción de crecimiento de hongos endofíticos en peso radical y foliar de plantas de piña no fue tan evidente como lo fue en banano, esto puede atribuirse a que los aislamientos endofíticos fueron obtenidos de plantaciones de banano y plátano.

Cuadro 8. Efecto de hongos endofíticos sobre el peso foliar y radical en gramos, de plantas de piña variedad MD-2, después de seis semanas de crecimiento bajo invernadero, CATIE, Costa Rica, 2006.

Tratamiento	Peso foliar		Peso radical	
Testigo	15.0	c ^ψ	3.1	ab
Endofítico 1	20.5	ab	1.7	b
Endofítico 2	20.7	ab	2.0	ab
2.7 Fusarium	13.4	c	1.2	b
3.5 Fusarium	15.5	c	1.5	b
3.16 Fusarium	13.8	c	1.3	b
6.8 Fusarium	15.1	c	1.3	b
Endofítico 3	22.6	a	4.2	a
Endofítico 4	22.2	a	1.9	ab
1.4 Trichoderma	14.7	c	2.0	ab
2.10 Trichoderma	17.5	bc	3.3	ab
3.10 Trichoderma	16.8	bc	2.7	ab
9.2 Trichoderma	12.8	c	1.1	b
Mycoral [®]	15.6	c	1.1	b

^ψ Promedios acompañados de letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas según prueba Duncan $P \leq 0.05$

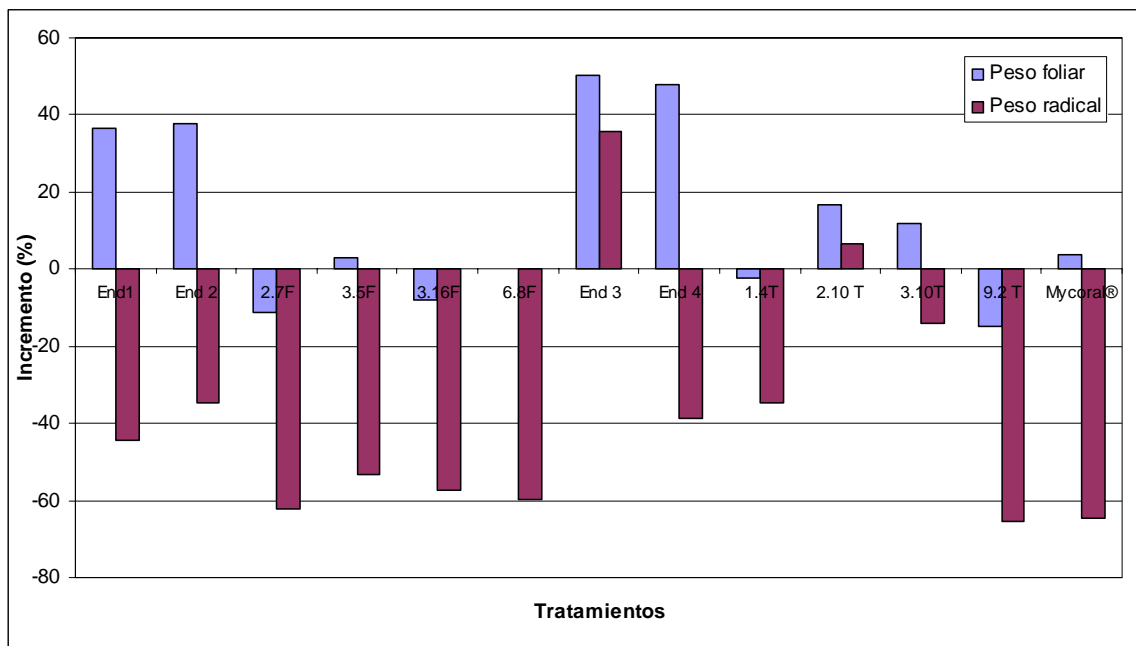


Figura 7. Incremento en pesos de plantas de piña inoculadas con hongos endofíticos comparado con el testigo, CATIE, Costa Rica, 2006.

4.2.3 Sistema Radical

El tratamiento 2.10 Trichoderma obtuvo el mayor valor en longitud, volumen y área superficial, con incrementos de 70, 78 y 75% por encima del testigo, respectivamente. Mientras que el tratamiento 3.10 Trichoderma obtuvo el mayor diámetro, y fue el segundo mayor en volumen y área superficial, superando al testigo en 8, 48 y 37 % respectivamente (cuadro 9 y figura 8).

Cuadro 9. Efecto de hongos endofíticos sobre el crecimiento de raíces en plantas de piña variedad MD-2, después de seis semanas de crecimiento, CATIE, Costa Rica, 2006.

Tratamiento	Longitud		Diámetro		Volumen		Área superficial	
	cm		mm		(cm) ³		(cm) ²	
Testigo	566.1	bcd ^u	1.0	abc	5.0	bc	189.0	bcde
Endofítico 1	524.9	bcde	1.0	abc	4.3	bc	168.9	cdef
Endofítico 2	596.8	bc	0.9	bc	4.5	cb	185.0	cdef
2.7 Fusarium	314.9	e	1.0	abc	2.6	c	101.6	f
3.5 Fusarium	402.3	cde	1.0	abc	3.3	bc	128.7	def
3.16 Fusarium	320.1	e	1.0	ab	2.8	bc	107.1	ef
6.8 Fusarium	303.7	e	1.1	a	2.8	bc	104.4	f
Endofítico 3	705.5	b	0.9	c	5.1	b	212.8	bc
Endofítico 4	615.7	bc	0.9	bc	4.3	bc	182.8	bcdef
1.4 Trichoderma	661.9	b	1.0	bc	5.0	bc	205.4	bcd
2.10 Trichoderma	962.2	a	1.0	ab	9.0	a	329.8	a
3.10 Trichoderma	722.0	b	1.1	a	7.5	a	259.9	ab
9.2 Trichoderma	333.5	de	1.0	abc	2.9	bc	110.5	ef
Mycoral [®]	410.6	cde	1.0	abc	3.5	bc	133.7	cdef

^u Promedios acompañados de letras diferentes en la misma columna denotan diferencias significativas según prueba Duncan $P \leq 0.05$.

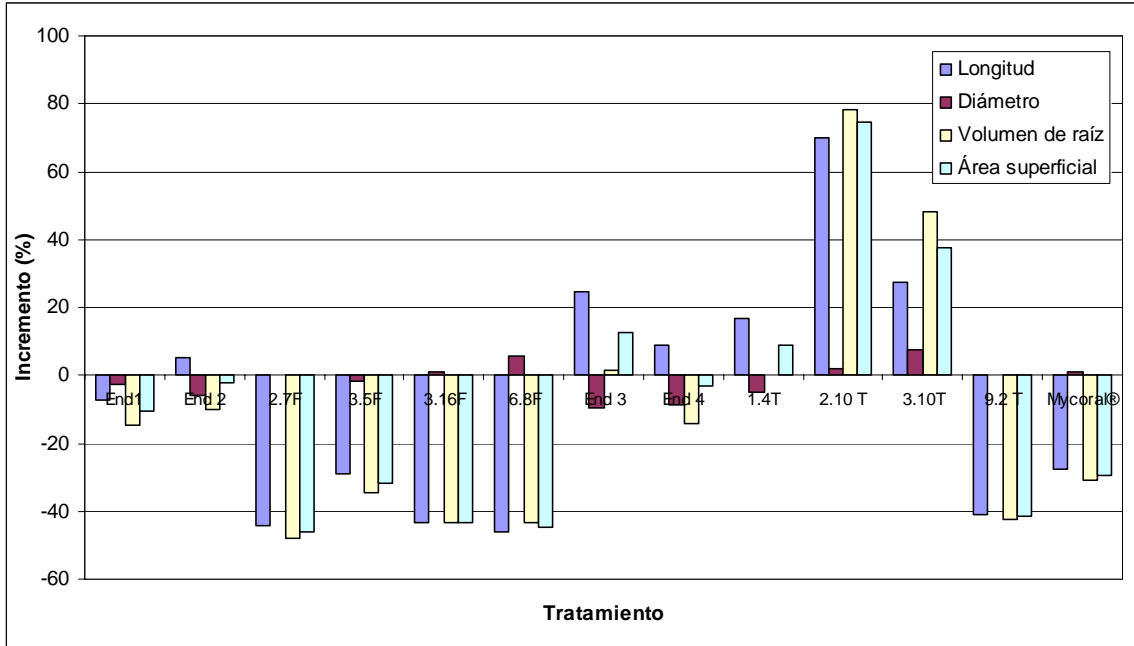


Figura 8. Incremento en crecimiento de raíces de piña promocionado por hongos endofíticos, con relación al testigo, CATIE, Costa Rica, 2006.

5. CONCLUSIONES

Vitroplantas de banano y piña inoculadas con hongos endofíticos y Mycoral[®], mostraron un mayor de crecimiento, expresado en altura, diámetro emisión foliar, peso y desarrollo del sistema radical, comparadas con el testigo. Siendo en su mayoría los tratamientos pertenecientes al género *Fusarium* los que presentaron un efecto mayor en banano y pertenecientes el género *Trichoderma* para los que presentaron el mayor efecto en piña.

El estudio de las variables de promoción de crecimiento: altura, diámetro emisión foliar, peso y desarrollo del sistema radical, demostró que de los 12 tratamientos los que presentaron resultados mayores fueron: Endofítico 1, Endofítico 2, 6.8 *Fusarium*, Endofítico 3, Endofítico 4, 1.4 *Trichoderma* 2.10 *Trichoderma* 3.10 *Trichoderma* y Mycoral[®]. Los cuatro tratamientos restantes mostraron comportamiento similar o por debajo que el testigo.

Para el cultivo de banano, se encontró que los mejores tratamientos fueron el Endofítico 2, registrando un incremento en altura y diámetro de 66 y 35% respectivamente y una longitud de raíz 20% mayor que el testigo; el Endofítico 4, mostró una altura y diámetro del pseudotallo mayor que el testigo de 84 y 35% respectivamente.

En banano el análisis radical realizado a través del programa winRhizo[®], mostró que el tratamiento Mycoral[®] tuvo un efecto altamente significativo en la promoción de crecimiento de raíces superando al testigo en un 34% en longitud de raíz, 23% en volumen de raíz y 29% en área superficial..

Para el cultivo de piña, los mejores tratamientos fueron: Endofítico 3, que mostró una altura 120% y diámetro 45% mayor que el testigo, superó en 50% al testigo en peso foliar y 35% en peso radical; y el tratamiento 2.10 *Trichoderma* mostró una altura 85% mayor al testigo y longitud de raíz 69% superior al testigo.

6. RECOMENDACIONES

Realizar más estudios del efecto de hongos endofíticos y Mycoral[®] sobre promoción de crecimiento de plantas de piña, con la intención de reforzar los resultados obtenidos en el presente estudio.

Incorporar en estudios de hongos endofíticos y Mycoral[®] la evaluación del peso seco de la planta y hacer análisis del sustrato de siembra y foliar, para evaluar el efecto de los hongos endofíticos en la absorción de nutrientes de la planta.

Realizar estudios de promoción de crecimiento en otros cultivos de importancia económica.

7. BIBLIOGRAFÍA

Alabouvette, C; Bakker, P; Lemanceau, P; Schippers, B. 1998. Biological Control of *Fusarium* Wilts. In G Boland; L Kuykendall. eds. Plant Microbe Interactions and Biological Control. New York, US, Marcel Dekker Inc. 15-31 p.

Alarcon, A; Ferrera, R. 1999. Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas. TERRA Latinoamericana 19(1): 29-35.

Breen, JP. 1994. *Acremonium* endophyte interactions with enhanced plant resistance to insects. Annual Review of Entomology 39: 401-423 p.

Beckman, CH. 1987. The Nature of Wilt Diseases of Plants. St. Paul, Minnesota, US. 182 p.

Booth, C. 1984. The *Fusarium* problem: historical, economic, and taxonomic aspects. In Moss, MO; Smith, JE. eds. The Applied mycology of *Fusarium*. Cambridge. GB. Cambridge University Press. 1-13 p.

Carrol, GC. 1986. The biology of endophytism in plants with particular reference to woody perennials. In Fokkema, NJ; Heuvel, J. eds. Microbiology of the *Phyllosphere*. Cambridge. GB. Cambridge University Press. 205-222 p.

Carroll, GC. 1988. Fungal Endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. Ecology 69: 2-9 p.

Carroll, GC. 1990. Fungal endophytes in vascular plants: Mycological research opportunities in Japan. Transactions of the Mycological Society Japan 31:103-116 p.

Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza CATIE. 2005. Herramientas agroecológicas para la toma de decisiones. Informe anual (Diapositivas). 6 diapositivas, color.

Champion, J. 1968. El plátano. Barcelona, Es. Editorial Blume. 247 p.

Clay, K; Hardy, TN; Hammond, AM. 1988. Fungal endophytes of *Cyperus* and their effect on an insect herbivore. American Journal of Botany 72: 1284-1289.

De Bary, A. 1986. Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten, und Myxomyceten, Vol. II.-Hofmeister's Handbook of Physiological Botany. W. Engelmann:Leipzig.

Esposito, E; Da Silva, M. 1998. Systematical and environmental application of the genus *Trichoderma*. *Critical Review in Microbiology* 24: 89-98.

FONIAIAP. 1993. Hoja divulgativa N.44. Sep-dic (En línea). Disponible en <http://www.ceniap.gov.ve/publica/divulga/fd44/texto/distribución.html>.

Friting, B; Regrind, M. 1993. *Mechanisms of Plant Defense Responses*. Dordrecht, The Netherlands. Kluwer Academic Publishing. 480 p.

Hammerschmidt, R; Kuc, J. 1995. *Induced Resistance to Disease in Plants*. Dordrecht, The Netherlands. Kluwer Academic Public. 182 p.

Jimenez, J. 1999. El cultivo de la piña. Ed. Cartago. CR. . Tecnológica de Costa Rica 13-21 p.

Latch, GCM. 1993. Physiological interactions of endophytic fungi and their hosts. Biotic stress tolerance imparted to grasses by endophytes. *Agriculture, Ecosystems and environments* 44: 143-156.

Laville, E. 1964. Études de la mycoflore des racines du bananier "poyo". *Fruits* 19(8): 435-449.

León, J. 1987. Botánica de los cultivos tropicales. IICA. San José, Costa Rica. *In* M Leichner. Ed. *The Americas Trade and Sustainable Development Agenda*. Inglaterra. Editorial Aldershot. 23-24 p.

Meneses Hernández, A. 2003. Utilización de hongos endofíticos provenientes de banano orgánico para el control biológico del nemátodo barrenador *Radopholus similis* (Cobb) Thorne. Tesis Msc. Turrialaba, CR. CATIE 60 p.

Menjivar Barahona, R. 2005. Estudio del potencial antagonista de hongos endofíticos para el biocontrol del nemátodo barrenador *Radopholus similis* en plantaciones de banano en Costa Rica, Tesis Msc. Turrialaba, CR. CATIE40 p.

Montiel, C; Sosa, L; Medrano, C; Romero D. 1997. Nemátodos fitoparasitarios en plantaciones de plátano (*Musa* AAB) del margen del río Chana. Zulia, Venezuela. Universidad de Zulia. 245-251 p.

Niere, BI. 2001. Significant of non- pathogenic isolate of *Fusarium oxysporum* Schlecht: Fries for the biological control of the burrowing nematode *Radopholus similis* (Cobb) Thorne on tissue cultured banana. Ph. D. Thesis, Bonn, DE. University of Bonn. 118 p.

Pannis, B; Thinh, NT. 2001. Cryoconservation de germoplasma de *Musa*. *In* JV Escalant; S Sharrock. eds. *Guías técnicas INIBAP 5*. Montpellier. FR. Red Internacional para el mejoramiento del banano y el plátano (INIBAP). 5 p.

Pinochet, J; Fernández, C; Jaizme, MC; Tenoury, P. 1997. Micropropagated Banana Infected with *Meloidogyne javanica* Responds to *Glomus intraradices* and Phosphorus. Hort Science 32(1): 1001-103.

Pocasangre, L. 2002. Mejoramiento biológico de vitroplantas de banano mediante la utilización de hongos endofíticos para el control del nematodo barrenador *Radopholus similis*. In AS Riveros; L Pocasangre; FE Rosales. eds. Inducción de resistencia y uso de tecnología limpias para el manejo de plagas en plantas. Memoria del taller internacional realizado en CATIE. Turrialba CR. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) 33-39 p.

Pocasangre, L. 2003. Nuevas estrategias para el manejo de nematodos en Musáceas. In Taller Manejo convencional alternativo de la Sigatoka negra, nemátodos y otras plagas asociadas al cultivo de Musáceas en los trópicos. Guayaquil, EC. MUSALAC/INIBAP/FUNDAGRO. 121 p.

Pocasangre, L; Schuster, P; Sikora, RA; Vilich, V. 2000. Survey of banana endophytic fungi from Central America and screening for biological control of *Radopholus similis*. In M Blanke; J Pohlan. eds. ISHS Conference on Fruit Production in the Tropics and Subtropics (2000). DE. Bonn. 283-289 p.

Pocasangre, L; Zum felde, A; Meneses, A; Cañizales, A; Riveros, AE; Rosales, F; Sikora, RA. 2004. Manejo alternativo de fitonemátodos en banano y plátano. In: memorias, XVI reunión internacional de ACORBAT, Oaxaca, ME. 106-112 p.

Reyes, B. 2001. Uso de L-Cisteína y ácido ascórbico para el control de la oxidación durante el establecimiento y la multiplicación *in vitro* de ápices meristemáticos de tres cultivares de plátano (*Musa spp.*) incubados bajo condiciones de luz y oscuridad. Tesis Lic. Ing. Agr. El Zamorano, Honduras. 52 p.

Sabio, C; Salgado, C; Salgado, V. 2001. Manual del cultivo del banano. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. 78 p.

Schuster RP; Sikora, R; Amin, N. 1995. Potential of endophytic fungi for the biological control of plant parasitic nematodes. Journal of the Agricultural University of Gent. Belgium 60 (3b):1047-1052 p.

Sikora, R.A. 1992. Management of the antagonistic potencial in agricultural ecosystems for the control of plant parasitic nematodes. Annual Review of Phytopatology 30: 245-270 p.

Simmonds, NW. 1966. Bananas, 2nd ed. Longman. London. 512 p.

Simmonds, NW. 1973. Los plátanos. Editorial Blume. Barcelona, España. 539 p.

Solís Jara, J. 2003. Efecto de la micorriza vesículo-arbuscular, Mycoral®, en Vitroplantas de banano y plátano en vivero. Tesis Lic. Ing. Agr. El Zamorano, Honduras. 52 p.

Sosa Rodríguez, B. 2005. Hongos endofíticos como promotores de crecimiento en banano (*Musa sapientum*). Tesis ingeniero agrónomo Catacamas, Olancho, Honduras. Universidad Nacional de Agricultura. 81 p.

Soto, M. 2002. Banano, cultivo y comercialización. San José, C R. 1 disco compacto, 8mm.

Valdés, M; Cayetano, A; Leyva, M; Camacho, A. 2003. Promoción del crecimiento en vivero de *Casuarina equisetifolia* (L.) por microorganismos simbiotes. Terra latinoamericana. 207-215 p.

Vu, TT. 2005. Modes of action of non pathogenic *Fusarium oxysporum* endophytes for bioenhancement of banana toward *Radopholus similis*. Ph. D. Thesis, University of Bonn, Germany. 102 p.

Wilson, D. 1995. Endophyte- the Evolution of a term, and clarification of its use and definition. Oikos 73: 274-276 p.

Zum Felde, A. 2002. Screening of the endophytic fungi from banana (*Musa*) for antagonistic effects towards the burrowing nematode, *Radopholus similis* (Cobb) Thorne. Thesis MSc. Bonn. DE. Bonn Universität. 53 p.