

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**HONGOS ENDOFÍTICOS COMO INDICADORES DE PROMOCIÓN DE
CRECIMIENTO EN CULTIVOS AGRÍCOLAS**

POR:

JORGE ZABULÓN MATUTE

TESIS

**PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA
COMO REQUISITO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO**



CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C.A

DICIEMBRE, 2013

**HONGOS ENDOFÍTICOS COMO INDICADORES DE PROMOCIÓN DE
CRECIMIENTO EN CULTIVOS AGRÍCOLAS**

POR:

JORGE ZABULÓN MATUTE

ROY DONALD MENJIVAR BARAHONA, Ph. D.

Asesor Principal

**TESIS PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA
COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO**

CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C.A

DICIEMBRE, 2013

DEDICATORIA

A DIOS TODO PODEROSO, porque él es grande y en todo momento por muy difícil que haya sido la situación él estuvo conmigo.

A MI MADRE, LILIA R. MATUTE, por cada momento de apoyo y por darme el voto de confianza para poder culminar con mis estudios y poder enfrentarme a la vida pero sobre todo por su paciencia, y por cada lágrima que toco derramar.

A MIS HERMANOS Y SOBRINOS: Ruth, Leo, Dirma, Anna, Daniel, Ovdir, Nairobi, Nahomi, Asiel, Leonardito y Larissa, esta vez va por todos ustedes.

A MI ESPOSA, CANDY GAYTAN, por todo su apoyo moral cuando más lo necesite y por su paciencia a lo largo de mi carrera.

A MI HIJO, JORGITO, ese muñeco hermoso que es una razón más por la que me inspire y sacrifique para lograr concluir este escalón más.

A MIS AMIGOS, Eduardo, Leo, Manuel, Varela, Kellyn, Lincoln, Erick, Nahúm, Marlon, Paty y mi primo y amigo Rosendo “Chendo”, por todo el tiempo que compartimos y los que a la distancia estuvieron a lo largo de la carrera.

AGRADECIMIENTO

A DIOS QUE ES EL DUEÑO DE TODO, y sin Él no podría haber alcanzado la meta, por brindarme salud, sabiduría, fuerza para poder soportar tanto sacrificio.

A MI CASA DE ESTUDIOS, Universidad Nacional de Agricultura, por el aprendizaje que me brindo por estos cuatro largos años,

A MI MADRE, Lilia Matute, porque si no es por el gran sacrificio que ella realizo todo este tiempo, para que mi persona pudiera avanzar en mis estudios. Gracias Mami!!!

A MIS ASESORES DE TESIS, Ph. D. ROY DONALD MENJIVAR, Ph. D. JOSE SANTIAGO MARADIAGA, M.Sc. MARIO EDGARDO TALAVERA, por haberme permitido desarrollar mi trabajo de tesis y que por sus experiencias aprendí mucho de ellos.

A LOS ASISTENTES DE LABORATORIO, DOUGLAS IRIAS Y SAADY ARGEÑAL, por estar a la disposición de orientarme a lo largo de mi investigación con sus conocimientos.

A MIS COMPAÑEROS, Varela, Manuel, Kellyn, Lincoln, Nahum, Marlon, Paty, Banessa y Erick porque de una u otra forma estuvieron pendientes en cualquier situación en que necesite de su ayuda.

CONTENIDO

	Pág.
ACTA DE SUSTENTACIÓN.....	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
CONTENIDO	iv
LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE ANEXOS	viii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. OBJETIVOS.....	2
2.1. General	2
2.2. Específicos	2
III. REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1. Hongos endofíticos	3
3.1.1. Origen	3
3.1.2. Historia de los hongos endofíticos	3
3.1.3. Descripción de los hongos endofíticos	4
3.1.4. <i>Trichoderma</i>	5
3.1.5. <i>Fusarium spp.</i>	6
3.1.6. Promotores de crecimiento	7
IV. MATERIALES Y MÉTODO	9
4.1. Localización geográfica del estudio.....	9
4.2. Materiales y equipo.....	9
4.3. Recolección de muestras.....	10
4.3.1. Selección de plantas.....	10

4.3.2.	Extracción y clasificación de las raíces	11
4.4.	Manejo del experimento a nivel de laboratorio	11
4.4.1.	Asepsia del laboratorio	11
4.4.2.	Desinfección de la cámara de aislamiento.....	12
4.4.3.	Aislamiento de hongos endofíticos	12
4.4.4.	Identificación de los hongos endofíticos aislados	13
4.4.5.	Preparación de la suspensión de esporas	13
4.5.	Manejo a nivel de invernadero.....	14
4.5.1.	Desinfección de bandejas	14
4.5.2.	Preparación de sustrato	14
4.5.3.	Siembra.....	14
4.5.4.	Riego.....	14
4.5.5.	Fertilización	15
4.5.6.	Trasplante	15
4.5.7.	Inoculación	15
4.6.	Diseño experimental	15
4.7.	Modelo estadístico	16
4.8.	Evaluación de promoción de crecimiento.....	16
4.8.1.	Variables evaluadas	16
4.9.	Porcentaje de colonización	17
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
5.1.	Aislamiento	18
5.2.	Identificación	19
5.3.	Dosis de unidades formadoras de colonias	19
5.4.	Altura de planta.....	20
5.5.	Diámetro de tallo	21
5.6.	Peso de raíz	22
5.7.	Volumen de raíz.....	23
5.8.	Porcentaje de colonización	24
5.8.1.	Porcentaje de colonización por planta	24
5.8.2.	Porcentaje de colonización de la zona uno	25

5.8.3. Porcentaje de colonización de la zona dos	26
VI. CONCLUSIONES	27
VII. RECOMENDACIONES	28
VIII. BIBLIOGRAFÍA	29
ANEXOS	33

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Género y origen de los diferentes hogos colectados.	18
Cuadro 2. Concentración de unidades formadoras de colonias en los tratamientos evaluados.	19

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Zonas de recolección de muestras (Google maps, 2013).....	10
Figura 2. Altura de plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$)	20
Figura 3. Diámetro de plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$)	21
Figura 4. Peso de raíz de plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$)	22
Figura 5. Volumen de raíz de plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$)	23
Figura 6. Porcentaje de colonización de plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$)	24
Figura 7. Porcentaje de colonización zona uno en plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$) en plantas de tomate inoculadas con hongos endofiticos.	25
Figura 8. Porcentaje de colonización en la zona dos, en plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$) en plantas de tomate inoculadas con hongos endofiticos.	26

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Recolección de muestras.....	34
Anexo 2. Desinfección de raíces	34
Anexo 3. Aislamiento (siembra de raíces en PDA).....	35
Anexo 4. Identificación de hongos.....	35
Anexo 5. Protocolo para la preparación del inóculo	36
Anexo 6. Análisis de varianza para la variable altura de planta.....	37
Anexo 7. Análisis de varianza para la variable diámetro de tallo	38
Anexo 8. Análisis de varianza para la variable peso de raíz	39
Anexo 9. Análisis de varianza para la variable volumen de raíz	40

Matute, J.Z. 2013. Hongos endofiticos como indicadores de promoción de crecimiento en cultivos agrícolas. Tesis Ing. Agrónomo. Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas, Olancho, Honduras. Pag.51

RESUMEN

Hongos endofiticos son aquellos que colonizan los tejidos vegetales de las plantas brindando protección al huésped contra agentes bióticos y abióticos. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el impacto de hongos endofiticos restringidos al sistema radicular como promotores de crecimiento y su colonización en cultivos agrícolas. Para ello se realizó un muestreo de raíces a nivel nacional, colectándose muestras de raíces de banano (*Mussa*), Cunde (*Momordica charantia*), Chile (*Capsicum annum*), Berengena (*Solanum melongena*), Pepino peludo (*Benincasa hispida*) y Tomate (*Lycopersicum esculentum*) de diferentes zonas del país. Los aislados encontrados fueron posteriormente purificados e identificados, encontrándose 10 aislados del género *Trichoderma* en banano y siete aislados del género *Fusarium* del resto de los cultivos muestreados. Para evaluaciones de promoción de crecimiento y colonización, se inocularon los aislados al suelo para plantas de tomate (*Lycopersicum esculentum*) var. Pony a una concentración de 1×10^8 ufc / g de suelo en dos ocasiones (vivero y trasplante). El mejor tratamiento para la variable altura de planta fue SV-7(*Trichoderma*), alcanzando una altura de 9 cm, en diámetro de tallo el que demostró un mejor comportamiento fue SV-3 (*Trichoderma*), con 2.58 mm. Para el peso y volumen de raíz coincidió que el mejor tratamiento fue SV-4 (*Trichoderma*) con 0.48 g y 0.45 ml respectivamente. En cuanto a porcentaje de colonización se refiere, el tratamiento que obtuvo el mayor porcentaje fue SV-9 (*Trichoderma*) en colonización por planta 96%, y zonas de crecimiento 94% en la zona uno y 97% en la zona dos.

Palabras claves: *Trichoderma*, *Fusarium*, aislamiento, colonización.

I. INTRODUCCIÓN

Hongos endofíticos (HE) son los que colonizan los tejidos u órganos internos de una planta sin causar ningún tipo de síntomas. Cuando la colonización de los tejidos le confiere una protección a la planta hospedera contra el ataque de agentes bióticos y abióticos se denominan hongos endofíticos mutualistas. El éxito de la mayoría de estos hongos se debe a su alta capacidad de reproducción, habilidad para sobrevivir bajo condiciones desfavorables, eficiencia en el uso de nutrientes, promoción de crecimiento e inducción de los mecanismos de defensa en las plantas. Entre los endofíticos más utilizados en las últimas investigaciones tenemos *Trichoderma spp.* y *Fusarium spp.*

Los hongos endofíticos, son de importancia económica ya que favorece el desarrollo de las plantas incrementando significativamente el peso de las plantas y las raíces, así como el largo total de las raíces (Meneses 2003), 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.

El objetivo principal de esta investigación fue evaluar el impacto de los hongos endofíticos restringidos al sistema radicular del cultivo de banano y hortícolas, aislando e identificando los hongos endofíticos que se encontraron en las raíces de dichos cultivos; los cuales fueron evaluados como promotores de crecimiento y de colonización, en plantas de tomate.

II. OBJETIVOS

2.1. General

Evaluar el impacto de hongos endofiticos restringidos al sistema radicular como promotores de crecimiento y su colonización en cultivos agrícolas.

2.2. Específicos

Aislar hongos endofiticos encontrados en el sistema radicular de cultivos de banano y hortícolas muestreados a nivel nacional.

Identificar los diferentes hongos endofiticos aislados del sistema radicular de cultivos de banano y hortícolas recolectados a nivel nacional.

Evaluar el efecto de los aislados hongos endofiticos encontrados, en la promoción de crecimiento en plantas de tomate.

Evaluar el porcentaje de colonización de los hongos endofiticos en el sistema radicular de plantas de tomate.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Hongos endofíticos

3.1.1. Origen

Los hongos endófitos fueron encontrados por primera vez en Nueva Zelanda y los Estados Unidos hacia finales de los años 40, cuando en algunas zonas el ganado comenzó a manifestar intoxicación por el consumo de ciertos pastos. En esa ocasión se determinó que varios de los metabolitos tóxicos aislados son producidos por los hongos endófitos que habitan dentro de los tejidos de dichas gramíneas (Morales, *et al* 2005)

Se ha encontrado que en todas las plantas estudiadas hasta el presente se halla asociada una población limitada de hongos endófitos. Si se asume que hay 400.000 especies de plantas vasculares y cada una de ellas puede albergar entre 3-6 endófitos específicos, el número total de especies endófitas a nivel mundial pudiera alcanzar aproximadamente 1 millón de especies fúngicas con tal comportamiento (Morales, *et al* 2005)

3.1.2. Historia de los hongos endofíticos

Los primeros estudios de endófitos se realizaron en plantas de la familia de las gramíneas. A finales del siglo XIX, varios científicos europeos describieron la presencia de micelio fúngico en los carpelos y semillas de plantas sanas de *Lolium arvense*, *Lolium linicolum*, *Lolium remotum* y *Lolium temulentum* (Guerin, 1898a, 1898b; Hanausek, 1898; Nestler, 1898; Vogl, 1898; Neubauer y Remer, 1902). La cizaña (*Lolium temulentum*) ya era conocida como una mala hierba en cultivos de cereal en la antigüedad. Además, esta planta

poseía propiedades tóxicas que con el descubrimiento de los endofitos fueron atribuidas al micelio fúngico (Font Quer, 1961). Estudios realizados por Freeman (1904) sobre el hongo endofítico de *L. temulentum* demostraron que este hongo se transmitía por semilla, ya que sus hifas penetraban en el embrión antes de que las semillas madurasen, y tras la germinación el hongo coordinaba su crecimiento con el de los tejidos de la planta, llegando a colonizar los meristemas laterales y después las inflorescencias.

3.1.3. Descripción de los hongos endofíticos

De Bary (1886) definió el término como hongos que invaden tejidos o células de las plantas de organismos autótrofos. O. Petrini *et al.* (1982) denotan que son una categoría que incluye todo tipo de patógeno foliar virulenta hasta micorrizas de las raíces que forman simbiosis.

Por lo tanto, cabe diferenciar que los hongos endofíticos son hongos que causan infecciones aparentemente asintomáticas. Los hongos endofíticos colonizan los tejidos u órganos internos de una planta sin causar ningún tipo de síntomas. Cuando la colonización de los tejidos le confiere una protección a la planta hospedera contra el ataque de agentes bióticos y abióticos se denominan hongos endofíticos mutualistas (Latch 1993; Carroll 1990).

La mayoría de hongos endofíticos son ascomicetos y están presentes en gran parte de su ciclo de vida dentro del tejido de la planta. Estos pueden brindar dos tipos de beneficios a las plantas: pueden alterar la fisiología de las plantas llevándolas a aumentar su crecimiento y pueden además incrementar la resistencia al estrés causado por factores abióticos (Pocasangre *et al* 2000).

Los hongos endofíticos son mutualistas si: (i) No causan síntomas de enfermedad en la planta hospedera; (ii) Son transmitidos a través de la semilla. Cuando no ocurre, éstos deberán transmitirse lateralmente, de planta adulta a otra; (iii). Esta disperso a través de los tejidos del hospedero. Si las unidades de infección son pequeñas, estas deberán ser

numerosas; (iv) Colonizan y están extendidos en un hospedero definido; (v) Producen metabolitos secundarios como antibiosis o de naturaleza tóxica.

Existen tres estrategias fundamentalmente distintas para que los hongos endofíticos presenten una simbiosis con las plantas: (a) Desarrollando una infección que induce algún tipo de resistencia sistémica mediante una biomasa sustancial interna; (b) Produciendo potentes toxinas que presentan un efecto detrimento hacia patógenos de las plantas (Clay *et al.* 1985). (c) Mediante un mutualismo inducido, que envuelve una simbiosis menos precisa o más difusa entre el hospedero y el endofítico. Pocasangre *et al.* 2001, sugieren que la mayoría de los hongos endofíticos son ascomicetos y están presentes la mayoría de su ciclo de vida dentro del tejido de las plantas.

La infección por estos hongos estimula la producción de exudados de la raíz. Estos exudados pueden producir efectos alelopáticos en competición bajo condiciones de estrés biótico y la quelatación de iones metales afectando así el secuestro y disponibilidad de estos (estrés abiótico). Esta faceta de respuesta simbiótica requiere de mayor investigación en todo tipo de asociaciones posibles respecto a la sustitución y la transformación en la producción de ergo-alcaloides (Malinowski *et. al* 2000).

3.1.4. 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).

Trichoderma spp. es un hongo anaerobio facultativo que se encuentra naturalmente en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios. Pertenece a la subdivisión Deuteromycete, que se caracterizan por no poseer o no presentar un estado sexual

determinado, se encuentra distribuido a nivel mundial y se presenta naturalmente en diferentes rangos de zonas de vida y hábitat, especialmente en aquellos que contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición, así mismo en residuos de cultivos, especialmente en aquellos que son atacados por otros hongos, su desarrollo se ve favorecido por la presencia de altas densidades de raíces, las cuales son colonizadas rápidamente por estos microorganismos. Esta capacidad de adaptación a diversas condiciones medioambientales y sustratos, confiere a *Trichoderma* la posibilidad de ser utilizado en la industria de la biotecnología (Hannan, 2001).

Hannan (2001) menciona que aparte de su facilidad para colonizar las raíces de las plantas, *Trichoderma* ha desarrollado mecanismos para atacar y parasitar a otros hongos y así, aprovechar una fuente nutricional adicional. Mecanismos demostrados recientemente, con los cuales *Trichoderma* actúa como biocontrolador y como colonizador de las raíces son: Micoparasitismo, antibiosis, competencia por nutrientes y espacio, desactivación de las enzimas de los patógenos, tolerancia al estrés por parte de la planta al ayudar al desarrollo del sistema radical, solubilización y absorción de nutrientes inorgánicos y resistencia inducida.

Hillocks & Waller en (1997), mencionan que el modo de ataque de *Trichoderma* es por medio de una lisis enzimática que destruye las hifas del hongo patógeno. Hidalgo (1999) describe el comportamiento de *Trichoderma* con respecto al biocontrol de fitonematodos, mediante la capacidad de envolver en micelio al nematodo, además produce metabolitos como Trichodermin, Suzukacilina, Alameticina, Dermadina, penicilina, Trichotecenosa y Tricorzinianos sintetizados por *T. Harzianum* y Glitoxina producido por *T. atroviridae*, actuando como nematocidas.

3.1.5. *Fusarium* spp.

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 está en función de la densidad de la población de este microorganismo antagonico 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).

3.1.6. Promotores de crecimiento

En el estudio que realizó Ramos, (2005) obtuvo buenos resultados inoculando las plantas de banano con los tratamientos Endofíticos 1 (*Trichoderma*), Endofíticos 2 (*Trichoderma*), 6.8 *Fusarium* y Endofíticos 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. En piña los tratamientos inoculados con Endofíticos 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.

Por otra parte Menjivar (2005) encontró que la inoculación con los hongos endofíticos promovió el crecimiento de las plantas significativamente, lo cual obligo a adelantar la siembra 2 semanas antes de la fecha programada. La misma tendencia de promoción de crecimiento se registró en condiciones de campo, principalmente en las plantas inoculadas con los hongos *T. atroviride*, S-2 y *F. oxysporum* P-12, las cuales presentaron mayor altura de planta, circunferencia de pseudotallo y emisión foliar, que plantas no protegidas. Con respecto a producción, plantas inoculadas con *F. oxysporum* P-12, presentaron mayor peso de racimo y numero de manos en las fincas Bananita, Carmen-2 y Duacari-2, diferenciándose estadísticamente del testigo absoluto.

IV. MATERIALES Y MÉTODO

4.1. Localización geográfica del estudio

El experimento se realizó en las instalaciones del laboratorio de hongos entomopatógenos (LHE) en la parte de aislamiento e identificación de hongos y para la evaluación de los aislados en el invernadero de fisiología vegetal de la Universidad Nacional de Agricultura, ubicado a 6 Km de distancia de la ciudad de Catacamas Olancho, a una altitud de 350 msnm y una precipitación promedio anual de 1350 mm y una temperatura promedio de 28 C°.

4.2. Materiales y equipo

Los materiales que se utilizaron son placas Petri de 100mmx15mm, papel toalla, papel filtro, bolsas de polipropileno, bandejas, maceteras plásticas, agua destilada, papel parafina (sellar), balanza, bisturí, cubre y porta objetos, beaker, Erlenmeyer, jeringas, alcohol 95%, alcohol de quemar, baldes, marcador permanente, maskin tape, grapadora, frascos, clínex, cedazo, pinzas, palas, machete, carreta de mano, zaranda, sacos, hielera, computadora portátil, cámara de flujo Laminar (biosafety class 2 labconco), cámara digital Canon, auto claves (All américa model 25x), cámara USB (motic 350), micro- pipeta 5µl a 50 µl (Transferpette), horno (Gallenkank), calentadores (fisher Scientific.), refrigeradora, microscopio (Meiji), estereoscopio (Meiji), estacas, libreta de campo, lápices, marcadores, y motocicleta o vehículo entre otros.

4.3. Recolección de muestras

Se realizó en tres departamentos diferentes del país específicamente en Arauli, Departamento de El Paraíso, Sabana Larga, Las Vegas Ajuterique y Cacahuapa Departamento de Comayagua y en las fincas Vernon y Hogge de la Stándard Fruit Company en San Luis Olanchito, Departamento de Yoro.



Figura 1. Zonas de recolección de muestras (Google maps, 2013).

4.3.1. Selección de plantas

Se seleccionaron en plantaciones que mostraron una diferencia entre suelos supresivos de los no supresivos, a través de la observación, obteniéndose raíces de plantas vigorosas, ubicadas en plantaciones con historiales fuertes de ataque de plagas como nematodos, insectos y enfermedades fungosas.

4.3.2. Extracción y clasificación de las raíces

En el caso de hortalizas se extrajo la raíz en su totalidad, con un machete desinfectado, se cortó el tallo, se retiró el suelo de ellas y se colocó en bolsas de polietileno con su respectiva etiqueta en la cual se describe, el cultivo, la variedad y el lugar de recolección, en el caso de las muestras de banano, se hizo un agujero de 30cm con un palin desinfectado, inmediatamente después del corno dejando expuestas las raíces que fueron extraídas y clasificadas se colocaron en bolsas de polietileno debidamente etiquetadas.

4.4. Manejo del experimento a nivel de laboratorio

4.4.1. Asepsia del laboratorio

El laboratorio de entomopatógenos fue sometido a procesos de limpieza general y desinfección, desde equipo e infraestructura; para el cual se utilizó como agente desinfectante el hipoclorito de sodio al 3.62 % concentración comercial, y este se disolvió hasta una concentración del 2 %. Se lavaron todos los materiales con agua destilada y detergente para remover cualquier residuo de materia orgánica, y luego se sometieron a abundante agua para remover partículas del detergente.

Después de lavado y secado se sometieron a esterilización bajo dos métodos: la esterilización húmeda (Auto-clave 121.6 C° a 124 C° 20 minutos) y esterilización con aire caliente (horno), la utilización de cada método dependió de los materiales a esterilizar.

La esterilización de los materiales y cristalería por calor húmedo o a presión de vapor de agua, se llevó a cabo con la ayuda de un autoclave, el cual se manejara a una presión de 2 atmosferas o 15 libras de presión hasta alcanzar a una temperatura de 121.6 C° a 124 C°, la cual se debe mantener durante un tiempo de 15 minutos; por lo general se esterilizara los medios de cultivo, platos petri, tubos de ensayo, papel toalla, probetas etc.

La esterilización con aire seco se llevó a cabo en el horno y consistió en la entrada de aire y calentamiento del mismo, a una temperatura de 121°C por un tiempo de 15 a 20 minutos, este método se utiliza para equipo como ser beakers, elenmeyer, pipetas.

4.4.2. Desinfección de la cámara de aislamiento

La cámara de aislamiento se desinfecto antes de cada aislamiento con alcohol al 70%, por dentro y afuera de la misma, se encendió el mechero y se mantuvo la cámara cerrada por termino de un minuto, el mechero se mantuvo encendido en todo el proceso de siembra, luego se procedió a realizar los aislamientos; la desinfección personal fue llevada a cabo siempre antes de realizar aislamientos y después de los mismos, y consistió con la aplicación por aspersión a la manos con alcohol al 70%.

Como último paso para la desinfección fue la utilización de la luz ultravioleta tipo C, con el objetivo de eliminar cualquier contaminante que haya ingresado al momento de realizar el aislamiento.

4.4.3. Aislamiento de hongos endofíticos

Utilizando la metodología de Cañizares (2003), el aislamiento de los hongos endofíticos se efectuó a partir de raíces sanas colectadas en plantaciones de banano de las fincas Vernon y Hogge de la Stándard Fruit Company en San Luis Olancho, además de otros puntos hortícolas de Comayagua y el Paraíso. Las raíces se cortaron en secciones de un cm, se introdujeron y se agitaron por cinco minutos en hipoclorito de sodio al 3% y se lavaron con agua esterilizada por tres veces. Para remover el exceso de agua las secciones de las raíces fueron colocadas sobre papel toalla esterilizado en autoclave.

El tejido interno se cortado en pequeños pedazos de aproximadamente 1 - 1.5 cm de largo. Posteriormente, estos pedazos se colocaron en medio de cultivo papa-dextrosa-agar al

100% (PDA 100%), conteniendo un cc de gentamicina A-40, y se incubaron a 25 °C en la oscuridad, y una semana después, éstos aislados fueron transferidos sucesivamente a medio de cultivo papa-dextrosa-agar al 100% (PDA 100%) para su purificación hasta su identificación y clasificación.

4.4.4. Identificación de los hongos endofíticos aislados

La identificación de los aislados se realizó en el laboratorio de hongos entomopatógenos de la UNA, en forma comparativa con la ayuda de libros o imágenes de esporas, para la cual se clasificaron las mejores placas Petri que se observaron, con una aza se realizó un pequeño raspado y se colocó en un porta objeto con una gota de agua, se mezcló con el raspado para separar las esporas, seguidamente se colocó el cubre objetos y se procedió al montaje en el microscopio hasta lograr su identificación.

4.4.5. Preparación de la suspensión de esporas

Los hongos endofíticos obtenidos se dejaron crecer en PDA 100% durante 15 días y dependiendo de la agresividad que presento cada aislado. Bajo condiciones asépticas, se procedió a remover las esporas con la aplicación de 10 ml de agua estéril. Se efectuó un rayado con una espátula de aluminio, que facilito el raspado del micelio del hongo. La solución resultante del rayado del Petri fue filtrada por medio de una gasa y decantada en un beaker de 250 ml. Este proceso se llevó a cabo para obtener una solución de esporas. De cada solución resultante se efectuó conteos para medir la concentración de esporas mediante un hematocímetro de Neubauer. La suspensión de esporas se ajustó a una concentración de 1×10^8 esporas/ml para cada tratamiento.

4.5. Manejo a nivel de invernadero

4.5.1. Desinfección de bandejas

Se utilizaron seis bandejas germinadoras las cuales se lavaron con detergente y abundante agua para eliminar residuos de materia orgánica, posteriormente se sumergieron en agua con cloro al 3% durante 15 minutos después se procedió se atomizaron con alcohol al 70% para erradicar la presencia de cualquier organismo.

4.5.2. Preparación de sustrato

Se requirió de una mezcla de arena y suelo con una relación 2:1 respectivamente, esta fue sometida a un proceso de desinfección, este proceso se realizó a través del autoclave a 127°C a 20 psi, posteriormente se dejó disminuir la temperatura hasta alcanzar la temperatura ambiente para ser utilizada. Se utilizó semilla comercial clasificada de tomate de la variedad Pony.

4.5.3. Siembra de tomate

La siembra se realizó en las bandejas germinativas de 162 celdas de 45 mm profundidad, celda superior 25x24 mm, celda inferior de 14x13 mm a una semilla por postura, sembrando 10 plantas para cada tratamiento utilizando una bandeja para tres tratamientos.

4.5.4. Riego de tomate

Se humedeció el sustrato antes de la siembra y se realizaron riegos constantes dos veces por día para mantener la humedad requerida por la planta.

4.5.5. Fertilización de tomate

Se hicieron tres fertilizaciones de 18-46-0, la primera a los 10 días después de la siembra con 2.8 g de 18-46-0 diluidos en un litro de agua, en las otras dos fertilizaciones se utilizó 5.6 g de 18-46-0 diluidos en un litro de agua, la segunda fertilización a los 20 días después de la siembra y la tercera a los 26 días después de siembra, se sumergió la bandeja en la solución del fertilizante disuelto a modo de no saturar.

4.5.6. Trasplante de tomate

Se utilizaron maceteras con una capacidad de 506 gr de suelo, las plantas de tomate fueron trasplantadas 28 días después de la siembra.

4.5.7. Inoculación de tomate

Esta se realizó con la suspensión de esporas concentradas en 1×10^8 cfu/ml por cada gramo de suelo, a cada tratamiento se aplicaron dos inoculaciones, la primera inoculación se realizó a los 18 días después de siembra y la segunda a los tres días después de trasplante, estas se aplicaron por inyección a dos cm de profundidad.

4.6. Diseño experimental

Para las evaluaciones de promoción de crecimiento, se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), contando con 18 tratamientos (10 *Trichoderma*, siete *Fusarium* y un testigo absoluto con agua) y ocho repeticiones por tratamiento siendo una planta la unidad experimental. Se tabularon los datos obtenidos en el programa estadístico InfoStat versión 2013, realizando pruebas de LSD - Fisher para el análisis de medias.

4.7. Modelo estadístico

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde:

y_{ij} = Es la variable de respuesta observada.

μ = Es la media general

α_i = es el efecto i-ésimo tratamiento.

ε_{ij} = Es el efecto del error experimental.

4.8. Evaluación de promoción de crecimiento

Esta medición se realizó una vez sembradas e inoculadas las plantas con los diferentes aislados obtenidos en la recolección de muestras a nivel nacional procedentes de distintos cultivos bajo producción intensiva. Las variables evaluadas fueron altura de la planta (cm), diámetro de tallo (mm), peso radicular (g) y volumen de raíz (ml).

4.8.1. Variables evaluadas

Las variables fueron tomadas en dos ocasiones, la primera a los 18 días después de la siembra y la segunda 33 días después. Realizando la inoculación 3 días antes de cada medición.

A) **Altura de planta** Se midió con una regla graduada en centímetros desde la base del tallo hasta el inicio de la primera bifurcación.

B) **Diámetro de tallo** Este se tomó con un calibrador o pie de rey digital, las medidas fueron tomadas a 2 cm del suelo hacia arriba.

C) **Peso de raíz** A los 20 días después de la primera inoculación se extrajeron las plantas de las macetas para lavarles sus raíces evitando la pérdida de estas. Una vez separado el suelo del sistema radical, las plantas se colocaron sobre papel toalla por un periodo de 15 minutos aproximadamente para eliminar la humedad de estas. Transcurrido este periodo las raíces se separaron del resto de la planta y se pesaron con ayuda de una balanza de precisión.

D) **Volumen de raíz** El volumen de la raíz se obtuvo con base en el principio de Arquímedes todo cuerpo sumergido desplaza su volumen, para el cual sumergiremos las raíces en una probeta con agua del grifo.

4.9. Porcentaje de colonización

El porcentaje de colonización se midió tomando muestras radiculares de las plantas seleccionadas de cada tratamiento. La parte radicular se dividió en tres zonas, zona 1 la parte inferior, zona 2 la parte central, la zona 3 la parte cercana al tallo, con el objetivo de encontrar la capacidad que presentó cada aislado. Se hicieron 6 cortes en cada zona, utilizando 6 repeticiones de cada tratamiento. Posteriormente se colocaron los tejidos en PDA 100%. Luego se obtuvo el porcentaje de colonización según el número de tejidos con presencia de micelio.

$$x = \frac{NTC}{NTT} \times 100$$

Dónde:

X = % de colonización.

NTC = Numero de tejidos colonizados

NTT = Numero de tejidos totales

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Aislamiento

En el proceso de aislamiento se obtuvieron 17 aislados de hongos, 10 aislados de banano (*Musa paradisiaca*) variedad Gran Enano de las Fincas Vernon-DOLE y Hogge-DOLE de Olanchito, dos aislados de Cunde (*Momordica charantia*), uno de Chile (*Capsicum annuum*), uno de Berengena (*Solanum melongena*), uno de Pepino peludo (*Benincasa hispida*) y uno de Tomate (*Lycopersicum esculentum*) de diferentes zonas de Comayagua y un aislado de Chile (*Capsicum annuum*) de El Paraíso (Cuadro 1).

Cuadro 1. Género y origen de los diferentes hongos colectados.

Aislado Código	Género	Origen	
		Cultivo	Lugar
SV – 1	<i>Trichoderma</i>	Banano	Vernon, San Luis Olanchito
SV – 2	<i>Trichoderma</i>	Banano	Vernon, San Luis Olanchito
SV – 3	<i>Trichoderma</i>	Banano	Vernon, San Luis Olanchito
SV – 4	<i>Trichoderma</i>	Banano	Vernon, San Luis Olanchito
SV – 5	<i>Trichoderma</i>	Banano	Vernon, San Luis Olanchito
SV – 6	<i>Trichoderma</i>	Banano	Hogge, San Luis Olanchito
SV – 7	<i>Trichoderma</i>	Banano	Hogge, San Luis Olanchito
SV – 8	<i>Trichoderma</i>	Banano	Hogge, San Luis Olanchito
SV – 9	<i>Trichoderma</i>	Banano	Hogge, San Luis Olanchito
SV – 10	<i>Trichoderma</i>	Banano	Hogge, San Luis Olanchito
SV – 11	<i>Fusarium</i>	Chile	Araulí. El Paraíso
SV – 12	<i>Fusarium</i>	Cunde	Sabana Larga, Comayagua
SV – 13	<i>Fusarium</i>	Cunde	Sabana Larga, Comayagua
SV – 14	<i>Fusarium</i>	Chile	Sabana Larga, Comayagua
SV – 15	<i>Fusarium</i>	Berenjena	Cacahuapa, Comayagua
SV – 16	<i>Fusarium</i>	Pepino	Sabana Larga, Comayagua
SV - 17	<i>Fusarium</i>	Tomate	Ajuterique, Comayagua

5.2. Identificación

A través del aislamiento se identificaron 10 hongos del género *Trichoderma* (Cuadro 1), obtenidos en las plantas de banano. A su vez se identificaron siete aislados del género *Fusarium*, los que se recolectaron en cultivares de chile (dos), cunde (dos), berenjena (uno), pepino (uno) y tomate (uno).

5.3. Dosis de unidades formadoras de colonias

Con el hematocímetro de Neubauer se realizó el conteo de esporas con el fin de determinar la concentración adecuada para cada tratamiento y de esta manera uniformizar cada uno de ellos, a continuación se describe los tratamientos con sus respectivas dosis.

Cuadro 2. Concentración de unidades formadoras de colonias en los tratamientos evaluados.

Tratamiento	Genero	Concentración cfu/g de suelo
SV-1	<i>Trichoderma</i>	1×10^8
SV-2	<i>Trichoderma</i>	1×10^8
SV-3	<i>Trichoderma</i>	1×10^8
SV-4	<i>Trichoderma</i>	1×10^8
SV-5	<i>Trichoderma</i>	1×10^8
SV-6	<i>Trichoderma</i>	1×10^8
SV-7	<i>Trichoderma</i>	1×10^8
SV-8	<i>Trichoderma</i>	1×10^8
SV-9	<i>Trichoderma</i>	1×10^8
SV-10	<i>Trichoderma</i>	1×10^8
SV-11	<i>Fusarium</i>	1×10^8
SV-12	<i>Fusarium</i>	1×10^8
SV-13	<i>Fusarium</i>	1×10^8
SV-14	<i>Fusarium</i>	1×10^8
SV-15	<i>Fusarium</i>	1×10^8
SV-16	<i>Fusarium</i>	1×10^8
SV-17	<i>Fusarium</i>	1×10^8

5.4. Altura de planta

Para esta variable se encontraron diferencias estadísticas significativas en los tratamientos evaluados, siendo SV-7 con 9 cm de altura (Figura 2), un aislado de *Trichoderma* obtenido de la finca Hogge - DOLE en la zona de San Luis, Olanchito, el de mayor altura y diferente estadísticamente en comparación al testigo que mostró un menor desarrollo con 7.83 cm. Esto puede dar lugar a la no activación en la planta de los mecanismos de respuesta, que requiere un alto consumo de nutrientes de las plantas y de energía (Walters y Heil, 2007).

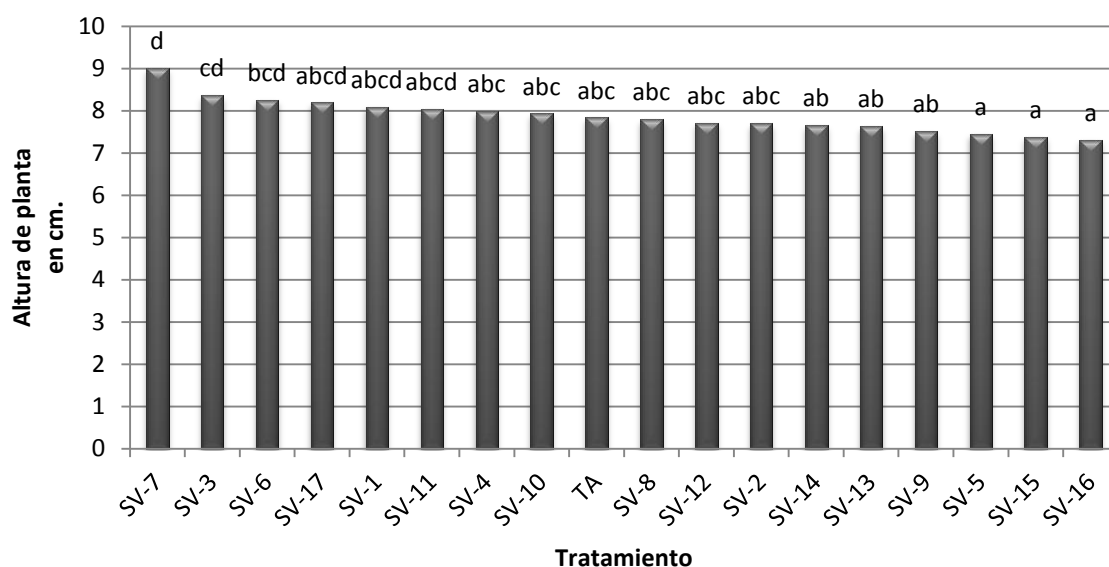


Figura 2. Altura de plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$).

El tratamiento SV-16 mostró el menor crecimiento vegetativo, los demás tratamientos se comportaron de manera similar con rangos de 7.31 – 8.3 cm, no mostraron influencia alguna por la presencia de hongos.

5.5. Diámetro de tallo

En cuanto a esta variable, el tratamiento SV-3, mostró los mejores diámetros con 2.58 mm en comparación al testigo que presentó 2.41 mm (Figura 3), aunque esta superioridad de SV-3 no fue diferente al control, muestran una tendencia que podría ser objeto de estudio., ya que en otras investigaciones como de Pocasangre (2004), se ha encontrado una relación positiva para la variable diámetro en plantas de banano con la utilización de los hongos endofitos, con mayor tiempo de estudio.

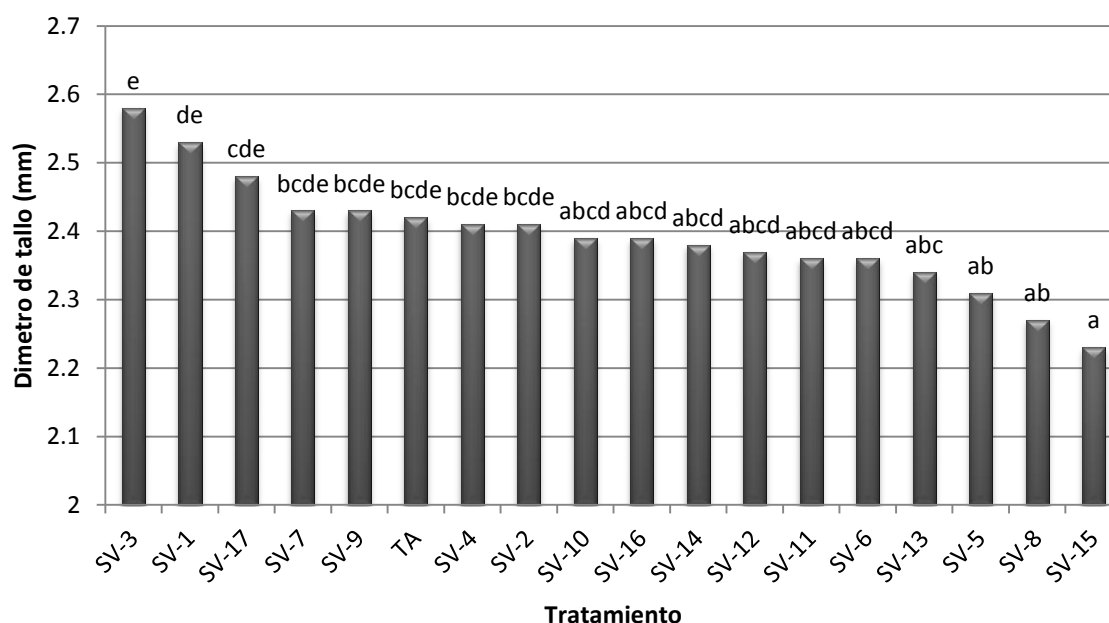


Figura 3. Diámetro de plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$)

El tratamientos SV-15 con 2.23 mm, mostró diferencia significativa menor en relación al testigo, esta diferencia negativa puede deberse a que el aislado pudiera tener un efecto patogénico. El tratamiento SV-17 con 2.48 mm, ocupa el tercer lugar en diámetro de tallo, siendo este un aislado de tomate perteneciente al género *Fusarium*, género que no se caracteriza como inductor de crecimiento, sino como inductor de resistencia.

5.6. Peso de raíz

En el ensayo realizado se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos, donde los tratamientos SV-4 con 0.48 g, SV-10 con 0.41 g, SV-1 con 0.39 g, SV-3 con 0.38 g, SV-12 con 0.38, SV-11 con 0.36, SV-16 con 0.34 g, de los cuales SV-1, SV-4, SV-3 y SV-10 pertenecen al género *Trichoderma* y SV-11, SV-12 Y SV-16 a *Fusarium*, mostraron superioridad estadísticamente diferente al control con respecto a esta variable.

El tratamiento SV-4 con 0.48 g, presentó el valor más alto, SV-17 el más bajo con 0.16 g, en comparación al testigo que alcanza un peso de 0.23 g, (Figura 4). Cañizares (2003), obtuvo resultados similares, encontrando vitro-plantas inoculadas con endofíticos, con un 38% más de peso radical que el testigo. Zum Felde (2002), encontró que plantas inoculadas con los aislados del género *Trichoderma* y *Fusarium*, incrementan el peso de raíces y del sistema foliar en plantas de banano.

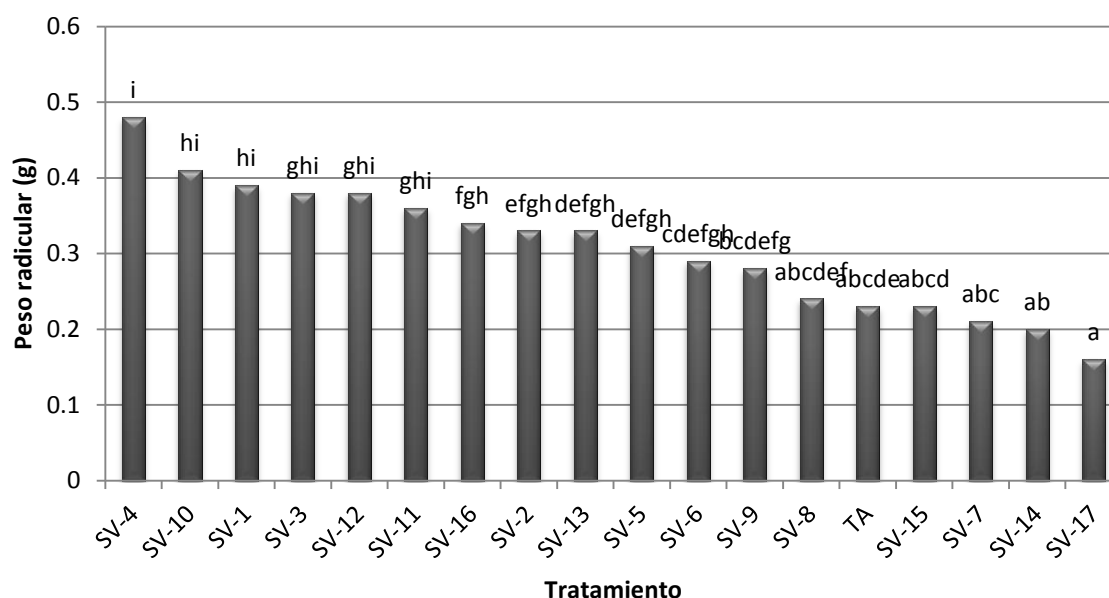


Figura 4. Peso de raíz de plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$).

5.7. Volumen de raíz

Los datos obtenidos reflejan una alta diferencia significativa para los diferentes tratamientos. Ocho aislados (SV-2 con 0.41 ml, SV-3 con 0.40 ml, SV-10 con 0.40 ml, SV-5 con 0.35 ml, S-V-12 con 0.35 ml, SV-11 con 0.33 ml, SV-6 con 0.32, SV-13 con 0.30 ml) mostraron ser iguales entre ellos, pero superiores y diferentes estadísticamente al testigo. S-4 fue quien presento mayor volumen radicular con 0.45 ml, mientras SV-14 obtuvo un menor volumen con 0.15 ml (figura 5). Jaizme (2005), Encontró un efecto en el desarrollo del sistema radical del banano, mejorando la nutrición y salud de la planta. Resultados similares fueron encontrados por Reissinger (1995), quien uso hongos endofíticos en banano encontrando promoción de crecimiento en el sistema radical. Recientemente, se encontró que una cepa de *Trichoderma* contribuye al crecimiento en cuanto a profundidad de las raíces del maíz y algunos pastos, haciendo que estos cultivos sean más resistentes a la sequía. (Hannan, 2001).

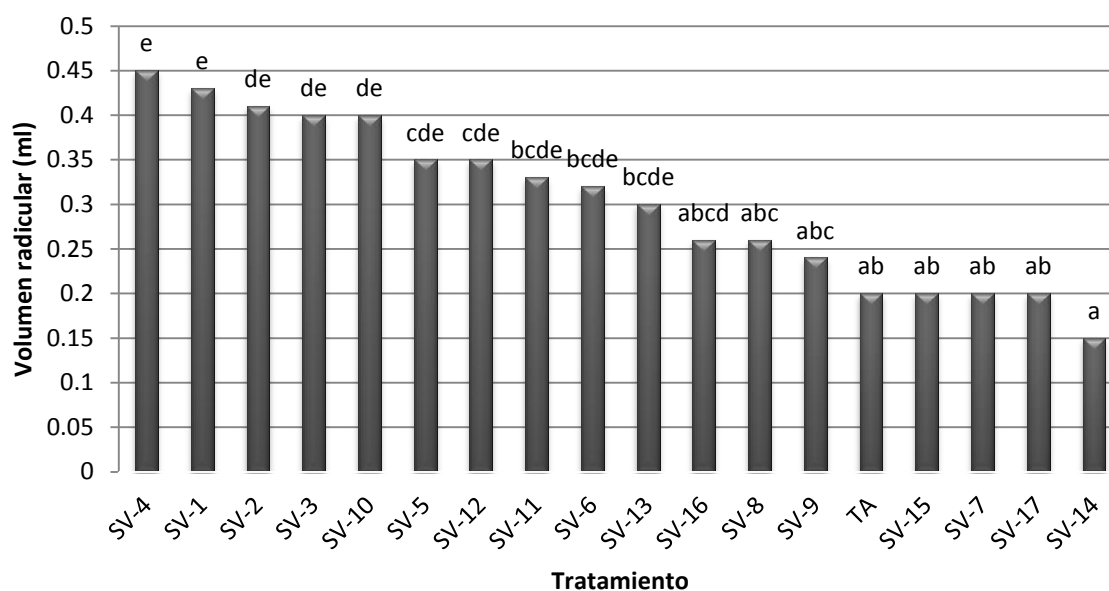


Figura 5. Volumen de raíz de plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$).

5.8. Porcentaje de colonización

5.8.1. Porcentaje de colonización por planta

Resultados demuestran un 100% de los aislados con capacidad para colonizar las plantas inoculadas de tomate, donde el tratamiento SV-9 presentó el mayor porcentaje de plantas colonizadas con el 96%, seguido de SV-8 el cual reportó un 98%, SV-11 apenas mostró un 33% y el testigo no presentó ningún tipo de colonización (Figura 6). De los aislados evaluados, los 10 representantes del genero *Trichoderma* mostraron mayor colonización y los *Fusarium* a excepción de SV-17 la menor capacidad de colonización.

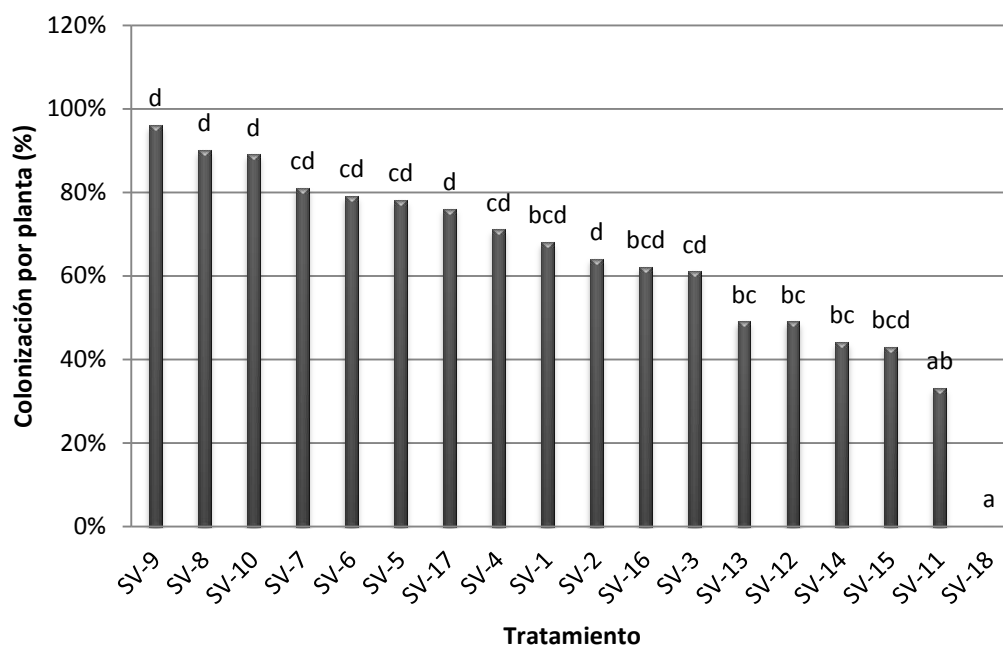


Figura 6. Porcentaje de colonización de plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$).

5.8.2. Porcentaje de colonización de la zona uno

En la zona uno (inferior de la raíz) existe variación entre los tratamientos, sin embargo los de mayor capacidad de colonizar fueron los aislados SV-7 con 89%, SV-8 con 92%, SV-9 con 94% y SV-10 con 86%, fueron aislados de banano y pertenecen al género *Trichoderma*. El SV-17 también se encuentra entre los de mayor porcentaje con un 78% siendo este *Fusarium*, aislado de tomate (Figura 7).

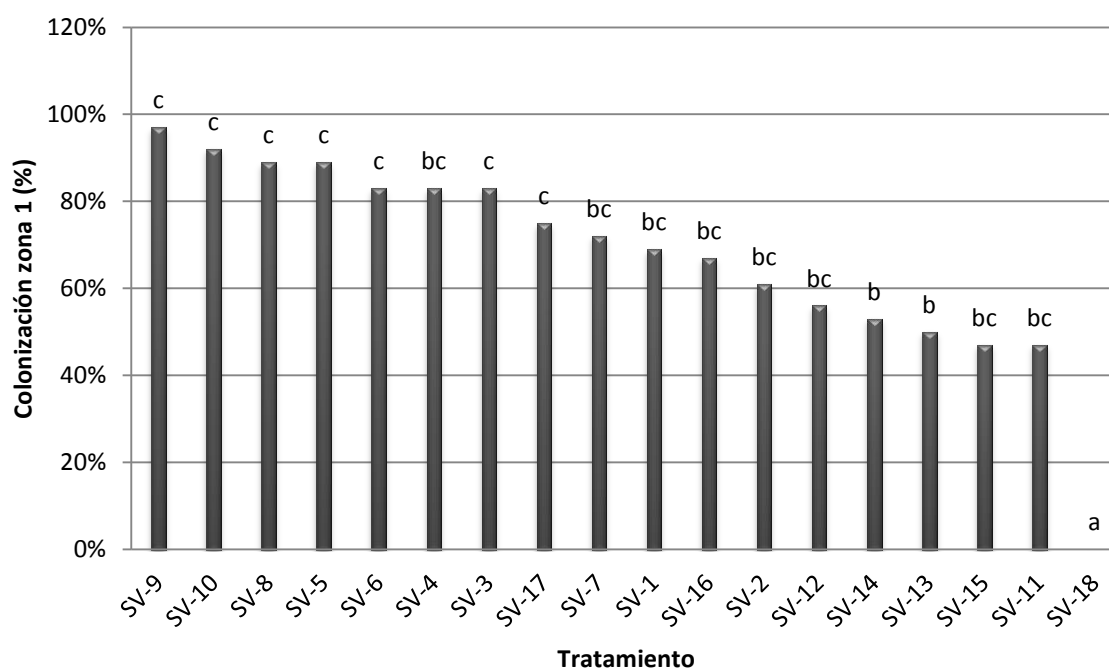


Figura 7. Porcentaje de colonización zona uno en plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$) en plantas de tomate inoculadas con hongos endofiticos.

5.8.3. Porcentaje de colonización de la zona dos

Los tratamientos del SV-3 al SV-10 muestran similitud en cuanto a porcentaje de colonización de la zona dos de la raíz, con un rango del 83% al 97%, teniendo en cuenta que los primeros 10 aislados son del genero *Trichoderma*

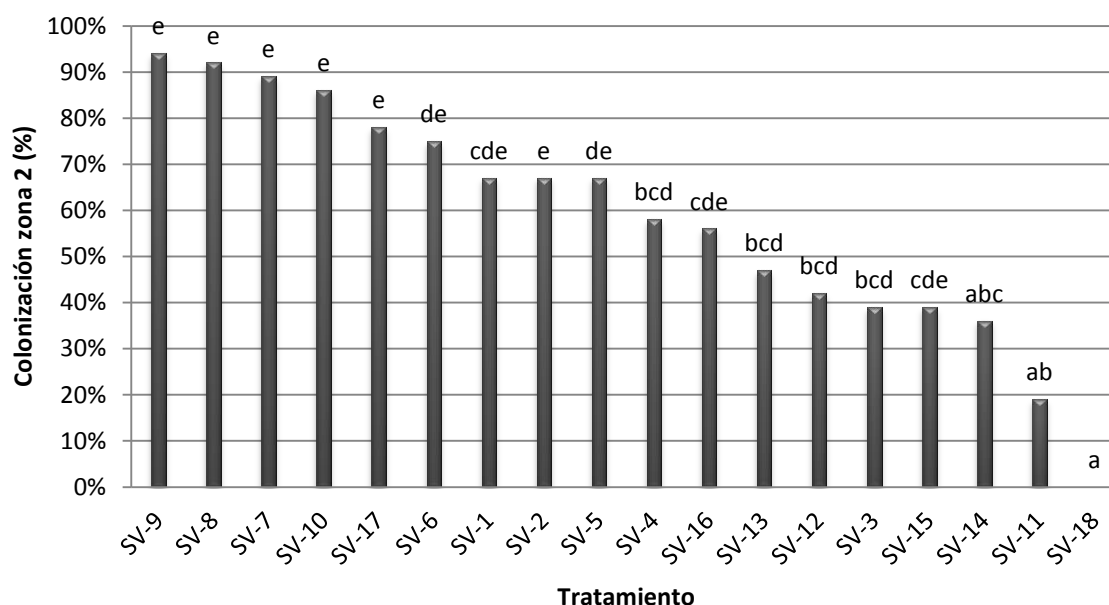


Figura 8. Porcentaje de colonización en la zona dos, en plantas de tomate evaluadas con 17 aislados de hongos endófitos. Columnas con letras distintas, representan diferencia significativa según prueba de LSD ($P < 0.05$) en plantas de tomate inoculadas con hongos endofíticos.

El testigo no demostró ningún porcentaje de colonización, debido a que este tratamiento no fue inoculado con ningún hongo endofítico.

Para la variable altura de planta el tratamiento SV-7 mostro mayor altura, en la variable diámetro de tallo el tratamiento SV-3 es el que mejor resultado obtuvo, en cuanto a las variables peso y volumen de raíz el tratamiento SV-4 fue el mejor tratamiento para ambas variables, por lo tanto el porcentaje de colonización de los hongos no interfirieron en su resultado

VI. CONCLUSIONES

Los aislados de *Trichoderma* mostraron mayor agresividad en cuanto a su crecimiento radial en comparación a los aislados de *Fusarium*.

Se obtuvieron 17 aislados, de los cuales 10 pertenecen al género *Trichoderma* y siete del género *Fusarium*

Las plantas tratadas con los hongos endofíticos presentaron mayor promoción de crecimiento, en cuanto a diámetro el mejor tratamiento fue el SV-3 *Trichoderma*, altura de planta el mejor tratamiento fue SV-7 *Trichoderma*, peso y volumen de raíz el mejor tratamiento fue SV-4 *Trichoderma*, en comparación al testigo.

La colonización de los hongos endofíticos utilizados en el experimento fue mayor en la zona uno con 53.6% que la zona dos con 46.4%, posiblemente se deba a que la zona uno es la parte inferior de la raíz, donde hay mayor división celular porque es una zona de crecimiento del tejido.

VII. RECOMENDACIONES

Efectuar estudios con los hongos endofíticos aislados en esta investigación en otros cultivos hortícolas.

Determinar el modo de acción de los hongos con respecto al desarrollo fisiológico de las plantas.

Realizar un estudio para evaluar la promoción de crecimiento, con inoculaciones consecutivas comprendidas desde la etapa inicial hasta la etapa reproductiva del cultivo de tomate.

Establecer un ensayo en el cual se prueben diferentes formas o métodos de inoculación de los hongos endofíticos a las plantas.

Crear una metodología para la conservación de los aislados de hongos endofíticos obtenidos a raíz de esta investigación.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Clay, K.; Hardy, T,N; Hammond, A,M. 1985. Fungal endophytes of *Cyperus* and their effect on an insect hervibore. American Journal of Botany 72:1284-1289.

Chen, Z; Silva, H; Klessig, D. 1993. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. Science, Vol. 262, 1883-1886.

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

Cañizares, 2003. Estudio sobre poblaciones de hongos endofíticos provenientes de suelos supresivos al nematodo barrenador *Radopholus similis* (Cobb) Thorn en plantaciones comerciales de plátano en la zona de Talamanca, Costa Rica.

Darvill, AG; Albersheim, P. 1984. Phytoalexines and their elicitors- A defense against microbial infection in plants. Annual Review Plant Physiological, Vol. 35, 243-275.

Durrant, WE; Dong. 2004. Systemic acquired resistance. Annual Review, No.42, 185-209.

Hammerschmidt, R; Smith, R. 2000. A survey of plant defense responses to pathogens. In: Induced plant defenses against pathogens. 55-71 p.

INIAP (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, EC). 1994. Información básica sobre el cultivo de banano y plátano en el Ecuador. Taller PF Banano y plátano. Guayaquil, EC; 15 de Agosto. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. 35 p.

Kúc, J. 2002. The practical application of induced resistance for disease control now and for the future. En: Memoria Taller Internacional Inducción de Resistencia y uso de tecnologías limpias para el manejo de plagas en plantas. Riveros, AS; Pocasangre, LE; Rosales, F. (eds.). CATIE, Turrialba. CR. 54-60 p

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

Madriz, K. 2002. Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. Rev. Manejo Integrado de Plagas, No. 63, 22-32.

Malinowski DP.; Belesky DP. 2000. Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. Crop Science 40(4):923-940.

Menense, 2003. Utilizacion de hongos endofíticos provenientes de banano organico para el control biológico del nematodo barrenador *Radopholus similis* Cobb, Thorne.

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. CATIE77 p.

Menjivar Barahona, R. 2010. The systemic activity of mutualistic endophytic fungi in Solanaceae and Cucurbitaceae plants on the behaviour of the phloem-feeding insects *Trialeurodes vaporariorum*, *Aphis gossypii* and *Myzus persicae*, Tesis Ph.D.,GE. Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz Der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn 128p

Morales,V.;M.Rodríguez. 2005. Hongos endofitos un nuevo paradigma para la fitopatología. Revista Digital CENIAP HOY Número 7, 2005. Maracay, Aragua, Venezuela. Consultado el 28 de jun. 2013, disponible en :URL:www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/n7/arti/morales_v/arti/morales_v.htm

Pinargote, J. 1991. Identificación, dinámica poblacional y control de nematodos en el área platanera. Tesis Ing. Agr. Portoviejo, EC. Facultad de Ingeniería Agronómica. Universidad Técnica de Manabí. 52 p.

Petrini, O.; Sieber, TN.; Toti, L.; Viret, O. 1992. Ecology, metabolite production, and substrate utilization in endophytic fungi. *Natural Toxins* 1:185-196.

Petrini, O; Stone, J. y Carroll, F.E. 1982. Endophytic fungi in evergreen shrubs of Western Oregon: a preliminary study. *Canadian Journal of Botany* 60:789-796.

Pocasangre, L.; Sikora, R.A.; Araya, M. 2001. Estado actual de la situación nematológica en los bananos y platanos en América Latina. *InfoMusa* 10(2):I-XII.

Riveros, AS. 2001. Moléculas activadoras de la inducción de resistencia, incorporadas en programas de agricultura sostenible. *Rev. Manejo Integrado de Plagas*, No. 61, 4-11.

Riveros, AS. 2002. Bases bioquímicas de la resistencia en plantas. En: Memoria Taller Internacional Inducción de Resistencia y uso de tecnologías limpias para el manejo de plagas en plantas. Riveros, AS; Pocasangre, LE; Rosales, F. (eds.). CATIE, Turrialba. CR. 13-23 p.

Rivera C, G. 1999. Conceptos introductorios a la fitopatología. Combate de enfermedades de plantas. Organismos antagónicos. 1. ed. San José, Costa Rica. EUNED. p. 223.

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

Tuzun, S; Bent, E. 2000. The role of hidrolytic enzymes in multigenic and microbially-induced resistance in plant. In: Induced plant defenses against pathogens. 95-116 p.

ANEXOS

Anexo 1. Recolección de muestras



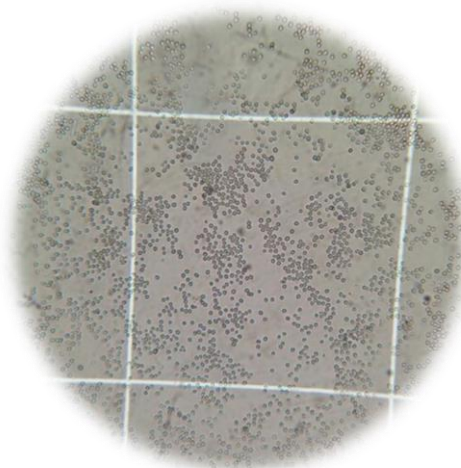
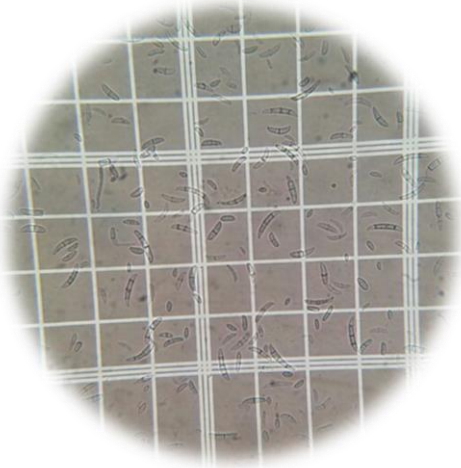
Anexo 2. Desinfección de raíces



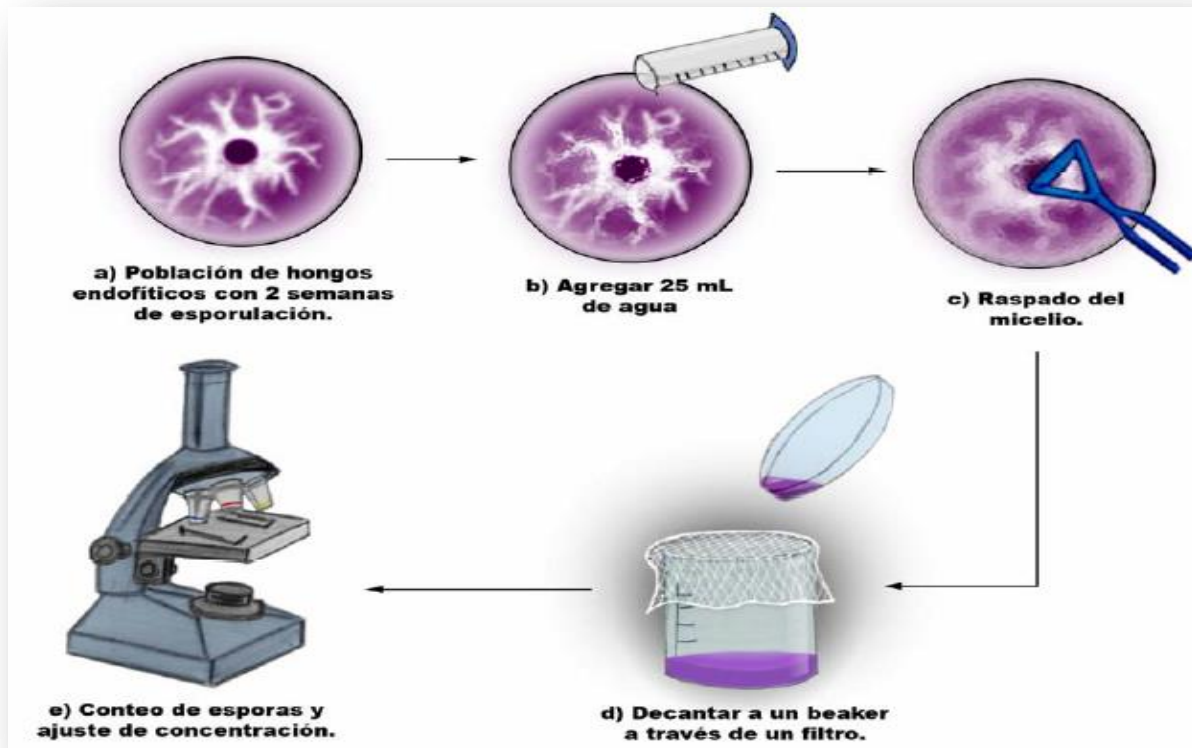
Anexo 3. Aislamiento (siembra de raíces en PDA)



Anexo 4. Identificación de hongos



Anexo 5. Protocolo para la preparación del inóculo



Anexo 6. Análisis de varianza para la variable altura de planta

RAIZ_Altura de Planta (cm

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RAIZ_Altura de Planta (cm) ..	144	0.29	0.14	6.10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1.39	24	0.06	1.99	0.0081
Tratamiento	0.73	17	0.04	1.48	0.1136
Repeticion	0.66	7	0.09	3.24	0.0035
Error	3.47	119	0.03		
Total	4.86	143			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.16904

Error: 0.0292 gl: 119

Tratamiento	Medias	n	E.E.				
16.00	2.70	8	0.06	A			
15.00	2.71	8	0.06	A	B		
5.00	2.73	8	0.06	A	B	C	
9.00	2.73	8	0.06	A	B	C	
13.00	2.76	8	0.06	A	B	C	
14.00	2.76	8	0.06	A	B	C	
2.00	2.77	8	0.06	A	B	C	
12.00	2.77	8	0.06	A	B	C	
8.00	2.78	8	0.06	A	B	C	
18.00	2.79	8	0.06	A	B	C	
10.00	2.81	8	0.06	A	B	C	
4.00	2.82	8	0.06	A	B	C	
11.00	2.83	8	0.06	A	B	C	D
1.00	2.84	8	0.06	A	B	C	D
17.00	2.86	8	0.06	A	B	C	D
6.00	2.87	8	0.06		B	C	D
3.00	2.89	8	0.06			C	D
7.00	3.00	8	0.06				D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 7. Análisis de varianza para la variable diámetro de tallo

RAÍZ_Diámetro de Tallo (cm)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RAÍZ Diámetro de Tallo (cm..	144	0.26	0.11	3.68

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.13	24	0.01	1.71	0.0316
Tratamiento	0.10	17	0.01	1.78	0.0387
Repetición	0.04	7	0.01	1.55	0.1577
Error	0.39	119	3.2E-03		
Total	0.52	143			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.05634

Error: 0.0032 gl: 119

Tratamiento	Medias	n	E.E.				
15.00	1.49	8	0.02	A			
8.00	1.50	8	0.02	A	B		
5.00	1.52	8	0.02	A	B		
13.00	1.53	8	0.02	A	B	C	
6.00	1.53	8	0.02	A	B	C	D
11.00	1.54	8	0.02	A	B	C	D
12.00	1.54	8	0.02	A	B	C	D
14.00	1.54	8	0.02	A	B	C	D
16.00	1.54	8	0.02	A	B	C	D
10.00	1.55	8	0.02	A	B	C	D
2.00	1.55	8	0.02		B	C	D E
4.00	1.55	8	0.02		B	C	D E
18.00	1.55	8	0.02		B	C	D E
9.00	1.56	8	0.02		B	C	D E
7.00	1.56	8	0.02		B	C	D E
17.00	1.57	8	0.02			C	D E
1.00	1.59	8	0.02				D E
3.00	1.60	8	0.02				E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 8. Análisis de varianza para la variable peso de raíz

RAIZ_Peso

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RAIZ_Peso	144	0.41	0.29	19.26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.90	24	0.04	3.48	<0.0001
Tratamiento	0.86	17	0.05	4.70	<0.0001
Repeticion	0.04	7	0.01	0.50	0.8333
Error	1.29	119	0.01		
Total	2.19	143			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.10290

Error: 0.0108 gl: 119

Tratamiento	Medias	n	E.E.							
17.00	0.39	8	0.04	A						
14.00	0.43	8	0.04	A	B					
7.00	0.45	8	0.04	A	B	C				
15.00	0.46	8	0.04	A	B	C	D			
18.00	0.46	8	0.04	A	B	C	D	E		
8.00	0.47	8	0.04	A	B	C	D	E	F	
9.00	0.51	8	0.04		B	C	D	E	F	G
6.00	0.54	8	0.04			C	D	E	F	G
H 5.00	0.55	8	0.04				D	E	F	G
H 13.00	0.56	8	0.04				D	E	F	G
H 2.00	0.57	8	0.04					E	F	G
H 16.00	0.57	8	0.04						F	G
H 11.00	0.60	8	0.04							G
H I 12.00	0.60	8	0.04							G
H I 3.00	0.60	8	0.04							G
H I 1.00	0.62	8	0.04							
H I 10.00	0.63	8	0.04							
H I 4.00	0.68	8	0.04							

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 9. Análisis de varianza para la variable volumen de raíz

RAIZ_Volumen

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RAIZ_Volumen	144	0.34	0.21	24.98

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1.08	24	0.04	2.57	0.0004
Tratamiento	1.02	17	0.06	3.42	<0.0001
Repetición	0.06	7	0.01	0.49	0.8371
Error	2.09	119	0.02		
Total	3.16	143			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.13106

Error: 0.0175 gl: 119

Tratamiento	Medias	n	E.E.					
14.00	0.37	8	0.05	A				
7.00	0.43	8	0.05	A	B			
17.00	0.43	8	0.05	A	B			
18.00	0.44	8	0.05	A	B			
15.00	0.44	8	0.05	A	B			
9.00	0.47	8	0.05	A	B	C		
8.00	0.48	8	0.05	A	B	C		
16.00	0.50	8	0.05	A	B	C	D	
6.00	0.54	8	0.05		B	C	D	E
13.00	0.54	8	0.05		B	C	D	E
11.00	0.56	8	0.05		B	C	D	E
12.00	0.58	8	0.05			C	D	E
5.00	0.59	8	0.05			C	D	E
10.00	0.61	8	0.05				D	E
3.00	0.62	8	0.05				D	E
2.00	0.63	8	0.05				D	E
1.00	0.64	8	0.05					E
4.00	0.66	8	0.05					E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)