UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

HONGOS ENDOFÍTICOS COMO PROMOTORES DE CRECIMIENTO E INDUCTORES DE RESISTENCIA EN PLÁNTULAS DE *Pinus oocarpa*, CATACAMAS, OLANCHO

POR:

GRECIA JUDITH PAZ ORTIZ

TESIS

PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE

LICENCIADA EN RECURSOS NATURALES Y AMBIENTE

CATACAMAS, OLANCHO **HONDURAS, C.A.**

ABRIL 2018

HONGOS ENDOFÍTICOS COMO PROMOTORES DE CRECIMIENTO E INDUCTORES DE RESISTENCIA EN PLÁNTULAS DE *Pinus oocarpa,* CATACAMAS, OLANCHO

POR:

GRECIA JUDITH PAZ ORTIZ

ADÁN ALVARADO RAMÍREZ *M.Sc*.
ASESOR PRINCIPAL

TESIS

PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCION DEL TITULO DE
LICENCIADA EN RECURSOS NATURALES Y AMBIENTE

CATACAMAS, OLANCHO HONDURAS,C.A.

ABRIL 2018

ACTA DE SUSTENACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE

PRACTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

Reunidos en el Salón de Reuniones del Departamento Académico de Producción Vegetal de la Universidad Nacional de Agricultura el: **M Sc. ADÁN ALVARADO RAMIREZ, Ph.D. WILMER MISAEL REYES SANDOVAL** y el **M Sc. GERARDO JAIR LAGOS HERNÁNDEZ,** miembros del Jurado Examinador de Trabajos de P.P.S.

La estudiante **GRECIA JUDITH PAZ ORTIZ,** del IV Año de la carrera de Recursos Naturales y Ambiente, presentó su informe.

"HONGOS ENDOFÍTICOS COMO PROMOTORES DE CRECIMIENTO E INDUCTORES DE RESISTENCIA EN PLÁNTULAS DE *Pinus oocarpa*, CATACAMAS, OLANCHO"

El cual a criterio de los examinadores, Aprobó este requisito para optar al título de Licenciado en Recursos Naturales y Ambiente.

Dado en la ciudad de Catacamas, Olancho, a los veintiseis días del mes de abril del año dos mil dieciocho.

M Sc. ADÁN ALVARADO RAMI´REZ
ASESOR PRINCIPAL

Ph.D. WILMER MISAEL REYES SANDOVAL
ASESOR AUXILIAR

M Sc. GERARDO JAIR LAGOS HERNÁNDEZ
ASESOR AUXILIAR

Contenido **Pág.**

LISTA DE TABLAS iii
LISTA DE FIGURAS iv
LISTA DE ANEXOS v
DEDICATORIA vi
AGRADECIEMIENTO vii
RESUMEN viii
I. INTRODUCCIÓN 1
II. OBJETIVOS 3
III. REVISIÓN DE LITERATURA 4
3.1 Variedades de pino en Honduras 4
3.2 Amenazas de los recursos genéticos del bosque de coníferas 4
3.3 Problemática forestal en Honduras 5
3.4 Gorgojo descortezador del pino 5
3.5 Áreas de bosque afectadas 6
3.6 Descripción de Hongos endofíticos 6
3.7 Relación planta-hongos endofíticos 7
3.8 *Trichoderma* spp 7
3.9 *Fusarium* spp 8
3.10 Unidades Spad 9
IV. MATERIALES Y MÉTODO 10
4.1 Localización 10
4.2 Materiales 11
4.3 Asepsia del laboratorio 12
4.4 Desinfección de la cámara de aislamiento 12
4.5 Reproducción del inóculo 13
4.6 Reproducción de arroz 13
4.7 Preparación de la suspensión de esporas 13
4.8 Variables evaluadas 14
4.8.1 Colonización 14

4.8.2 Diámetro del tallo 15
4.8.3 Altura de la planta 15
4.8.4 Concentración de clorofila 15
4.8.5 Peso fresco de la raíz 15
4.8.6 Volumen de raíz 15
4.8.7 Largo de raíz 16
4.8.8 Diseño experimental 16
4.8.9 Análisis estadístico 16
V. RESUTADOS Y DISCUSION 17
5.1.1 Porcentaje de colonización en plantas de *P. oocarpa* 17
5.1.2 Altura de plantas de *P. oocarpa* 18
5.1.3 Diámetro en plantas de *P. oocarpa* 19
5.1.4 Determinación de Clorofila (unidades Spad) 20
5.1.5 Volumen de raíz 20
5.1.6 Peso fresco de raíz 21
5.1.7 Largo de raíz 22
5.2 Estrés hídrico 23
5.2.1 Altura 23
5.2.2 Diámetro 24
5.2.3 Clorofila 25
VI. CONCLUSIONES 27
VII. RECOMENDACIONES. 28
VIII BIBLIOGAFIA 29
ANEXOS 32

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de colonización el plantas de p. oocarpa divido en zona1 (alta), zona2 (media),zona 3 (baja). 17

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geogafica de la comunidad San José de Vallecito 11
Figura 2. Muestra cómo se dividió las zonas de la raíz para evaluar la colonización... 15
Figura 3 Gráfico de altura (cm) en plantas de P.oocarpa 18
Figura 4 Gráfico de Diámetro (mm) en plantas de P. oocarpa. 19
Figura 5 Gráfico de Unidad de Spad en clorofila en plantas de P. oocarpa 20
Figura 6 Gráfico de volumen de raíz en plantas de P. oocarpa. 21
Figura 7 Gráfico de peso de raíz (g) en plantas de P. oocarpa. 22
Figura 8. Gráfico de largo de raíz (cm) en plantas de P. oocarpa 23
Figura 9 Gráfico de Altura en plantas de P. oocarpa bajo déficit hídrico 24
Figura 10. Gráfico de diámetro en plantas de P. oocarpa bajo déficit hídrico 25
Figura 11. Gráfico de unidades Spad de clorofila en plantas de P. oocarpa bajo déficit hídrico. 26

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable altura (cm) en plantas de *p. oocarpa* 33
Anexo 2. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable Diámetro (mm) en plantas de *p. oocarpa*. 34
Anexo 3. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable clorofila (unidades spad) en plantas de *p. oocarpa.* 35
Anexo 4. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable volumen de raíz (ml) en plantas de *p. oocarpa* 36
Anexo 5. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable peso de raíz (g) en plantas de *p. oocarpa*. 37
Anexo 6. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable Largo de raíz (cm) en plantas de *p. oocarpa.* 38
Anexo 7. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable altura en plantas de *p. oocarpa* sometidas a déficit hídrico 39
Anexo 8. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable Diámetro (mm) en plantas de *p. oocarpa* sometidas a déficit hídrico 40
Anexo 9. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable clorofila (unidades spad) en plantas de *p. oocarpa* sometidas a déficit hídrico 41
Anexo 10. Tratamientos utilizados 42
Anexo 11 Identificación del área afectada por D. frontalis en la comunidad den San José de Vallecito. 43
Anexo 12 Reproducción de hongos endofíticos en placas Petrí. 43
Anexo 13 Reproducción de hongos endofíticos en arroz 44
Anexo 14 Plantas de P. oocarpa en vivero forestal de la Universidad Nacional de Agricultura 44

DEDICATORIA

A **Dios**, Por darme la oportunidad de llegar hasta este punto y brindarme salud en todo momento para logar mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres **Carmen Judith Ortiz** y **José Manuel Paz**, por darme la vida, quererme mucho y creer en mí, porque siempre han sido un apoyo para mi persona. Mamá y Papa gracias por cada consejo, todo esto se los debo a ustedes.

A mi abuelo **Luis Figueroa** (QDDG) que en vida siempre fue aquel que, me motivaba día con día, mi deseo era poder disfrutar este triunfo juntos pero sé que desde el cielo celebraras conmigo.

A mi compañero **Pedro Montufar Santos** (QDDG) quien Dios decidió llevarlo emprendiendo el camino de nuestra carrera por este hermano de clase **Azairus.**

A mis familiares: mis hermanos **Gerson Ortiz** y **Juan Paz** por ser mi apoyo y a la vez mi motivación, a mi abuela **Sara Mejía** por estar presente en cada una de las etapas de mi vida por enseñarme a sacar fuerzas en momentos difíciles, a mis tíos **Luis Figueroa** y **Keidy Nolasco** por estar siempre presente y por su gran ayuda en esta etapa académica, a mi ahijado **Luis Alberto Figueroa** para que veas en mi un ejemplo a seguir.

A mis amigos: Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que a la vez son tantas historias juntos que Dios todo poderoso los bendiga en todo momento: **Rafael Lobo, Cristian Portillo, Raúl Rodríguez, Caren Lacoth, Fredy peña, Lilian Hernández, Brenda Moran, Abel Padilla, Eduardo Quintero, Grecia soriano, Narcy Sánchez.**

AGRADECIEMIENTO

A **Dios**. Por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles.

A **mis padres** por haberme educado y soportar mis errores. Gracias a sus consejos y a su amor que siempre me han brindado.

A Mis Asesores de Tesis, **M.Sc Gerardo Lagos, M.Sc. Adán Ramírez, Ph.D Wilmer Reyes** por su tiempo compartido y por impulsar el desarrollo de nuestra formación profesional gracias por su apoyo.

Al **Lic. Douglas Irías, Lic. Tony Escobar** por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales y para la elaboración de esta tesis.

A mi compañero de tesis **Fredy Peña** que gracias al equipo que formamos logamos llegar hasta el final del camino.

Gracias a cada una de las personas que siempre han estado presente en este proceso en especial a **Mario Delcid.**

Al **Ing. Ben Strohner** por su apoyo en el proceso de la investigación, también al programa **CLIFOR** por su apoyo financiero en la investigación, y a la vez a ICF (Instituto de Conservación Forestal y Desarrollo Forestal, Áreas Protegidas y Vida Silvestre)

A la Universidad Nacional De Agricultura por abrir sus puertas a mi persona, por permitirme formar académicamente.

PAZ ORTIZ G. J. 2018. Hongos endofíticos como promotores de crecimiento e inductores de resistencia en plántulas de *Pinus oocarpa,* Catacamas, Olancho. Tesis Lic. Recursos Naturales y Ambiente Universidad Nacional de Agricultura. 55 P.

RESUMEN

El objetivo principal de la investigación consistió en evaluar los hongos endofíticos como alternativa para el manejo de *D. frontalis* en *P. oocarpa,* haciendo uso de los géneros *Trichoderma* spp y *Fusarium* spp estos son organismos que colonizan los tejidos internos de la planta sin causar daños. Estos hongos generan cambio de manera positiva en promoción de crecimiento y desarrollo, y posible inducción natural de resistencia o tolerancia al insecto. Se evaluaron cinco aislados del género *Fusarium* spp, diez de *Trichoderma* spp y un testigo. De las cuales se utilizaron 15 tratamientos y un testigo cada uno formado por 20 repeticiones bajo inoculación con los endofíticos a 1×106ufc/g de suelo, de las cuales la cantidad de 64 plantas fueron sometida a déficit hídrico, se evaluaron indicadores como: porcentaje de colonización, diámetro del tallo, altura de planta, largo de raíz, volumen de raíz, peso fresco de raíz y unidades Spad de clorofila. Los endofíticos demostraron capacidad de colonizar, donde T16-TH5, T7-TT2, T8-V2A con un 100%, altura con 10.54 cm T7-TT2, con 1.29 mm en diámetro T16-TH5, unidades Spad de clorofila de 8.11 el T10-TH4, y volumen de raíz 0.4 ml T12-TH2, peso fresco de raíz con 0.2 g T7-TT2, y largo de raíz 17.65 cm T4-FTD. En cuanto a las plantas sometidas a déficit hídrico en las variables altura 14.07 cm y diámetro 1.40 mm siendo este T7-TT2, en cuanto unidad de Spad de clorofila 12.30 es T2-FB1, dejando en evidencia que los endófiticos inciden en cambios fisiológicos dentro de su hospedero.

Palabras Claves: *Fusarium, Trichoderma, P. oocarpa,* Colonización, *D. frontalis*

I. INTRODUCCIÓN

Los bosques de pino son representativos de la superficie forestal hondureña. En el país existen siete especies del genero *Pinus*, que forman parte de la industria primaria forestal de Honduras (MOSEF 2017).

Siendo los bosques de pino frecuentemente afectados por plagas y enfermedades. Existen factores que contribuyen a la aparición de estos organismos, entre ellos tenemos: incendios forestales, periodos de sequía prolongados, el manejo inadecuado del bosque, competencia y susceptibilidad de árboles viejos y enfermos, la falta de aplicación de las practicas silviculturales planteada en los planes de manejo, tales como poda, raleo, reforestación entre otras (Jiménez 2005)

Los bosques de pino son característicos del territorio hondureño. Sin embargo, los brotes epidémicos de *Dendroctonus frontalis* dificultan el manejo sostenible de estos bosques, lo cual genera grandes pérdidas económicas y ambientales en el país (Rivera 2007).

Sánchez *et al* (2013) en investigaciones realizadas en el año 2009 demostró la capacidad que tienen los hongos endófiticos para producir compuestos activos que generan protección a su hospedero contra el ataque de patógenos. Además, los hongos endófiticos habitan en las plantas sin causar síntomas aparentes de enfermedad.

La interacción planta-endófiticos se identifica por su carácter asintomático; la planta provee al hongo alimento, hospedaje y protección. Por su parte, aunque se desconoce con certeza el mecanismo de acción, se ha reportado ampliamente que los endófiticos confieren gran potencial adaptativo a las especies vegetales hospederas frente a condiciones adversas de tipo abiótico entre las que se pueden mencionar, mayor tolerancia a la sequía y al estrés oxidativo (Abello 2006).

La comunidad de San José de Vallecito, ubicada en el departamento de Olancho, fue una de las áreas más afectadas por *D. frontalis* generando grandes pérdidas económicas y a la vez ambientales para la zona. Como estrategia de manejo se han realizado cortes de salvamento, lo cual ha significado pérdidas considerables de bosque. En la presente investigación se evalúa el efecto de hongos endofíticos en *P. oocarpa*. Los resultados obtenidos aportan elementos para para el establecimiento de una estrategia de prevención, manejo, y control de *D. frontalis*.

II. OBJETIVOS

2.1 General

Evaluar el efecto de hongos endófiticos *Fusarium* spp y *Trichoderma* spp en la promoción e inducción de resistencia o tolerancia en plántulas de *Pinus oocarpa* como alternativa a futuro para el manejo de la problemática de *D. frontalis (*gorgojo descortezador).

2.2 Específicos

Determinar el porcentaje de colonización de hongos endofíticos en el sistema radicular de *P. oocarpa*

Evaluar variables de crecimiento como respuesta al efecto de los hongos endofíticos.

Analizar la inducción de tolerancia de hongos endofíticos a déficit hídrico.

Comparar el comportamiento clorofílico de los tratamientos evaluados

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Variedades de pino en Honduras

En varias de las publicaciones de los pinares de Honduras se ha detallado que se encuentran siete especies del género *Pinus*. Sin embargo, es preciso mencionar la existencia de otras especies. Desde años anteriores y en la actualidad los pinares forman la base de la industria primaria forestal del país. Las Especies del género *Pinus* presentes en Honduras son*: Pinus caribaea* variedad Hondureña, *Pinus oocarpa*, *Pinus maximinoi*, *Pinus ayacahuite*, *Pinus pseudostrobus*, *Pinus tecumumanii*, *Pinus hartwegü* (Padilla 2013).

3.2 Amenazas de los recursos genéticos del bosque de coníferas

Debido a procesos de investigación y manejo del bosque de pino se mencionan como amenazas las siguientes:

- Los diferentes planes de manejo presentados a ICF (Instituto de Conservación Forestal), no se toma en cuenta por parte del personal técnico que no establece la identificación de las especies aprovechadas.
- Avance de la frontera agrícola dentro del bosque pinar.
- En zonas que son exclusivas para *P. tecumumanii*, están siendo sobre explotado para ser las tierras utilizadas en hortalizas y cafetales, lo que conlleva como consecuencia a esta especie al gado de extinción.
-Otras especies de Pinos, el tipo de corte es selectivo (lo mejor) lo que provoca una degradación genética continua.
- Las plagas forestales principalmente *D. frontalis*, es en la actualidad un problema latente en el bosque pinar Hondureño.

- Los incendios forestales provocados por los diferentes actores; agricultores, ganaderos, entre otros es también una gran amenaza para los recursos del bosque pinar (Padilla 2003).

3.3 Problemática forestal en Honduras

El cambio climático representa una de las más significativas amenazas a los sistemas productivos y la sociedad debido a sus impactos nocivos sobre la vida de las personas en general. De acuerdo a la CEPAL1, para el año 2050, la región centroamericana tendrá un aumento de la temperatura media anual entre 1.4°C y 2.3°C, y los niveles de precipitación disminuirán entre 24% y 47%(CONADEH 2016).

Como consecuencia de los efectos del cambio climático, Honduras atravesó una de las peores situaciones por las plagas forestales sobre los bosques de pino, en especial la del gorgojo descortezador del pino *D. frontalis* que, agregando otras amenazas existentes como los incendios forestales y la tala ilegal (CONADEH 2016).

3.4 Gorgojo descortezador del pino

El gorgojo descortezador del pino *D. frontalis* es la plaga más nociva que afecta los bosques de coníferas del país en su importancia económica, ambiental y social, ha causado un daño sobre el principal capital natural del país y por vía de consecuencia, sobre los derechos humanos de los habitantes. Su presencia masiva, es producto de las altas temperaturas y prolongadas sequías, derivadas del cambio climático (CONADEH 2016).

3.5 Reconocimiento del ataque

A primera vista, el síntoma de que un árbol haya sido atacado por el gorgojo del pino es el descoloramiento del follaje. Las acículas cambian de color verde a color amarillento y luego a rojo o marrón. Al acercarse al pino, uno puede ver pequeñas acumulaciones de resina o "grumos" en las grietas de la corteza, que indican las entradas de gorgojos padres.

Al sacar la corteza de un pino con copa amarillenta o roja, se encuentran galerías en forma de "S" y llenas de aserrín, indicando ataques de *D. frontalis* (Billings y Espino 2005).

Los primeros brotes del gorgojo de pino se registraron en el año 2013 en los municipios de Gualaco y La Unión en el Departamento de Olancho, afectando unas 147.86 hectáreas. Cabe mencionar que se presentó con mayor agresividad en el año 2014 los brotes de esta plaga en el Departamento de Olancho, en especial en el municipio de Gualaco, identificándose unas 1,900 hectáreas afectadas en los municipios del norte de Olancho hacia el Departamento de Yoro: La Unión, Jano y Esquipulas del Norte y Guata y en los municipios de Jocón y Olanchito (CONADEH 2016).

3.5 Áreas de bosque afectadas

El gorgojo descortezador del pino genero una serie de impactos negativos al propio recurso natural y, en consecuencia, a otros aspectos del ambiente sano que resguarda la vida de las y los habitantes.

La descripción de los impactos a los recursos naturales y al ambiente por el ataque del gorgojo descortezador del pino, de acuerdo a datos proporcionados por el Instituto Nacional de Conservación Forestal (ICF) afectó un total de 381,339.79 hectáreas de bosque de pino en el país. Concentrándose el 98% del área afectada en los siguientes departamentos: Olancho 37.41%, Yoro 34.12%, Francisco Morazán 14.78%, Comayagua 14.58% y El Paraíso 10.12% (CONADEH 2016).

3.6 Descripción de Hongos endofíticos

Los endofíticos son aceptados como aquellos organismos que viven asintomáticamente dentro de los tejidos aéreos y subterráneos vegetales vivos incluyendo los hongos productores de micorrizas (Carroll 1986; Saikkonen *et al,* 1998).

Las especies de endofíticos poseen variaciones en sus requerimientos y preferencias nutritivas, debido a ello podrían tener un impacto en la tasa de uso de fotosintátos,

generando un efecto en el hospedero, al agotar ciertos productos según la presencia y dominancia de ciertos endófiticos no afectan la tasa fotosintética de sus hospederos naturales en el estadio de la plántula (Gamboa-Gaitán *et al.* 2005).

3.7 Relación planta-hongos endofíticos

Un posible campo de acción, es en la protección de cultivos mediante la producción de metabolitos que evitan o disminuyen tanto la herbivoria como la susceptibilidad a patógenos y la tensión ambiental (sequia). Algunos hongos muestran actividad enzimática en la degradación de contaminantes (Bogan y Lamar 1996).

Los hongos endófitos toman nutrientes y protección de su hospedera y algunos de ellos en retribución pueden desempeñar un papel mutualista, ya que pueden beneficiarla al inducir su crecimiento, al aumentar su tolerancia al estrés y al producir metabolitos secundarios con amplia diversidad estructural que le brindan protección y resistencia contra herbívoros y/o microorganismos fitopatógenos (Sánchez *et al* 2013*)*

Se ha observado que los hongos endófitos pueden contribuir a la protección de su hospedera contra factores bióticos (patógenos y herbívoros) y abióticos (estrés salino, térmico, presencia de metales, etc.), por medio de tres mecanismos: 1) Directos: por medio de enzimas y/o metabolitos secundarios con actividad anti-patógeno, producidos directamente por el hongo endófito. 2) Indirectos: consisten en la inducción o incremento de la expresión de mecanismos de defensa químicos o fisiológicos intrínsecos a su planta hospedera. 3) Ecológicos: se llevan a cabo por ocupación del nicho ecológico, hiperparasitismo y predación (Sánchez *et al* 2013)

3.8 *Trichoderma* spp

El género *Trichoderma* fue descrito por Persoon en 1794. Posteriormente, Rifai en 1879 hizo el primer agrupamiento en especies agregadas que se utiliza hasta el presente, a pesar de las dificultades que se presentan para la identificación de especies por este método, debido a la cercanía morfológica y la evolución de las mismas. Son hongos saprofitos del

suelo y la madera, de crecimiento muy rápido. Las especies de este género se encuentran ampliamente distribuidas por todas las latitudes, y se presentan naturalmente en diferentes ambientes, especialmente en aquellos que contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición (Hernan *et al.* 2015).

Cabe destacar que este hongo tiene diversas ventajas como un agente de control biológico, debido a que posee un rápido crecimiento y desarrollo. Aparte de esto produce una gran cantidad de enzimas, inducibles con la presencia de hongos fitopatógenos. Puede desarrollarse en una amplia gama de sustratos, lo cual facilita su producción masiva para su uso. Su gran tolerancia a condiciones ambientales extremas y a hábitats donde los hongos causan enfermedades, le permiten ser un eficiente bio-agente de control. Sin embargo, puede sobrevivir en medios con contenidos significativos de agro-defensivos y otros químicos (Hernan *et al.* 2015).

Las diferentes especies de *Trichoderma* se caracterizan por tener un crecimiento micelial rápido y abundante de producción de esporas que ayuda a la colonización de diversos sustratos y del suelo (Zimand *et al*, 1996).

Este hongo tiene la capacidad de tomar los nutrientes de los hongos patógenos; compite con ellos o los degrada. También se alimenta de los materiales orgánicos, degradándolos. Por ello, las incorporaciones de materia orgánica y compost favorecen su establecimiento en el suelo. El hongo requiere de humedad para poder germinar. Además, tiene una velocidad bastante alta de crecimiento, por lo que es capaz de establecerse en el suelo y controlar enfermedades que afectan a los cultivos (Hernan *et al.* 2015).

3.9 *Fusarium* spp

Fusarium spp., es un hongo filamentoso aislado de plantas y suelo. Se encuentra como microbiota normal en arroz, frijol, soya y otros cultivos. Además de ser un contaminante común y fitopatógenos, las especies de *Fusarium* pueden causar varias infecciones en humanos, como infecciones superficiales como onicomicosis, este género contiene más

de 20 especies de las cuales las más comúnmente aisladas son *Fusarium. solani, Fusarium oxysporum* y *Fusarium. moniliforme (*Tangarife 2011)**.**

Las especies de *Fusarium* están distribuidas en todo el mundo y pueden salvarse de diversos sustratos, plantas subterráneas y muchas sustancias orgánicas (Martínez e*t al.* 2014).

3.10 Unidades Spad

Los valores Spad se basan en el principio de que parte de la luz que llega a la hoja es absorbida por la clorofila y el resto que se refleja entra en contacto con la celda detectora del SPAD-502 y es convertida en una señal eléctrica. La cantidad de luz captada por la celda es inversamente proporcional a la cantidad de luz utilizada por la clorofila, la señal es procesada, y la absorbancia es cuantificada en valores dimensionales que van de 0 a 199, por lo que las unidades SPAD serán siempre las mismas de acuerdo con el tono verde de las hojas (Rodríguez *et al*. 1998).

IV. MATERIALES Y MÉTODO

4.1 Localización

La investigación, reproducción e inoculación de hongos endofíticos se realizó en el laboratorio de hongos entomopatógenos de la Universidad Nacional de Agricultura (UNAG), en el periodo comprendido de septiembre a diciembre 2017, ubicada en el kilómetro 6 carretera que conduce a Dulce Nombre De Culmí, Catacamas, Olancho a una altura de 350 msnm.

La primer fase a nivel de laboratorio donde se desarrollaron las cepas de los hongos existentes, una vez desarrolladas e identificadas las cepas *Fusarium* spp. y *Trichoderma* spp. Se inició la segunda etapa con la inoculación de las plántulas de *P. oocarpa* en vivero forestal de la UNAG.

La tercera fase se llevó a cabo la siembra de plantas de *P. oocarpa* en campo en el mes de febrero, estas fueron trasladadas a la comunidad de San José de Vallecito en la propiedad del señor Luis Orlando Moya Rosales, se plantaron bajo un sistema de plantación de 3×3 m , estableciendo un total de 13 plantas por parcela estas compuesta por 35 m, ver figura uno.

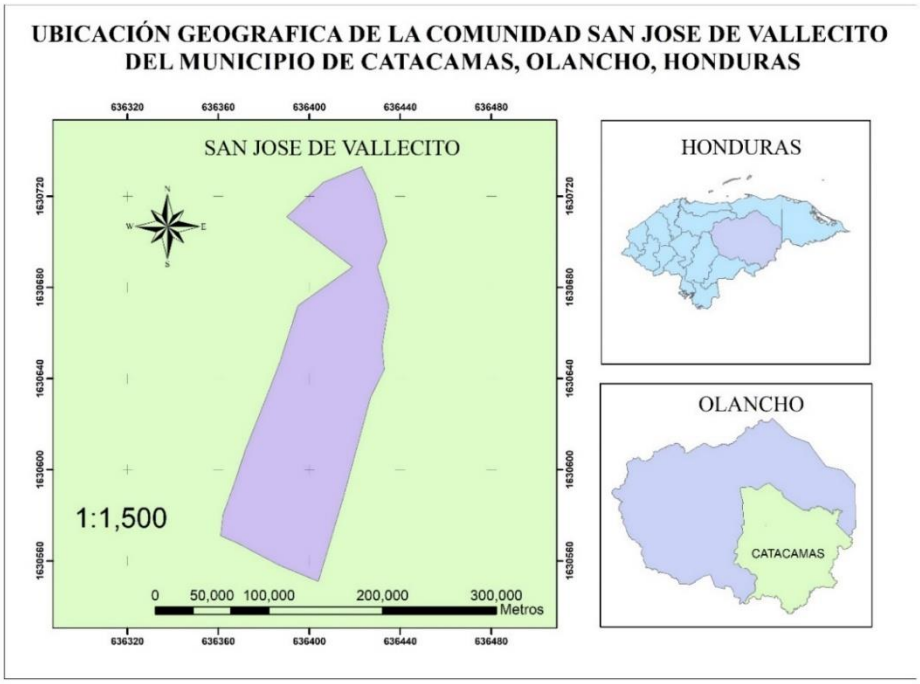


Figura 1. Ubicación geogafica de la comunidad San José de Vallecito

4.2 Materiales

Placas Petri de 90x15mm, papel toalla, papel filtro, medio de cultivo (PDA Potato Dextrose Agar), agua destilada, papel parafilm, alcohol al 70%, alcohol para quemar, fósforos, masking tape. Cubre y porta objeto, beaker, bisturí, jeringas, pinzas, probeta, guantes, microscopio (Mejí TECHNO), calentador y agitador (Fisher scientific), balanza digital (Scout-Pro modelo SP2001), gasas, auto clave (all américa modelo 25x-1), cámara de flujo laminar (biosafety class II labconco), gentamicina (1 cc/1000ml), bolsas plásticas de diferentes medidas, placas Petri (vidrio) tubos de ensayo, azas, arroz pre-cocido.

Material y equipo para vivero forestal: Para la elaboración del túnel se utilizó sarán (sombra al 50 %) , tubos de pvc de 2 in, cuerda, azadón, machete, piocha, barra, plantas de *P. oocarpa* que se obtuvieron del vivero forestal de la unión Olancho en bolsa de 3x5 in, sustrato (dos partes de tierra; dos partes de arena del cual no fue desinfectado) y regadera.

Material de toma de datos: Marcador permanente, libreta de campo, regla milimetrada, Pie de rey (digital marca TRUPER), lápiz, Spad 502, computadora portátil, memoria USB, grapadora.

4.3 Asepsia del laboratorio

El laboratorio de entomopatógenos fue sometido a procesos de limpieza general y desinfección, desde equipo e infraestructura; para lo cual se utilizó como agente desinfectante el hipoclorito de sodio al 3.62 % concentración comercial, y este fue disuelto a una concentración del 2%. Se lavaron todos los materiales con agua destilada y detergente para remover cualquier residuo de materia orgánica, y luego fueron sometidos a un enjuague con abundante agua para remover partículas del detergente que podrían quedar en los equipos.

Los materiales y cristalería después de lavado y secado se procedió a esterilizar por calor húmedo a presión de vapor de agua, se llevó a cabo con la ayuda de una autoclave, el cual se manejó a una presión de 1 atmósferas o 15 libras de presión hasta alcanzar a una temperatura de 121.6 ºC donde comienza el periodo de esterilización; la cual se llegara a una temperatura de 127 del cual tiene una duración de 2 horas para finalmente cumplir con el periodo de esterilización, entre los que son sometidos a este proceso están los medios de cultivo, placas Petri (Cristal), tubos de ensayo, papel toalla y probetas.

4.4 Desinfección de la cámara de aislamiento

Se desinfecto antes y después de cada aislamiento con alcohol al 70%, por dentro y afuera de la cámara, luego se encendió la luz ultravioleta por un periodo de media hora y se conservó previo a comenzar el aislamiento; antes de preparar cualquier procedimiento en el interior de la cámara se procedió a la desinfección personal(lavado de manos con abundante agua y jabón, secado para luego aplicación de alcohol al 70%) debiendo utilizar el equipo necesario de protección (gabacha, guantes, mascarilla, redecías).

4.5 Reproducción del inóculo

Los hongos endofíticos se dejaron crecer en placas Petri conteniendo medio de cultivo PDA (Potato Dextrose Agar) durante tres semanas, bajo condiciones asépticas una vez que creció el hongo se procedió a la preparación del sustrato de arroz para inocularlo durante un periodo de 20 días.

4.6 Reproducción de arroz

Para este proceso en una bolsa de polipropileno se pesaron 100 (g) de arroz pre-cocido, además se añadieron 40 ml de agua, los cuales vaciamos en la bolsa con el arroz, luego de esto se introdujo a la auto clave dejándolo por un periodo de dos horas hasta alcanzar el punto para la esterilización, al momento de sacar el arroz de la autoclave se esperó a que este enfríe para sembrar los hongos y luego se sellaron herméticamente para que este madurez.

4.7 Preparación de la suspensión de esporas

Después del desarrollo del hongo en arroz, se efectuó con una espátula de aluminio para desprender el arroz de la bolsa de polipropileno y se agregó una gota de Inex para que facilite el desprendimiento de las esporas. La solución resultante fue filtrada en un beaker de 500 ml esta será la solución madre.

Luego se tomaron cuatro tubos de ensayo conteniendo nueve ml de agua destilada estéril, de la solución madre se tomó un ml y se depositó en el primer tubo de ensayo complementando 10 ml, esto será $1x10^{1}$, luego de esta solución se tomara un ml y se depositara en el tubo dos esto será $1x10^{2}$, este paso se repetirá hasta llegar al tubo cuatro que tendría una concentración de $1x10^{4;}$ esto nos permitió determinar la concentración de esporas por ml en la solución madre.

La solución madre se deberá ajustar a una concentración de $1x10^{6}$ufc/ml/g de suelo. Una vez que se obtuvo el biopreparado se procedió a la inoculación de las plantas. Las inoculaciones se llevaron a cabo al mes de edad de la planta a una concentración de

$1x10^6$ufc/ml/g de suelo y tres semanas después se realizó una segunda inoculación. Para la aplicación de esta solución se utilizó la cantidad de 25 ml/planta.

4.8 Variables evaluadas

4.8.1 Colonización

El porcentaje de colonización se medió cinco días después de la segunda inoculación tomando plantas seleccionadas de cada tratamiento se cortó la raíz de cada repetición, siendo dividas en tres partes o zonas (alta, media y baja, ver figura dos), con el fin de encontrar la colonización que presento cada aislado, se observó por tres días el nivel de colonización determinando el porcentaje de colonización según el número de tejidos con presencia de micelio.

Fórmula para porcentaje de colonización

$$x = \frac{\text{NTC}}{\text{NTT}} x100$$

Donde:

X= Porcentaje de colonización

NTC=Número de tejidos colonizados

NTT=Número de tejidos totales

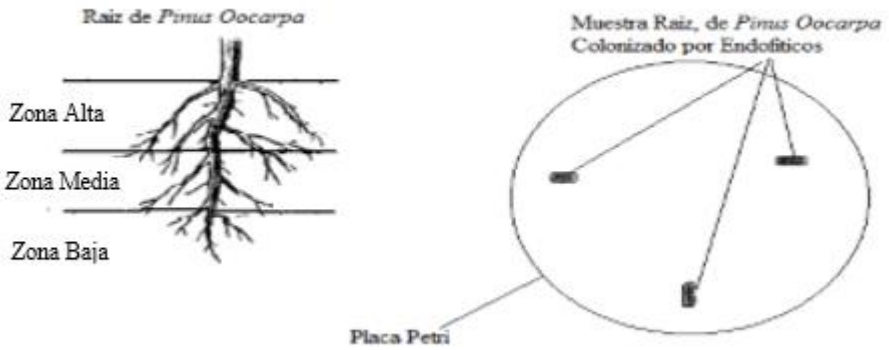


Figura 2. Muestra cómo se dividió las zonas de la raíz para evaluar la colonización.

4.8.2 Diámetro del tallo

Esta variable se midió en milímetros haciendo uso de un pie de rey a una altura de 2 cm de la base del suelo.

4.8.3 Altura de la planta

Durante el periodo de cuatro meses de edad con intervalo de 8 días entre cada toma de datos, se tomaron medidas con una regla milimetrada desde el comienzo de la base del tallo hasta donde nace la acícula más reciente.

4.8.4 Concentración de clorofila

Se realizaron mediciones de clorofila con el instrumento Spad 502 plus cada 8 días.

4.8.5 Peso fresco de la raíz

Para la evaluación de esta variable se extrajo la planta de la zona en la cual fue establecida (vivero) luego se lavó la raíz bajo caudal para evitar el daño de las mismas con la ayuda de un bisturí se realizó la separación de la parte foliar y radicular. Después se procedió a desinfectar la raíz con hipoclorito al (3 %), alcohol al (10%) y agua destilada al (100%) para cada zona, realizado este procedimiento se coloraron las raíces en papel toalla para extraer la humedad luego se procedió a pesarla en(g) haciendo uso de una balanza digital.

4.8.6 Volumen de raíz

Para la medición de esta variable se utilizaron las mismas raíces que la variable anterior seguidamente se introdujo en un recipiente con volumen de agua conocido (8 ml) y luego se tomó el diferencial de volumen en ml.

4.8.7 Largo de raíz

Esta medición se realizó a través de una regla milimétrica desde el cuello de la planta hasta el extremo de la raíz.

4.8.8 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), el cual consto de dieciséis tratamientos, y veinte repeticiones por cada tratamiento. Los tratamientos incluyeron diez del género *Trichoderma* y cinco del género *Fusarium* con un testigo absoluto del cual no será inoculado por ningún género antes mencionado ver anexo 10.

Modelo estadístico

$Y_{ij}=\mu+T_i+E_j$

Donde

Y_{ij}: La observación del tratamiento

$T_{i:}$ Efecto del tratamiento

$E_{j:}$ Error experimental asociado a la observación ij

4.8.9 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza (ANAVA) utilizando el software InfoStat. En caso de encontrarse diferencia estadística entre los tratamientos se procedió a la aplicación de prueba de medias LSD FISHER, a través de la cual se identificó con mayor precisión las diferencias de los tratamientos evaluados.

V. RESUTADOS Y DISCUSION

5.1.1 Porcentaje de colonización en plantas de *P. oocarpa*

El género con mayor capacidad de colonizar en plantas de *P. oocarpa*, se muestra en la tabla 1 que algunos de los tratamientos del género *Trichoderma* spp se presentan con un alto porcentaje en las tres zonas.

Tabla 1. Porcentaje de colonización el plantas de *p. oocarpa* divido en zona (alta), zona (media), zona (baja).

Tratamientos	% de colonización		
	Zona (Alta)	Zona (Media)	Zona (Baja)
T2-FB1	66.66%	66.66%	100%
T3-FCH2	100%	66.66%	66.66%
T4-FTD	66.66%	33.33%	100%
T5-FTR	100%	66.66%	66.66%
T6-FC2	100%	33.33%	100%
T7-TT2	100%	100%	100%
T8-TV2A	100%	100%	100%
T9-TH1	100%	100%	33.33%
T10-TH4	100%	100%	100%
T11-TH3	100%	33.33%	66.66%
T12-TH2	66.66%	66.66%	33.33%
T13-TV6	100%	33.33%	100%
T14-TT3	100%	100%	66.66%
T15-TV3	66.66%	33.33%	33.33%
T16-TH5	100%	100%	100%

Los resultados indican que los hongos endofíticos con capacidad de colonizar en plantas inoculadas de *P. oocarpa*, donde los tratamientos T7-TT2, T8-TV2A ,T10.-TH4, T16-TH5, siendo estos del genero *Trichoderma* mostraron un 100% en la variable colonización , por otra parte los resultados obtenidos de esta variable no presentan semejanza con estudios realizados por Martínez (2016),debido a que refleja el género

con mayor porcentaje de colonización es el género *Fusarium* con T14- FTD,T15-FB1, sin embrago los resultados obtenidos por Zabulón (2013) coinciden con los resultados obtenidos por la actual investigación ya que resalta el género *Trichoderma* con mayor capacidad de colonizar y el género *Fusarium* mostraron la menor capacidad de colonizar.

5.1.2 Altura de plantas de *P. oocarpa*

Los tratamientos evaluados revelan que los hongos endofíticos le permiten un desarrollo a las plantas, se muestra en la figura uno que los tratamientos T7-TT2 y T10-TH4 son estadísticamente diferente al resto de los demás tratamientos ver figura 4.

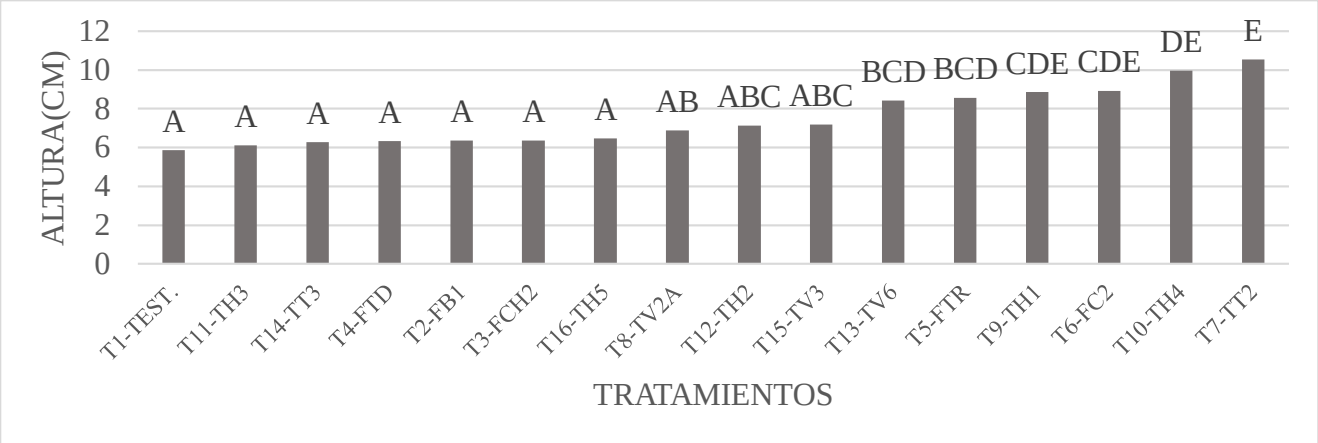


Figura 3 Gráfico de altura (cm) en plantas de *P.oocarpa*

Los diferentes tratamiento tuvieron un rango de 5.86 cm a 10.54 cm los tratamientos muestran una similitud entre los dos géneros los que presentan una mayor promoción de altura fueron T7-TT2 con 10.54 cm, T10-TH4 con 9.96 cm y T5-FC2 con 8.91 cm, los resultados encontrados por Martínez (2016) en plantas de *P. oocarpa* que expresa que el mejor tratamiento inductor de altura a base endofíticos fue el género *Fusarium spp* T13 FC2 con 15.70 cm, sin embargo muestra que seguidamente los tratamientos que presenta una altura similar es el género *Trichoderma*, en la investigación de Hernández (2016) quien trabajo con cucurbitáceas y bracicáceas basado en sus resultados coincide con que

el género Trichoderma presenta mayor altura, siendo el mayor vernon 3 con una altura de 5.75 cm y a la vez con menor altura el género *Fusarium.*

5.1.3 Diámetro en plantas de *P. oocarpa*

La figura dos muestra el efecto que generan los hongos endofíticos a los tratamientos evaluados donde algunos del género *Trichoderma* spp tiene una superioridad en cuanto a los demás tratamientos incluyendo el testigo ver figura 5.

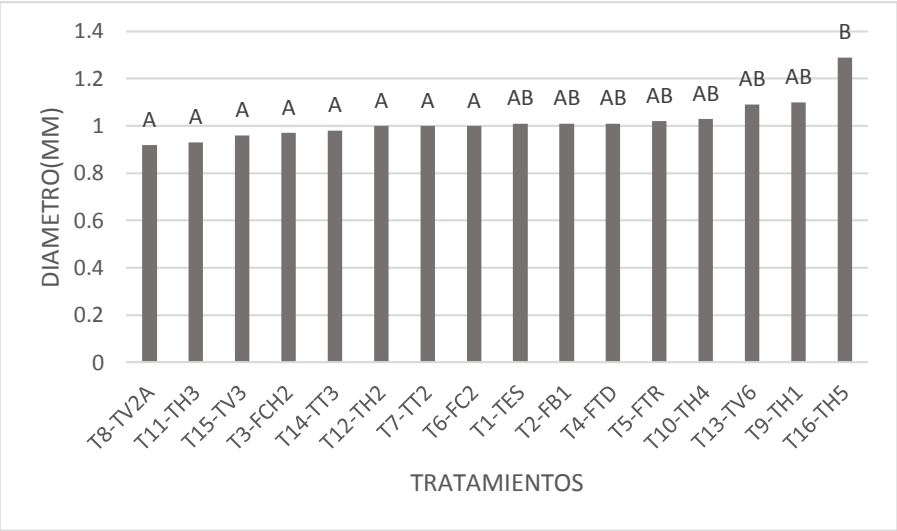


Figura 4 Gráfico de Diámetro (mm) en plantas de *P. oocarpa.*

El rango del diámetro oscilo entre 0.92 a 1.29 mm, siendo el T16-H5 el que difiere del resto de los tratamientos con una media de 1.29 mm, igual resultado reportado por Martínez (2016) en el mismo cultivo T5-TH1 con 1.93 mm, al mismo tiempo resultados presentados por Dávila (2016) indica que el género *Trichoderma* presento mayor desarrollo en cuanto a diámetro en cultivo de melón.

5.1.4 Determinación de Clorofila (unidades Spad)

Mediante los análisis realizados de esta variable, refleja que el género *Trichoderma* spp tiene la mayor unidad de Spad en clorofila ver figura 6.

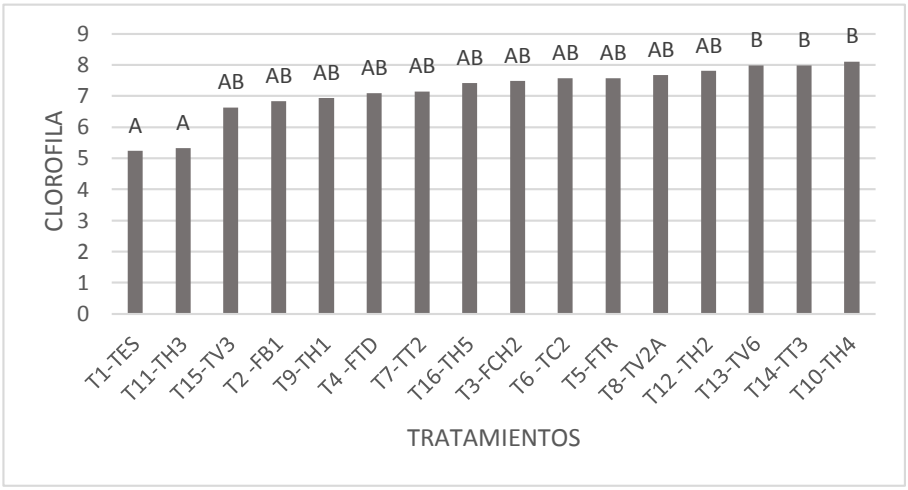


Figura 5 Gráfico de Unidad de Spad en clorofila en plantas de *P. oocarpa*

Basándonos en los datos nos muestra que los rangos de las plantas son de 5.24 a 8.11 unidad de Spad, el tratamiento que muestra mayor significancia en cuanto a la variable clorofila es el género *Trichoderma* spp T10-TH4 con una media de 8.11, coincidiendo con el resultado encontrado por (Martínez 2016) en plantas de *P. oocarpa* que expresa que el mejor tratamiento en cuanto a clorofila es el género *Trichoderma* spp T5 TH1 con 32.59.

5.1.5 Volumen de raíz

Mediante los análisis realizados demuestran que los endofíticos tienen efecto en la variable superando de manera significativa al testigo, destacándose el género *Trichoderma* spp ver figura 7.

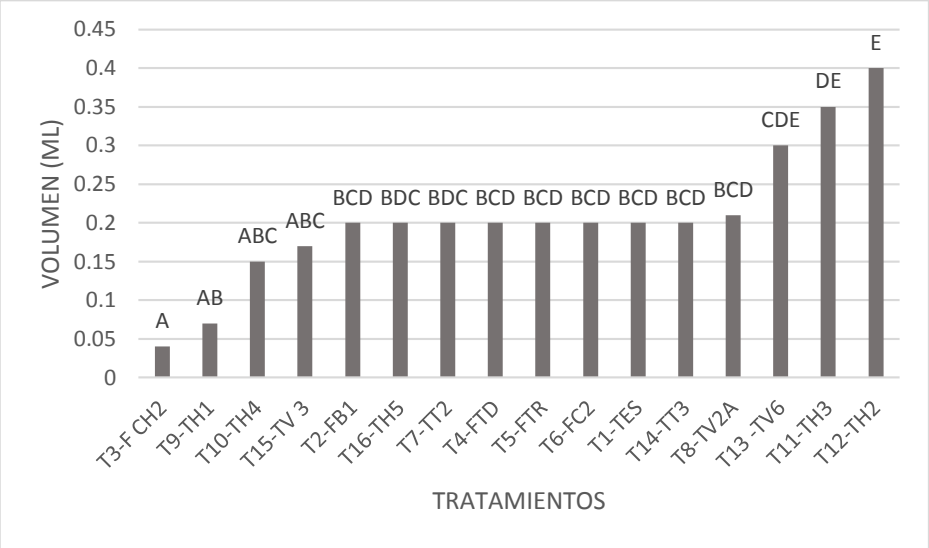


Figura 6 Gráfico de volumen de raíz en plantas de *P. oocarpa.*

Los diferentes tratamientos tuvieron un rango de 0.04 ml a 0.4 ml el tratamiento que muestra mayor significancia en cuanto volumen de raíz es el género *Trichoderma* spp T12-TH2 con una media de 0.4 ml, siendo diferente con el resultado encontrado por Martínez (2016) en plantas de *P. oocarpa* que expresa que el mejor tratamiento en cuanto a volumen de raíz a base endofíticos es el género *Fusarium* spp T15-FTD con 1.90 ml, por otra parte Dávila (2016) nos indica que a base de endofíticos en cultivo de melón los mejores resultados de volumen de raíz es el género *Fusarium,* caso contrario por Zabulón (2013) donde nos indica que el género *Trichoderma* proporciona mejor volumen a la raíz.

5.1.6 Peso fresco de raíz

Los resultados encontrado demuestran que los endofíticos tiene efecto sobre peso fresco de raíz de manera significativa en cuanto a seis tratamientos, del cual se destaca el género *Trichoderma* spp ver figura 8.

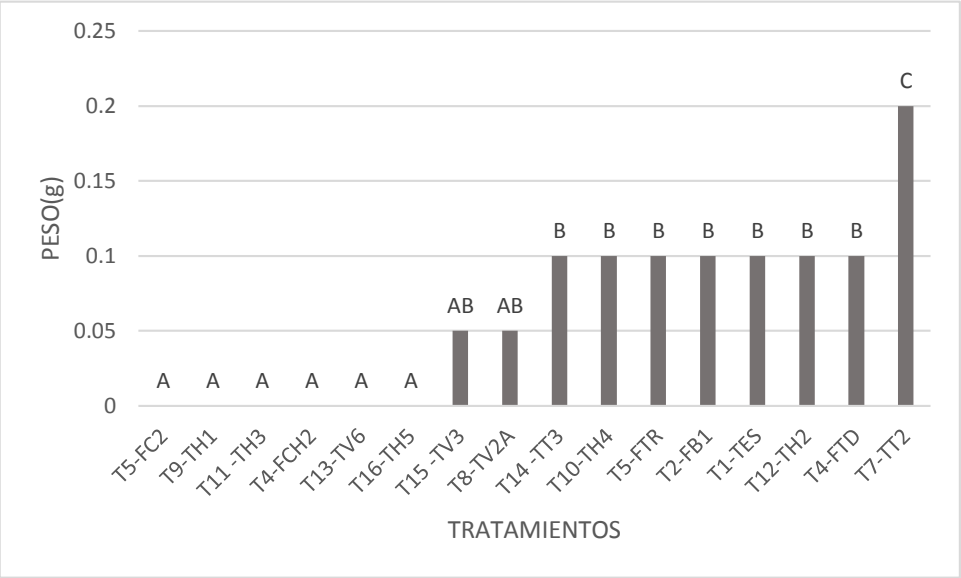


Figura 7 Gráfico de peso de raíz (g) en plantas de *P. oocarpa*.

,

Resultados obtenidos nos reflejan que el tratamiento que muestra mayor significancia en cuanto peso fresco de raíz es el género *Trichoderma* spp T7-TT2 con una media de 0.2 g, siendo diferente con el resultado encontrado por Martínez (2016) en plantas de *P. oocarpa* que expresa que el mejor tratamiento en cuanto a peso de raíz a base endofíticos es el género *Fusarium* spp T14 FTD con 1.92 g, en cambio Hernández (2016) nos indica que el mejor género en cuanto a peso de raíz es el género *Trichoderma*, por otra parte Dávila (2016) nos muestra que ambos géneros tuvieron similitud en cuanto a peso de raíz.

5.1.7 Largo de raíz

Los tratamientos evaluados sugieren que el género *Fusarium* spp tiene una superioridad en cuanto a los demás tratamientos incluyendo el testigo ver figura 9.

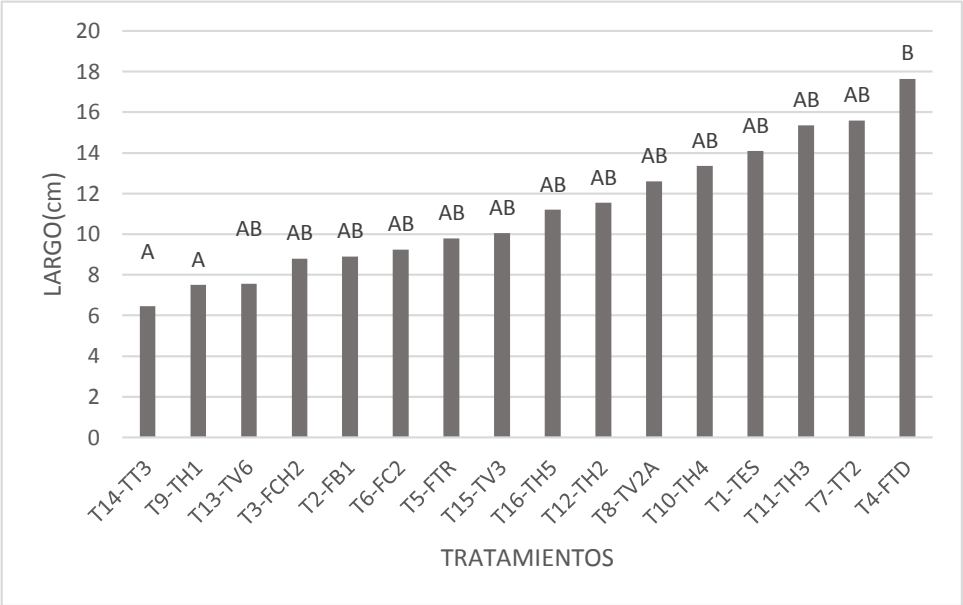


Figura 8. Gráfico de largo de raíz (cm) en plantas de *P. oocarpa*

Los diferentes tratamientos tuvieron un rango de 6.45 a 17.65 cm el tratamiento que muestra mayor significancia en cuanto largo de raíz es el género *Fusarium* spp T4 FT2 con una media de 17.65 cm, coincidiendo con el resultado encontrado por Martínez (2016) en plantas de *P. oocarpa* que expresa que el mejor tratamiento en cuanto a largo de raíz a base de endofíticos es el género *Fusarium* T13 FC2 con 33.6 cm, por otro lado Hernández (2016) menciona que el género *Trichoderma* reflejo mayo largo de raíz.

5.2 Estrés hídrico

5.2.1 Altura

Los tratamientos evaluados siendo estos sometidos a un déficit hídrico de 21 días consecutivos demuestran que el género *Trichoderma* spp tiene una superioridad en cuanto a los demás tratamientos incluyendo el testigo ver figuro 10.

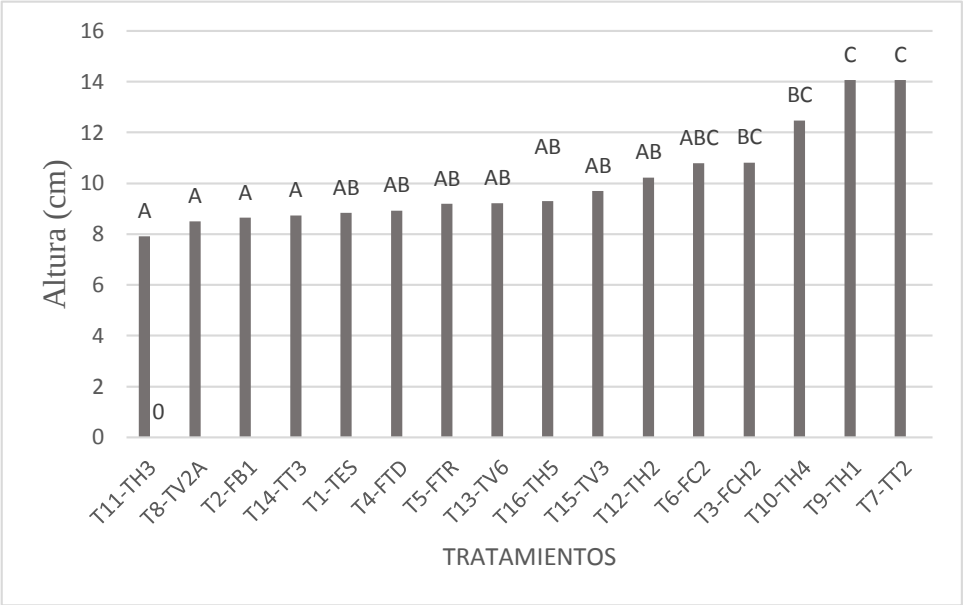


Figura 9 Gráfico de Altura en plantas de *P. oocarpa* bajo déficit hídrico

Los diferentes tratamientos tuvieron un rango de 7.92 cm a 14.07 cm el tratamiento que muestra mayor significancia en cuanto altura es el género *Trichoderma* spp T7 TT2 con una media de 14.07 cm, por otra parte estudio realizado por Arias (2013) de los cuales los resultados de esta investigación apoyan la idea que los hongos endofíticos como beneficio de la colonización muestran un mayor desarrollo sometido a déficit hídrico

5.2.2 Diámetro

Mediante los análisis obtenidos nos reflejan que el género *Trichoderma* spp, se destaca en cuanto a diámetro de las plantas de *P. oocarpa* bajo déficit hídrico ver figura 11.

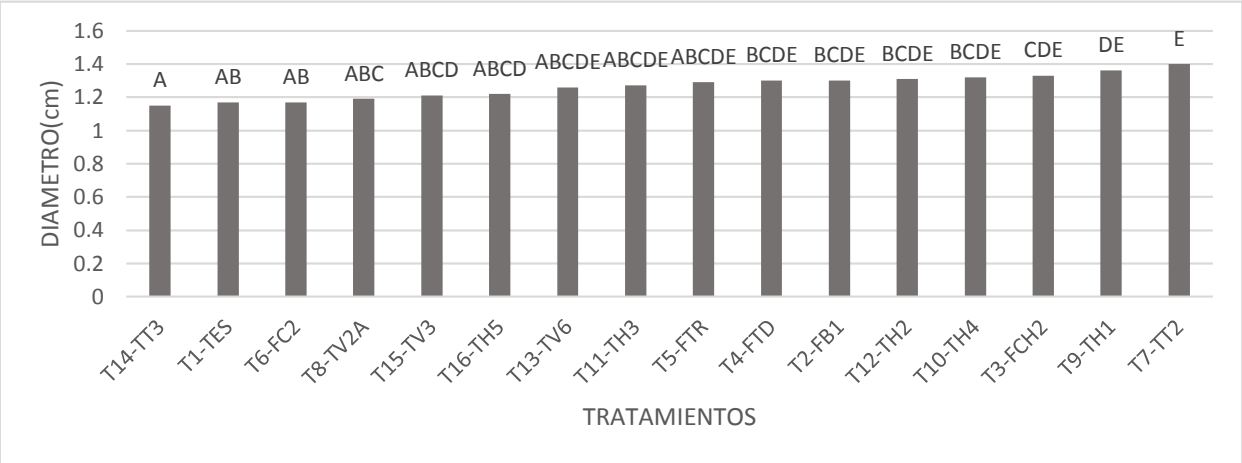


Figura 10. Gráfico de diámetro en plantas de *P. oocarpa* bajo déficit hídrico

Los diferentes tratamientos tuvieron un rango de 1.15 mm a 1.4 mm el tratamiento que muestra mayor significancia en cuanto diámetro es el género *Trichoderma* spp T7 TT2 con una media de 1.40 mm, sin embargo estudios realizado por Arias (2013) de los cuales los resultados de esta investigación apoyan la idea que los hongos endofíticos ayudan a un mejor desarrollo de diámetro.

5.2.3 Clorofila

Mediante los análisis realizados a las plantas de *P. oocarpa*, refleja que el género *Fusarium* spp tiene la mayor unidad de Spad en clorofila ver figura 12.

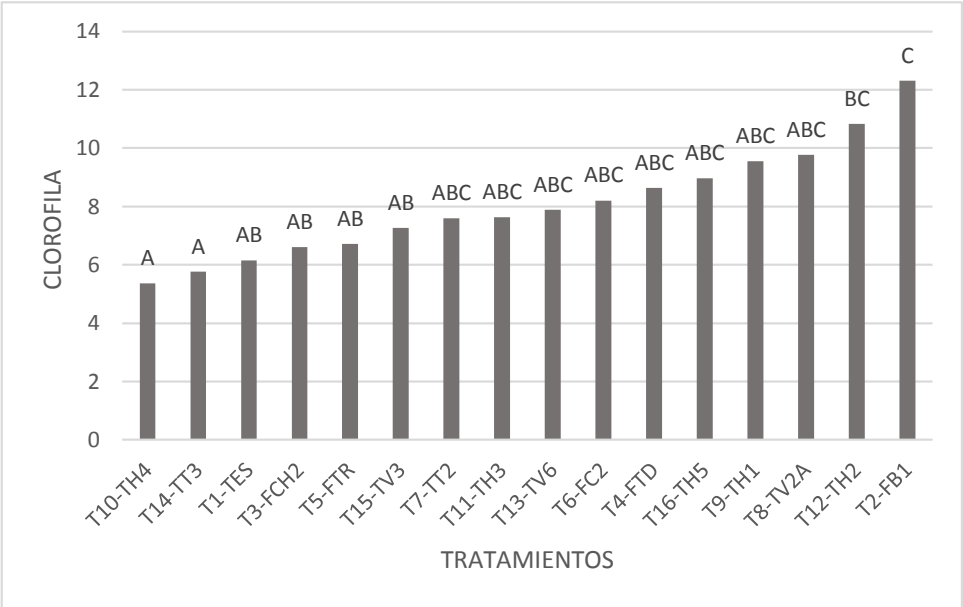


Figura 11. Gráfico de unidades Spad de clorofila en plantas de *P. oocarpa* bajo déficit hídrico.

Los resultado nos muestra que los rangos son de 5.36 a 12.3, el tratamiento que muestra mayor significancia en cuanto a la variable clorofila es el género *Fusarium* spp T2-F. B1 con una media de 12.3, cabe mencionar que estudios realizado por Arias (2013) menciona que los hongos endofíticos aun sometidos a déficit hídrico no dejan de cumplir su función como agentes de desarrollo.

VI. CONCLUSIONES

Se determinó que los hongos endofíticos por ser organismos que colonizan los tejidos internos de la planta sin causar ningún tipo de síntoma, el género que más se destaca por tener mayor porcentaje de colonización en las zonas de las raíces es el género *Trichoderma* spp de los cuales fueron los siguientes tratamientos T7-TT2, T8-T2A, T10-TH4, T16-TH5 obteniendo un 100% por cada zona.

El género *Trichoderma* spp se destaca por incidir en cuanto al desarrollo en plantas de *P. oocarpa*, proporcionando un mayor progreso en las variables evaluadas, destacándose los tratamientos T7-TT2 con 10.54 cm y T10-TH4 con 9.96 cm en la variable altura, en cuanto a la variable diámetro se destacó T16-TH5 con 1.29 mm, por otra parte quien obtuvo mayor unidad de Spad para la variable clorofila es T10-TH4 con 8.11, también en la variable volumen de raíz predominó el género Trichoderma siendo T12-TH2 con 0.4 ml en cuanto a peso fresco de raíz fue T7-TT2 con 0.2 g , a excepción de la variable largo de raíz quien el género *Fusarium* T4-FT2 con 17.65 cm

Las planta de *P. oocarpa* sometidas a déficit hídrico, mostraron que el género *Fusarium* spp incidió en cuanto a los niveles de clorofila teniendo las mayores unidades de Spad T2-FB1 con 12.3.

VII. RECOMENDACIONES.

Realizar monitoreo de la plantación en campo y a la vez dar mantenimiento a parcelas a futuro.

Al momento de elegir el sustrato se debe de tomar en cuenta la desinfección del mismo para evitar problemas futuros por contaminación.

Generar investigaciones futuras con hongos endofíticos en otras especies forestales.

Tomar en cuenta en que época del año se realizara la investigación debido a que el pino no requiere de altas cantidades de agua.

VIII BIBLIOGAFIA

Abello, J y Kelemu, S.2006. Hongos endófitos: ventajas adaptativas que habitan en el interior de las plantas. Corpoica, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Cundinamarca, Colombia. Disponible en: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=449945021006

Arias Medina, HO.2013. Estudio sobre las interacciones entre hongos endófiticos y hongos fitopatógenos de coffea arabica. Facultad de estudios superiores Zaragoza. Universidad nacional autónoma de Mexico. Mexico, D.F.

Bogan, BW. Lamar RT. 1996. Polycyclic Aromatic Hydrocarbo-Degadating Capabilities of Phanero chaetelaevis HHB-1625 and its Extracelular Ligninolytic Enzymes. Appl Environ Microbiol

Caroll, GC. 1998. The biology of Endophystism in plants with particular reference to Woody Perennials. Fokkema NJ, van den Heuvel J (eds.). microbiology of the Phyllosphere, Cambridge, Inglaterra: University Press.

Comisionado nacional de los derechos humanos (CONADEH).2016.Defensoria nacional del medio ambiente: Informe especial el gorgojo descortezador del pino y otras gaves amenazas ambientales a la vida digna de los hondureños y hondureñas. Tegucigalpa M.D.C. 79 p. Disponible en http://conadeh.hn/wp-content/uploads/2016/05/Informe-Especial-Gorgojo-del-Pino-y-Amenazas-Ambientales.pdf

Dávila Herrera, L.E.2016. Manejo del fitonematodo (*Meloidogyne incognita)* en el cultivo de melón mediante el uso de hongos endofíticos. Tesis Ing. Agrónomo. Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas, Olancho, Honduras. 65 pag.

Gamboa Gaitan, MA, 2006, Hongos Endofíticos tropicales. Conocimiento actual y perspectivas, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Bogotá, Colombia.

Hernán Chiriboga P. Gaciela Gómez B. Karla Garcés E.2015. TRICHODERMA SPP. PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES. Paraguay. Consultado el 15/07/2017, disponible en http://www.iicabr.iica.org.br/wp-content/uploads/2016/05/Trichoderma-SSP2.pdf

Hernández Lemus, J.A.2016. Endofíticos como inductores de crecimiento y resistencia a plagas en cucurbitáceas y bracicáceas contra Aphis gossipii y Plutella xylostella. Tesis Ing. Agrónomo. Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas, Olancho, Honduras.74 pg.

Jiménez Martínez, E.2005.Insectos descortezadores de pino y sus principales depredadores naturales. Universidad Nacional Agraria. Nicaragua.

Martinez, Hernandez,L;sanchez ,CH;bonifaz,A.infecciones por fusarium.Dermatol rev mex 2014;58:432-442

Martínez Ramos, K.X.2017. Hongos Endófiticos como Alternativa para el Manejo de *Dendroctonus frontalis* en *Pinus oocarpa*. Tesis Lic. Recursos Naturales y Ambiente. Universidad Nacional de Agicultura. Catacamas, Olancho, Honduras. C.A. 62 P.

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

Modernización del sector forestal de Honduras (MOSEF).2017.Analisis forestal de Honduras. Modernizacion del sector forestal de Honduras (MOSEF).2017. Consultado el 02/07/2017 disponible http://mosef.org.hn/wp-content/uploads/2017/01/Analysis-del-Sector-Forestal-_2016.pdf

Padilla G. Edgardo. 2003. Estado de la diversidad biológica de los árboles y bosques de Honduras. Documentos de Trabajo: Recursos Genéticos Forestales. FG/51S Servicio de Desarrollo de Recursos Forestales, Dirección de Recursos Forestales, FAO, Roma. (Inédito).

Rivera Rojas, M.2007.Impacto potencial del cambio climático en eventos epidémicos del gorgojo descortezador del pino *dendroctonus frontaliszimmermann (*coleoptera:Curculioinidae,scolytinae) en Honduras. Centró agronómico tropical de investigación y enseñanza (CATIE).Turrialba, Costa rica.

Rodríguez Mendoza, M.N.; Alcántar Gonzales, G.; Aguilar Santelises, A.;Etchevers Barra, J.D.; Santizó Rincón, J.A.; 1998. Estimacion de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil de clorofila. Instituto de recursos naturales, colegio de postgraduados. Montecillo, México.

Sanchez fernandez,R.E;Sanchez Ortiz,B.L;Monserrat Sandova, Y.K; Ulloa Benitez,A;Armendariz Guillen, B;Garcia Mendez, M.C;Mancias Ravalcaba, M.L. Hongos endofiticos: Fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad em agicultura y medicina,Rev Mex.,2013,16(2):132-146.

Tangarife, C, V.2011.*Fusarium* spp. Escuela de microbiología. Universidad de antoquia. Consultado el 10/09/2017 disponible en http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/mod/page/view.php?id=100813

Zimand,G, Y, Elad, and I. Chet.1996. Effect of *Trichoderma harzianum* on Botrytis cinérea pathogenicity. Phytopathology 86:pg.

ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable altura (cm) en plantas de *p. oocarpa*

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
ALTURA	320	0.19	0.15	41.01

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	657.76	15	43.85	4.62	<0.0001
TRATAMIENTO	657.76	15	43.85	4.62	<0.0001
Error	2884.03	304	9.49		
Total	3541.80	319			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=1.91665

Error: 9.4870 gl: 304

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.				
TESTIGO	5.86	20	0.69	A			
TRICHOD.HOGGE 3	6.12	20	0.69	A			
TRICHOD. TOMATE 3	6.27	20	0.69	A			
FUS. TOMATE D	6.32	20	0.69	A			
FUS. BERENJENA 1	6.35	20	0.69	A			
FUS. CHILE 2	6.35	20	0.69	A			
TRICHOD. HOGEE 5	6.48	20	0.69	A			
TRICHOD. VERNON2A	6.87	20	0.69	A	B		
TRICHOD. HOGEE 2	7.13	20	0.69	A	B	C	
TRICHOD. VERNON 3	7.18	20	0.69	A	B	C	
TRICHOD. VERNON 6	8.43	20	0.69		B	C	D
FUS. TABACO R	8.55	20	0.69		B	C	D
TRICHOD. HOGGE 1	8.85	20	0.69			C	D E
FUS. CUNDE 2	8.91	20	0.69			C	D E
TRICHOD. HOGGE 4	9.96	20	0.69				D E
TRICHOD. TOMATE 2	10.54	20	0.69				E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Anexo 2. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable Diámetro (mm) en plantas de *p. oocarpa*.

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
DIAMETRO	320	0.03	0.00	46.18

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2.28	15	0.15	0.69	0.7970
TRATAMIENTO	2.28	15	0.15	0.69	0.7970
Error	67.35	304	0.22		
Total	69.63	319			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.29289

Error: 0.2215 gl: 304

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		
TRICHOD. VERNON2A	0.92	20	0.11	A	
TRICHOD.HOGGE 3	0.93	20	0.11	A	
TRICHOD. VERNON 3	0.96	20	0.11	A	
FUS. CHILE 2	0.97	20	0.11	A	
TRICHOD. TOMATE 3	0.98	20	0.11	A	
TRICHOD. HOGEE 2	1.00	20	0.11	A	
TRICHOD. TOMATE 2	1.00	20	0.11	A	
FUS. CUNDE 2	1.00	20	0.11	A	
TESTIGO	1.01	20	0.11	A	B
FUS. BERENJENA 1	1.01	20	0.11	A	B
FUS. TOMATE D	1.01	20	0.11	A	B
FUS. TABACO R	1.02	20	0.11	A	B
TRICHOD. HOGGE 4	1.03	20	0.11	A	B
TRICHOD. VERNON 6	1.09	20	0.11	A	B
TRICHOD. HOGGE 1	1.10	20	0.11	A	B
TRICHOD. HOGEE 5	1.29	20	0.11		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes(p<= 0.05)

Anexo 3. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable clorofila (unidades spad) en plantas de *p. oocarpa.*

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
CLOROFILA	320	0.04	0.00	58.57

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	219.56	15	14.64	0.83	0.6460
TRATAMIENTO	219.56	15	14.64	0.83	0.6460
Error	5373.18	304	17.67		
Total	5592.74	319			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=2.61613

Error: 17.6749 gl: 304

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		
TESTIGO	5.24	20	0.94	A	
TRICHOD.HOGGE 3	5.32	20	0.94	A	
TRICHOD. VERNON 3	6.64	20	0.94	A	B
FUS. BERENJENA 1	6.83	20	0.94	A	B
TRICHOD. HOGGE 1	6.93	20	0.94	A	B
FUS. TOMATE D	7.10	20	0.94	A	B
TRICHOD. TOMATE 2	7.15	20	0.94	A	B
TRICHOD. HOGEE 5	7.42	20	0.94	A	B
FUS. CHILE 2	7.49	20	0.94	A	B
FUS. CUNDE 2	7.57	20	0.94	A	B
FUS. TABACO R	7.58	20	0.94	A	B
TRICHOD. VERNON2A	7.68	20	0.94	A	B
TRICHOD. HOGEE 2	7.81	20	0.94	A	B
TRICHOD. VERNON 6	7.99	20	0.94		B
TRICHOD. TOMATE 3	7.99	20	0.94		B
TRICHOD. HOGGE 4	8.11	20	0.94		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes(p<= 0.05)

Anexo 4. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable volumen de raíz (ml) en plantas de *p. oocarpa*

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
VOLUMEN	32	0.74	0.50	34.67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.24	15	0.02	3.08	0.0160
TRATAMIENTO	0.24	15	0.02	3.08	0.0160
Error	0.08	16	0.01		
Total	0.32	31			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.15135

Error: 0.0051 gl: 16

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.				
FUS. CHILE 2	0.04	2	0.05	A			
TRICHOD. HOGGE 1	0.07	2	0.05	A	B		
TRICHOD. HOGGE 4	0.16	2	0.05	A	B	C	
TRICHOD. VERNON 3	0.17	2	0.05	A	B	C	
FUS. BERENJENA 1	0.20	2	0.05		B	C	D
TRICHOD. HOGGE 5	0.20	2	0.05		B	C	D
TRICHOD. TOMATE 2	0.20	2	0.05		B	C	D
FUS. TOMATE D	0.20	2	0.05		B	C	D
FUS. TABACO R	0.20	2	0.05		B	C	D
FUS. CUNDE 2	0.20	2	0.05		B	C	D
TESTIGO	0.20	2	0.05		B	C	D
TRICHOD. TOMATE 3	0.21	2	0.05		B	C	D
TRICHOD. VERNON2A	0.21	2	0.05		B	C	D
TRICHOD. VERNON 6	0.30	2	0.05			C	D E
TRICHOD. HOGGE 3	0.35	2	0.05				D E
TRICHOD. HOGEE 2	0.40	2	0.05				E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Anexo 5. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable peso de raíz (g) en plantas de *p. oocarpa*.

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
PESO	32	0.78	0.57	69.28

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.11	15	0.01	3.73	0.0064
TRATAMIENTO	0.11	15	0.01	3.73	0.0064
Error	0.03	16	1.9E-03		
Total	0.14	31			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.09179

Error: 0.0019 gl: 16

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.			
FUS. CUNDE 2	0.00	2	0.03	A		
TRICHOD. HOGGE 1	0.00	2	0.03	A		
TRICHOD. HOGGE 3	0.00	2	0.03	A		
FUS. CHILE 2	0.00	2	0.03	A		
TRICHOD. VERNON 6	0.00	2	0.03	A		
TRICHOD. HOGGE 5	0.00	2	0.03	A		
TRICHOD. VERNON 3	0.05	2	0.03	A	B	
TRICHOD. VERNON2A	0.05	2	0.03	A	B	
TRICHOD. TOMATE 3	0.10	2	0.03		B	
TRICHOD. HOGGE 4	0.10	2	0.03		B	
FUS. TABACO R	0.10	2	0.03		B	
FUS. BERENJENA 1	0.10	2	0.03		B	
TESTIGO	0.10	2	0.03		B	
TRICHOD. HOGEE 2	0.10	2	0.03		B	
FUS. TOMATE D	0.10	2	0.03		B	
TRICHOD. TOMATE 2	0.20	2	0.03			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes(p<= 0.05)

Anexo 6. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable Largo de raíz (cm) en plantas de *p. oocarpa.*

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
LARGO	32	0.47	0.00	42.49

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	321.97	15	21.46	0.94	0.5432
TRATAMIENTO	321.97	15	21.46	0.94	0.5432
Error	364.28	16	22.77		
Total	686.25	31			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=10.11521

Error: 22.7676 gl: 16

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.		
TRICHOD. TOMATE 3	6.45	2	3.37	A	
TRICHOD. HOGGE 1	7.50	2	3.37	A	
TRICHOD. VERNON 6	7.55	2	3.37	A	B
FUS. CHILE 2	8.80	2	3.37	A	B
FUS. BERENJENA 1	8.90	2	3.37	A	B
FUS. CUNDE 2	9.25	2	3.37	A	B
FUS. TABACO R	9.80	2	3.37	A	B
TRICHOD. VERNON 3	10.05	2	3.37	A	B
TRICHOD. HOGGE 5	11.20	2	3.37	A	B
TRICHOD. HOGEE 2	11.54	2	3.37	A	B
TRICHOD. VERNON2A	12.60	2	3.37	A	B
TRICHOD. HOGGE 4	13.35	2	3.37	A	B
TESTIGO	14.10	2	3.37	A	B
TRICHOD. HOGGE 3	15.35	2	3.37	A	B
TRICHOD. TOMATE 2	15.60	2	3.37	A	B
FUS. TOMATE D	17.65	2	3.37		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Anexo 7. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable altura en plantas de *p. oocarpa* sometidas a déficit hídrico

.

Análisis de la varianza

Variable	N	R²	R² Aj	CV
ALTURA	64	0.40	0.22	25.76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	219.04	15	14.60	2.16	0.0221
TRATAMIENTO	219.04	15	14.60	2.16	0.0221
Error	323.98	48	6.75		
Total	543.02	63			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=3.69365

Error: 6.7496 gl: 48

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.			
TRICHOD.HOGGE 3	7.92	4	1.30	A		
TRICHOD. VERNON2A	8.50	4	1.30	A		
FUS. BERENJENA 1	8.64	4	1.30	A		
TRICHOD. TOMATE 3	8.74	4	1.30	A		
TESTIGO	8.83	4	1.30	A	B	
FUS. TOMATE D	8.93	4	1.30	A	B	
FUS. TABACO R	9.19	4	1.30	A	B	
TRICHOD. VERNON 6	9.21	4	1.30	A	B	
TRICHOD. HOGEE 5	9.29	4	1.30	A	B	
TRICHOD. VERNON 3	9.70	4	1.30	A	B	
TRICHOD. HOGEE 2	10.23	4	1.30	A	B	
FUS. CUNDE 2	10.79	4	1.30	A	B	C
FUS. CHILE 2	10.82	4	1.30	A	B	C
TRICHOD. HOGGE 4	12.47	4	1.30		B	C
TRICHOD. HOGGE 1	14.07	4	1.30			C
TRICHOD. TOMATE 2	14.07	4	1.30			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Anexo 8. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable Diámetro (mm) en plantas de *p. oocarpa* sometidas a déficit hídrico

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
DIAMETRO	64	0.37	0.17	8.73

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0.35	15	0.02	1.88	0.0494
TRATAMIENTO	0.35	15	0.02	1.88	0.0494
Error	0.59	48	0.01		
Total	0.93	63			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.15716

Error: 0.0122 gl: 48

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.				
TRICHOD. TOMATE 3	1.15	4	0.06	A			
TESTIGO	1.17	4	0.06	A	B		
FUS. CUNDE 2	1.17	4	0.06	A	B		
TRICHOD. VERNON2A	1.19	4	0.06	A	B	C	
TRICHOD. VERNON 3	1.21	4	0.06	A	B	C	D
TRICHOD. HOGEE 5	1.22	4	0.06	A	B	C	D
TRICHOD. VERNON 6	1.27	4	0.06	A	B	C	D E
TRICHOD.HOGGE 3	1.27	4	0.06	A	B	C	D E
FUS. TABACO R	1.30	4	0.06	A	B	C	D E
FUS. TOMATE D	1.30	4	0.06		B	C	D E
FUS. BERENJENA 1	1.31	4	0.06		B	C	D E
FUS. CHILE 2	1.32	4	0.06		B	C	D E
TRICHOD. HOGGE 4	1.32	4	0.06		B	C	D E
TRICHOD. HOGEE 2	1.33	4	0.06			C	D E
TRICHOD. HOGGE 1	1.37	4	0.06				D E
TRICHOD. TOMATE 2	1.40	4	0.06				E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Anexo 9. Análisis de varianza y pruebas de medias LSD FISHER de la variable clorofila (unidades spad) en plantas de *p. oocarpa* sometidas a déficit hídrico

Análisis de la varianza

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
CLOROFILA	64	0.27	0.04	42.79

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	212.52	15	14.17	1.19	0.3133
TRATAMIENTO	212.52	15	14.17	1.19	0.3133
Error	572.68	48	11.93		
Total	785.20	63			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=4.91081

Error: 11.9308 gl: 48

TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.			
TRICHOD. HOGGE 4	5.36	4	1.73	A		
TRICHOD. TOMATE 3	5.76	4	1.73	A		
TESTIGO	6.15	4	1.73	A	B	
FUS. CHILE 2	6.60	4	1.73	A	B	
FUS. TABACO R	6.71	4	1.73	A	B	
TRICHOD. VERNON 3	7.26	4	1.73	A	B	
TRICHOD. TOMATE 2	7.60	4	1.73	A	B	C
TRICHOD.HOGGE 3	7.63	4	1.73	A	B	C
TRICHOD. VERNON 6	7.88	4	1.73	A	B	C
FUS. CUNDE 2	8.20	4	1.73	A	B	C
FUS. TOMATE D	8.63	4	1.73	A	B	C
TRICHOD. HOGEE 5	8.97	4	1.73	A	B	C
TRICHOD. HOGGE 1	9.55	4	1.73	A	B	C
TRICHOD. VERNON2A	9.76	4	1.73	A	B	C
TRICHOD. HOGEE 2	10.82	4	1.73		B	C
FUS. BERENJENA 1	12.30	4	1.73			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0.05)

Anexo 10. Tratamientos utilizados

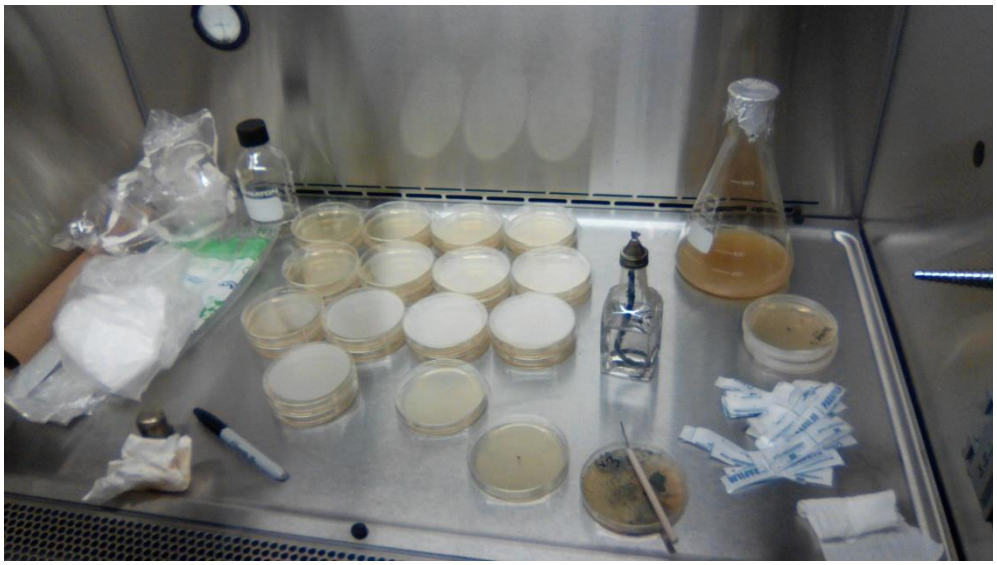
Tratamiento	Descripción	Nomenclatura
T1	Testigo	T1-Tes
T2	Fusarium Berenjena 1	T2-FB1
T3	Fusarium Chile 2	T3-FCH2
T4	Fusarium Tomate D	T4-FTD
T5	Fusarium Tabaco R	T5-FTR
T6	Fusarium Cunde 2	T6-FC2
T7	Trichoderma Tomate 2	T7-TT2
T8	Trichoderma Vernon 2A	T8-TV2A
T9	Trichoderma Hogge 1	T9-TH1
T10	Trichoderma Hogge 4	T10-TH4
T11	Trichoderma Hogge 3	T11-TH3
T12	Trichoderma Hogge 2	T12-TH2
T13	Trichoderma Vernon 6	T13-TV6
T14	Trichoderma Tomate 3	T14-TT3
T15	Trichoderma Vernon 3	T15-TV3
T16	Trichoderma Hogge5	T16-TH5

Anexo 11 Identificación del área afectada por *D. frontalis* en la comunidad den San José de Vallecito.





Anexo 12 Reproducción de hongos endofíticos en placas Petrí.



Anexo 13 Reproducción de hongos endofíticos en arroz



Anexo 14 Plantas de *P. oocarpa* en vivero forestal de la Universidad Nacional de Agricultura

