

## Efecto de la inoculación de dos tipos de semilla de bananos con dos aislados de *Trichoderma atroviride* en fase de vivero sobre el desarrollo de las plantas en campo bajo Sigatoka Negra

Effect of inoculation of two types of banana seed with two isolate of *Trichoderma atroviride* on plants performance on field under Black Sigatoka

**Claudia JIMÉNEZ<sup>1</sup>, Alba Stella RIVERO<sup>2</sup>, Luis Eduardo POCASANGRE<sup>3</sup>, Eduardo DELGADO<sup>1</sup>, Franklin E. ROSALES<sup>4</sup>, Oscar GONZÁLEZ<sup>1</sup> y Dimas ROMERO<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas INIA-Barinas. Apto 170, Barinas estado Barinas, Venezuela,

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Universidad de Tolima, Ibagué, Tolima, Colombia – Convenio CATIE-Utolima c/o 7170 Turrialba, Costa Rica, <sup>3</sup>Bioversity International Costa Rica, c/o 7170 Turrialba, Costa Rica y <sup>4</sup>Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria, FONTAGRO

E-mails: clauji14@hotmail.com, cjimenez@iniagob.ve, asrivero@catie.ac.cr, l.pocasangre@cgiar.org, edelgado@inia.gob.ve y delgado\_ed8@hotmail.com ✉ Autor para correspondencia

Recibido: 30/04/2008

Primera revisión recibida: 22/09/2009

Fin de primer arbitraje: 19/03/2009

Aceptado: 15/12/2009

### RESUMEN

La Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) ocasiona enormes perdidas en la producción de banano. El uso de fungicidas ha sido el control más eficiente de esta enfermedad foliar. El desarrollo de estrategias innovadoras dirigidas a disminuir la dependencia del control químico convencional, es un desafío permanente, en una agricultura sostenible y respetuosa del ambiente. El objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto de protección de dos tipos de material de siembra (cormo y vitroplantas) de banano inoculadas con dos hongos endofíticos “promisorios” sobre la incidencia y severidad de la Sigatoka negra en el campo. La investigación se llevo a cabo en la finca de un productor en el Municipio Obispo, Barinas. Se utilizó un diseño de bloques al azar, 3 repeticiones, 4 tratamientos y 36 plantas por unidad experimental. Se utilizaron cormos y vitroplantas de banano (cv. Gran Enano), inoculados con cepas de *Trichoderma atroviride* (E1 y E2) separadamente. Se evaluó la incidencia y severidad de la Sigatoka negra empleando las escalas de Fouré (1985) y Gauhl (1989), siguiendo metodología de Marín y Romero (1998). Durante todo el periodo vegetativo se registraron las siguientes variables: estado de evolución (EE), ritmo de emisión foliar (REF), total de hojas (TH), hoja más joven enferma (HMJE) e índice de infección (IND). A floración, se registro una sola lectura para las variables THF, HMJEF e INDF, además de las variables fenológicas: días de siembra a floración (DSF), altura de la planta a floración (APF) y circunferencia del pseudotallo a floración (CSF). Aunque no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, con el E1 se observaron los menores valores de IND, INDF, HMJE y los mejores valores de TH y REF con más de 16%, en ambas variables, por encima del testigo.

**Palabras clave:** Hongos endofíticos, *Trichoderma atroviride*, protección de plantas, Banano, Sigatoka Negra

### ABSTRACT

Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) causes important losses to banana production. Use of fungicides has been the most efficient control to this foliar disease. The development of innovative strategies to diminish conventional chemical control dependency is a permanent challenge for a sustainable and environmentally respectful agriculture. The objective of this research was to evaluate mutualist endophytic fungi to control black Sigatoka in the field. The experiment was established on a farm in Obispo, County in Barinas. A randomized complete block design was arranged with four treatment and 30 plants as experimental unit. Banana (cv. Grand Naine) vitro plants and corms inoculated separately with *Trichoderma atroviride* strains (E1 and E2) were utilized. Black Sigatoka severity and incidence were evaluated using Fouré (1985) and Gauhl (1989) scales and following Marín and Romero (1998) methodology. During the vegetative period, the following variables were recorded: evolution state (ES), foliar emission rhythm (RER), total leaves (TL), youngest diseased leaf (YDL) and infection index (IND). At flowering, only one reading was done for TLF, YDLF and INDF, along with the following phenological variables: period from planting to flowering (PPF), plant height at flowering (PHF) and pseudostem circumference to flowering (PCF). Although there were no significant differences within treatment observed, E1 shows the lowest values on IND, INDF y HMJE and the best values on TH and REF with over 16% in both variables above the witness.

**Key words:** Endophytic fungi, *Trichoderma atroviride*, plant protection, banana, black Sigatoka

## INTRODUCCIÓN

La problemática fitosanitaria en banano, se expresa principalmente en la enfermedad foliar Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*), Moko (*Ralstonia solanacearum*), virus del mosaico del pepino (CMV) y virus del rayado (*Metamasius hemipterus*) y en plagas, los nematodos fitopatógenos (*Radopholus similis*, *Pratylenchus* sp, *Helycotylenchus* y *Meloidogyne* sp), picudo negro (*Cosmopolites sordidus*), picudo rayado (*Metamasius hemipterus*), gusano tornillo (*Castniomera humboldti*). El énfasis mayor esta dado por las plagas que afectan el sistema radicular y al follaje, las cuales crean una inseguridad en el éxito del cultivo afectando sensiblemente la economía de los productores (Martínez, 1996).

En el caso de los hongos, la Sigatoka negra causada por *M. fijiensis*, es considerada la enfermedad foliar más limitante y destructiva a nivel mundial. Esta enfermedad causa destrucción paulatina del área foliar, acompañada de una fuerte necrosis, afectando el proceso fotosintético, haciendo que la planta llegue a la floración con un reducido número de hojas funcionales, perjudicando el eficiente llenado de frutos y acelerando el proceso de maduración de la fruta, lo que genera grandes pérdidas económicas en la fase de comercialización (Guzmán, 2006; Marín y Romero, 1998).

Para Sigatoka negra el control químico y la selección de plantas resistentes han sido las estrategias implementadas. Sin embargo los químicos pueden contaminar el ambiente y los pequeños productores les es imposible pagar el alto costo de estos productos y los consumidores están muy preocupados sobre los efectos de los plaguicidas en los productos agrícolas (Henríquez *et al.*, 1997). Esto crea la necesidad de investigar nuevas alternativas de control con un enfoque preventivo, utilizando microorganismos endofíticos y extractos botánicos eficientes que en su rol como protectante del material de siembra que indirectamente puedan inducir resistencia, no solamente contra nematodos, sino también en forma sistémica contra Sigatoka negra.

Los daños causados por nematodos fitoparasitarios son variables y están influenciados por factores bióticos y abióticos (Norton, 1978). En altas infestaciones de nematodos como *R. similis* y *Pratylenchus* spp reducen la absorción de agua y nutrientes, se deteriora el anclaje de la planta y se

producen racimos de poco peso, se incrementa el periodo de siembra a floración, de floración a cosecha y reduce la longevidad de la plantación (Hutton y Chung, 1973; Decker *et al.*, 1973). En Venezuela los siguientes estudios dan una idea de la importancia de los nematodos con relación al daño y su ocurrencia (Yepez *et al.*, 1972; Petit, 1990; Crozzoli *et al.*, 1993; Montiel *et al.*, 1997; Suarez y Rosales, 1998). Tradicionalmente el control químico ha sido lo más utilizado para el manejo y estudios han revelado aumentos en la producción y extensión de la vida útil de las plantaciones (Delgado y Paiva, 2001).

Los hongos endofíticos Se caracterizan por colonizar los tejidos u órganos internos de una planta sin causar ningún tipo de síntomas; asimismo, aquellos que le confiere una protección a la planta hospedera contra el ataque de agentes abióticos se les denomina hongos endofíticos mutualistas (Latch *et al.*, 1985; Carroll, 1990). Los hongos endofíticos son mutualistas si: (i) no causan síntomas de enfermedad en la planta hospedera; (ii) son transmitidos a través de las semillas, cuando esto no ocurre, éstos deberán transmitirse lateralmente, de planta adulta a otra; (iii) esta disperso a través de los tejidos del hospedero; (iv) colonizan y se extienden en un hospedero definido y (v) producen metabolitos secundarios como modo de acción de antibiosis o de naturaleza tóxica (Meneses, 2003). Existen 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 letal hacia patógenos de la plantas y (c) mediante un mutualismo inducido, que envuelve una simbiosis menos precisa o más difusa entre el hospedero y el endofítico (Clay, 1998).

Existen diversas especies de hongos endofíticos benéficos, entre ellos se encuentra el género *Trichoderma*, utilizado en los últimos años como agente para el control de numerosas enfermedades en plantas (Howell, 2003; 2002). Este género esta integrado por un gran número de cepas que actúan como agentes de control biológico y cuyas propiedades antagónicas se basan en la activación de mecanismos muy diversos, en donde pueden ejercer el biocontrol de hongos fitopatógenos indirectamente, compitiendo por el espacio y los nutrientes, modificando las condiciones ambientales, estimulando el crecimiento de las plantas y sus mecanismos de defensa o produciendo antibióticos;

sin dejar a un lado el control directo mediante micoparasitismo. Estos mecanismos pueden actuar de forma coordinada y su importancia en los procesos de biocontrol depende de la cepa de *Trichoderma*, del hongo al que antagoniza, del tipo de cultivo y de las condiciones ambientales tales como la disponibilidad de nutrientes, el pH, la temperatura o la concentración de hierro. La activación de cada uno de los mecanismos implica la producción de metabolitos y compuestos específicos tales como factores de crecimiento de plantas, enzimas hidrolíticas, sideróforos, antibióticos y permeadas de carbono y nitrógeno. Estos metabolitos pueden sobreexpresarse o combinarse con cepas de biocontrol apropiadas, a fin de obtener nuevas formulaciones que puedan ser más eficaces en el control de enfermedades de plantas y en la protección de frutos postcosecha (Benítez *et al.*, 2004).

El micoparasitismo y/o antibiosis como mecanismo de acción de las especies de *Trichoderma*, por ejemplo, Howell and Stipanovic (1983), aislaron y describieron un nuevo antibiótico denominado glovirin, desde *Trichoderma virens*, que fue fuertemente inhibitorio para *Pythium ultimum* y especies de *Phytophthora*. En cuanto a la competencia en la rizosfera, se tiene la producción de enzimas tales como quitinasas, glucanasas por parte de agentes biocontrol, las cuales rompen los polisacáridos, las quitinas y los beta-glucanos que son los responsables de darle rigidez a la pared celular y, de este modo destruir degradando la pared y producir la muerte del hongo patogénico (Baek *et al.*, 1999). Elad and Kapat (1999), sugieren en sus estudios que el biocontrol de *T. harzianum* contra *B. cinerea* podría ser debido, en parte a la producción de proteasas que inactivan las enzimas hidrolíticas producidas por *B. cinerea* sobre las hojas del frijol. Las proteasas rompen las cadenas peptídicas o los constituyentes aminoácidos de las enzimas hidrolíticas y por lo tanto, destruye su capacidad de actuar sobre las células de la planta.

Por otro lado, la inducción de resistencia en la planta huésped, es una de las propuestas para explicar otra forma de acción de las especies de *Trichoderma*. Yedidia *et al.* (1999), demostró que raíces inoculadas con *T. harzianum* inicio una respuesta de defensa en la plántulas de pepino, tanto en las raíces como en las hojas, esta respuesta fue marcada debido al incremento de la actividad de peroxidasas (con frecuencia asociada a la producción de compuestos fungitóxicos), además, de un aumento en la actividad

de quitinasas, y la formación de aposiciones sobre la superficie interna de la pared celular; un aumento en la actividad de las enzimas fue observado tanto en las raíces como en las hojas, a su vez este autor mostró que la inoculación de raíces con *T. harzianum* induce la activación de una serie de proteínas relacionadas con la patogenicidad, incluyendo un número de enzimas hidrolíticas.

Howell (2003), resalta que los mecanismos de acción en cuanto a la producción antibiosis y enzimas por parte de especies de *Trichoderma* esta fuertemente influenciado por el sustrato sobre el cual los hongos crecen y las condiciones ambientales como la temperatura, a su vez la presencia de otros miembros en la microflora del suelo también podría influir en la actividad del biocontrol por inhibición del crecimiento y desarrollo de este o en el metabolismo de enzimas y /o antibióticos, es posible que esto no afecte completamente al agente biocontrolador, pero, si puede limitar su eficacia. En cuanto a los tipos de mecanismo de control estos dependen tanto del agente, el patógeno como del huésped, a su vez que todos estos están influenciados por la temperatura, humedad, tipo de suelo, pH, genotipo de la planta, microhabitat y obviamente, de los otros miembros de la microflora. Por consiguiente, definir biocontrol implica múltiples interacciones bajo diferentes mecanismos que trabajan sinérgicamente para lograr el eficiente control de la enfermedad en el cultivo en cuestión.

En este sentido el objetivo de esta investigación es contribuir a mejorar la producción de banano, mediante la evaluación del efecto potencial de hongos endofíticos para el control de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del ensayo

El ensayo de banano fue establecido en una finca de un productor cooperante; José Mencías, la misma esta ubicada en el sector El Jobal carretera Barinas-Obispo, Barinas estado Barinas, Venezuela, localizada a 08°32'591" latitud Norte, 70°08'809" latitud Oeste, a una altura de 183 m.s.n.m. La zona presentó para el año 2005 una precipitación anual de 1377,7 mm, temperatura promedio de 27,5 °C y humedad relativa promedio de 73% y para el año 2006 una precipitación de 1374,7 mm, temperatura promedio de 27,3 °C y humedad relativa promedio 73,1%.

## Material de siembra

Se utilizó el cultivar de banano “Gran Enano” (AAA), fueron empleados dos tipos de semillas.

### Vitroplantas

Plántulas provenientes de cultivo *in vitro* en fase IV de endurecimiento, adquiridas desde un laboratorio comercial que garantiza la calidad y sanidad del material.

### Cormos

Provenientes de hijos de espada de plantas madre sanas y vigorosas, procedentes de la misma plantación del productor. Con el fin de no afectar el punto de crecimiento o meristemo apical, a la semilla se le dejó de 3-5 cm de seudotallo.

## Hongos Endofíticos (HE) biocontroladores

Se utilizaron hongos endofíticos que pertenecen a dos cepas de *Trichoderma atroviride* que denominaremos en lo sucesivo Endofítico uno (E1) y Endofítico dos (E2), suministrados por el laboratorio de Nematología del Centro de Agricultura Tropical de Investigación y Educación (CATIE), Costa Rica. Estas cepas de HE han sido clasificadas como promisorios por su capacidad biocontroladora contra nematodos, en especial *Radopholus similis*. Los cultivos madres de estos hongos endofíticos, sirvieron de base para la realización de subcultivos (medio PDA) en la preparación de suspensión de conidios.

## Descripción de los tratamientos

Los tratamientos estaban constituidos por la combinación de tres factores: tipos de material de siembra (cormo y vitroplantas); tratamientos a nivel radical: hongo Endofítico uno, (E1), hongo Endofítico dos (E2), Químico (Q) y Testigo (T). El tratamiento químico consistió en la aplicación del nematicida de uso local al momento de la siembra, a la floración y en la dosis recomendada (Cuadro 1).

## Diseño del Experimento

El diseño de experimento fue un bloque al azar con 3 repeticiones y cada unidad experimental estuvo constituida por 30 plantas. En el ensayo los tratamientos estaban separados por una hilera de bordura. Este diseño permite suficientes grados de

libertad (Cuadro 2) para el error experimental y permite suficientes repeticiones efectivas para ambos factores: 12 para tipos de semilla ( $4 \times 3 = 12$ ) y 6 para tratamientos ( $2 \times 3$ ). El análisis estadístico fue un análisis de la varianza con el apoyo del sistema de análisis estadístico SAS.

## Preparación de la suspensión de esporas

Cultivos de hongos con diez días de crecimiento en medio de cultivo PDA, fueron utilizados para la preparación de la suspensión de esporas. A estos cultivos esporulados se les adiciono 25 ml de agua destilada y con ayuda de una asa, se desprendió el micelio del hongo. Esta solución fue ajustada, mediante un hematocímetro de Neubauer a la concentración de  $1 \times 10^6$  UFC/ml.

## Preparación de las semillas e inoculación de las plantas con hongos endofíticos

Se utilizaron microcormos de banano de 200 a 300 gramos de peso, los cuales fueron mondados e inoculados por cinco minutos en la suspensión de esporas ( $1.5 \times 10^6$  UFC/ml) correspondiente a E1 o E2, en función del tratamiento. Posteriormente, se sembraron en bolsas plásticas conteniendo sustrato tierra y arena (1:2) y llevados a aclimatación en vivero cubierto con un sarán de 60% de polisombra, donde fueron mantenidos durante un periodo de 5

Cuadro 1. Tratamientos resultantes de la combinación de semilla por tratamientos de endofíticos.

Semilla	Tratamientos de nematodos			
	E1	E2	Q	T
Cormo (C)	CE1	CE2	CQ	CT
Vitroplanta (V)	VE1	VE2	VQ	VT

E1: endofítico uno; E2: endofítico dos; Q: tratamiento químico; T: testigo; CE1: endofítico uno en cormo; CE2: endofíticos dos en cormo; VE1: endofíticos uno en vitroplantas; VE2: endofíticos dos en vitroplantas.

Cuadro 2. Fuente de variación y grados de libertad para el análisis de varianza.

Fuente de Variación	Grados de libertad
Repeticiones	2
Tipos de semilla	1
Tratamiento de control	3
Tipos x Tratamiento	3
Error Experimental	14
Total	23

meses; hasta que las plantas alcanzaron 5 hojas verdaderas, antes de la siembra definitiva en campo. Este período de aclimatación permitió el establecimiento y colonización de los hongos endofíticos en el sistema radical de la planta y aseguro el desarrollo óptimo de los materiales.

### Preparación del terreno y labores agrícolas

Se seleccionó un terreno plano con buen drenaje y se procedió, de acuerdo con el diseño de bloques y parcelas, a realizar el rayado, estaquillado, ahoyado y siembra de las unidades experimentales. En cuanto al sistema de siembra, la disposición de las plantas en el terreno se hizo en rectángulo con 2.0 m entre plantas de fila y 2.5 m entre calles, para un total de 64 plantas por parcela, con una densidad de 2.500 plantas/ha. Se aseguro que la ubicación de las parcelas permitiera recibir inóculo natural de *M. fijiensis* desde parcelas infectadas cercanas.

La fertilización se realizó en función del análisis físico-químico del suelo, utilizando el programa de fertilización foliar y edáfica recomendada por el grupo de Musáceas de INIA. Se realizaron prácticas culturales como: deshijo, deshoja sanitaria (despunte, deslaminado o cirugía) en función de las condiciones ambientales. Las cuales fueron iniciadas a partir del cuarto mes de siembra en campo (Cuadro 3).

### Evaluación de la Sigatoka negra

Para efectos de evaluación de la protección o inducción de resistencia contra la Sigatoka negra, cada semana se evaluó (durante el periodo vegetativo) el estado de evolución de la enfermedad en las hojas II, III y IV atendiendo la escala de síntomas de Fouré (1985) en las cuatro plantas de cada uno de los tratamientos. La severidad de la enfermedad, se evaluó en las mismas cuatro plantas por tratamiento cada dos semanas, mediante la escala de Stover modificada por Gauhl (1989) durante el crecimiento vegetativo y una sola lectura fue realizada al momento de la floración.

Cuadro 3. Fertilización aplicada en los ensayos de banano en campo (1<sup>er</sup> ciclo).

Cantidad (g/planta)	Fertilizante	Fecha de aplicación
500	Compost	Día de siembra
250	Urea	1 mes en campo
500	Compost	3 meses en campo
300	Nitrato de potasio	7 meses en campo

Las siguientes variables fueron registradas al mismo tiempo de la evaluación de la severidad:

#### Total de hojas (TH)

Es el número de hojas de la planta en el momento de la evaluación, sin considerar hojas agobiadas, secas o senescentes.

#### Hoja más joven enferma (HMJE)

Es la hoja más joven en presentar la mancha en estado 6 (Fouré 1985), que corresponde a una mancha con halo amarillento y el centro seco de color grisáceo. Los datos recolectados para la evaluación de las variables de infección de la Sigatoka negra se complementaron con el uso de la metodología sugerida por Marín y Romero (1998), los cuales integra información de datos sobre Emisión Foliar pasada y actual, para el cálculo de Ritmo de Emisión Foliar (REF), Corrección Candela (CC), Coeficiente de la Enfermedad (CE), Suma Bruta (SB) y Estado de Evolución (EE). Se obtuvo el Índice de Infección (IND) a partir de la información recolectada con la escala de Gauhl. Desde la estación agrometeorológica del INIA, se registraron las variables más estrechamente relacionadas con la epidemiología de la Sigatoka negra, tales como: temperatura, humedad relativa y precipitación el tiempo que duro el experimento.

### Variables fenológicas y de producción para los experimentos

Estas variables fueron tomadas en las mismas cuatro plantas que fueron evaluadas desde el inicio del estudio: días de siembra a floración (DSF), altura de la planta a floración (APF) medida desde el suelo hasta la intersección del pedúnculo de la inflorescencia con la última hoja emitida y la circunferencia del pseudotallo a la floración (CPF) tomado en la planta justo a la altura de un metro del suelo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto de la aplicación de hongos endofíticos sobre la incidencia y severidad de la Sigatoka negra en banano

Los hongos endofíticos fueron inoculados a las semillas en vivero, posteriormente estas plántulas fueron llevadas a campo 5 meses después, de acuerdo

con el diseño de experimento indicado. Se realizaron las evaluaciones correspondientes a incidencia y severidad según lo indicado en la metodología. Los resultados estadísticos revelan que no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las variables evaluadas durante la fase vegetativa del cultivo ni para la fase de floración: Estado de Evolución de la enfermedad (EE), Ritmo de Emisión Foliar (REF), Índice de Infección (IND), Hoja Más Joven Enferma (HMJE) y número Total de Hojas (TH).

En la Figura 1 se puede observar el comportamiento homogéneo a través del tiempo de los tratamientos radicales sobre las variables antes mencionadas, comportamiento que indica que no hubo un efecto significativo sobre el crecimiento de las plantas ni sobre la protección contra Sigatoka negra. Sin embargo, el tratamiento E2 en el tiempo logro disminuir el IND (Figura 1a), lo que indica un efecto de control de la Sigatoka negra, no así con la HMJE (Figura 1b), pero sí una ligera tendencia a mayor TH (Figura 1c) y con E1 se observó una tendencia del mejor valor de REF (Figura 1d). La menor área bajo la curva de progreso de la enfermedad fue menor en T.

### Evaluación de variables fenológicas y de cosecha para el análisis de Sigatoka negra

Las variables fenológicas evaluadas a floración fueron las siguientes: Días de Siembra a Floración (PSF), Altura de la Planta (APF) medido desde el suelo hasta la intersección del pedúnculo de la inflorescencia y la última hoja emitida, circunferencia de pseudotallo a 100 cm de altura del suelo (CPF). Los resultados estadísticos indican que solo encontraron diferencias significativas en la Altura a Floración (AF) a nivel de tipo de semilla, donde las vitroplantas presentaron mayor altura que

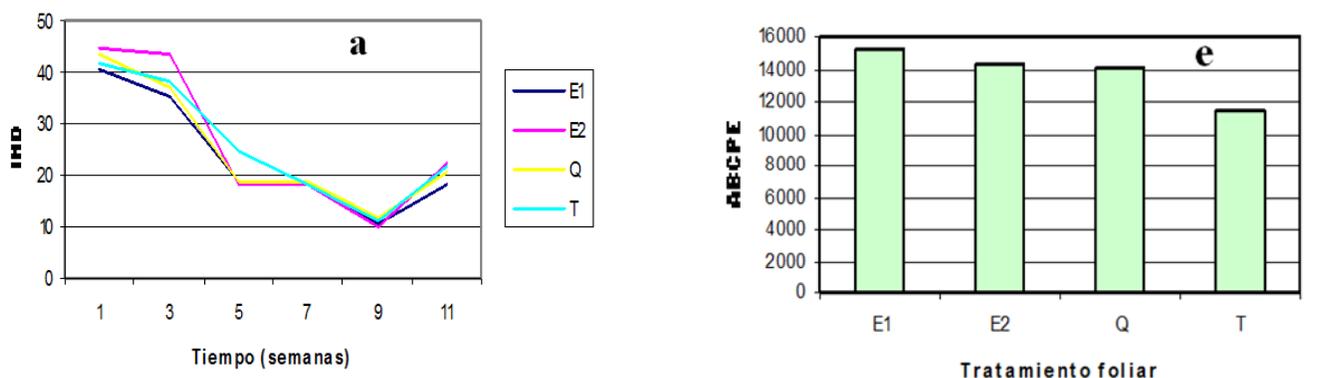


Figura 1. Comportamiento a través del tiempo de los tratamientos radicales (E1: endofítico 1; E2: endofítico 2; Q: químico y T: testigo) sobre las variables: a) Índice de infección (IND); b) Hoja más joven enferma (HMJE); c) Número total de hojas (TH); d) ritmo de emisión foliar (REF); e) efecto de los tratamientos radicales sobre el estado de evolución de la enfermedad (EE).

las plantas provenientes de cormos (Figura 2).

En el cuadro 4 se presenta un resumen de la significancia y las tendencias de los resultados en todas las variables evaluadas en las diferentes etapas: fase vegetativa, severidad a floración, variables fenológicas y cosecha.

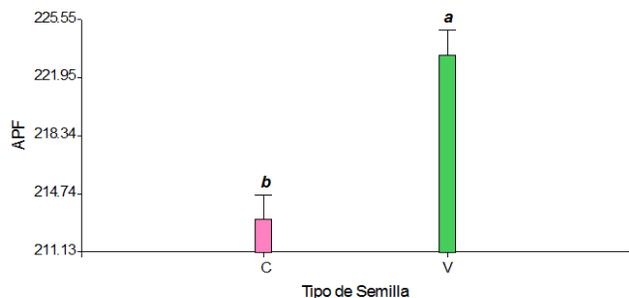


Figura 2. Efecto de los diferentes tipos semillas sobre la altura de las plantas (APF).

En relación a los tratamientos radicales, aunque no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las variables evaluadas, la tendencia fue encontrar los mejores resultados con el tratamiento E1 seguido de Q en la fase vegetativa y E2 en severidad a floración, variables fenológicas y cosecha.

### Banano 2<sup>do</sup> ciclo banano

#### Efecto de la aplicación de los hongos endofíticos en el control de Sigatoka negra en banano

Las evaluaciones del segundo ciclo de banano se comenzaron el 07 de Marzo de 2006, para esta fecha todos los tratamientos presentaban el 50% de plantas con el tamaño (1,2 – 1,5 m) y número mínimo de hojas (7) para ser evaluadas. Se realizaron 12 lecturas de Estado de Evolución de la enfermedad (EE) y Ritmo de Emisión Foliar (REF) y 7 lecturas de Índice de Infección (IND), Número total de hojas

Cuadro 4. Resumen de la significancia y las tendencias de los resultados de todas las variables evaluadas de tratamientos aplicados a radical y tipo de semilla en la fase vegetativa, severidad a floración variables fenológicas y cosecha de banano 1er ciclo.

Variables	Tratamiento radical	Significación	Tipo de semilla	Significación
EE	(T Q E2 <i>E1</i> )	ns	Cormo <i>Vitroplantas</i>	ns
REF	(T E1 E2 <i>Q</i> )	ns	Cormo <i>Vitroplantas</i>	**
IND	(E1 Q T <i>E2</i> )	ns	Cormo <i>Vitroplantas</i>	ns
TH	(E1 Q E2 <i>T</i> )	ns	Cormo <i>Vitroplantas</i>	ns
HMJE	(Q E1 E2 <i>T</i> )	ns	Cormo <i>Vitroplantas</i>	ns
Tendencia	<u>E1 y Q</u>		<u>Cormo</u>	
INDF	(E1 T Q <i>E2</i> )	ns	<i>Vitroplantas</i> Cormo	ns
THF	(E2 T E1 <i>Q</i> )	ns	Cormo <i>Vitroplantas</i>	ns
HMJEF	(E2 E2 T <i>Q</i> )	ns	Cormo <i>Vitroplantas</i>	ns
Tendencia	<u>E2 Y T</u>		<u>Cormo</u>	
PSF	(Q E2 T <i>E1</i> )	ns	Cormo <i>Vitroplantas</i>	ns
APF	(Q T E1 <i>E2</i> )	ns	<i>Vitroplantas</i> Cormo	**
CPF	(Q T E2 <i>E1</i> )	ns	<i>Vitroplantas</i> Cormo	ns
Tendencia	<u>Q y T</u>		<u>Vitroplantas</u>	
PR	(E2 Q T <i>E1</i> )	ns	<i>Vitroplantas</i> Cormo	ns
NM	(E2 Q T <i>E1</i> )	ns	<i>Vitroplantas</i> Cormo	ns
ND	(E2 Q T <i>E1</i> )	ns	<i>Vitroplantas</i> Cormo	ns
LD2M	(E2 Q T <i>E1</i> )	ns	<i>Vitroplantas</i> Cormo	ns
GD2M	(E2 Q T <i>E1</i> )	ns	Cormo <i>Vitroplantas</i>	ns
PSC	(E1 Q T <i>E2</i> )	ns	<i>Vitroplantas</i> Cormo	ns
AHC	(E2 E1 Q <i>T</i> )	ns	<i>Vitroplantas</i> Cormo	ns
Tendencia	<u>E2 y Q</u>		<u>Vitroplantas</u>	

Signif: Significación: \*\*: Indica diferencias significativas entre los tratamientos.

ns: indica que no hay diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

Letras en cursivas indican los peores resultados. Letras subrayadas indican la tendencia del mejor tratamiento

(TH) y Hoja Más Joven Enferma (HMJE) (Figura 3, 4, 5, 6).

Con relación al análisis estadístico, este arrojó que no existen diferencias significativas en ningún tratamiento radical ni con el tipo de semilla utilizada, así como tampoco se encontraron diferencias en ninguna de las interacciones analizada (Cuadro 5).

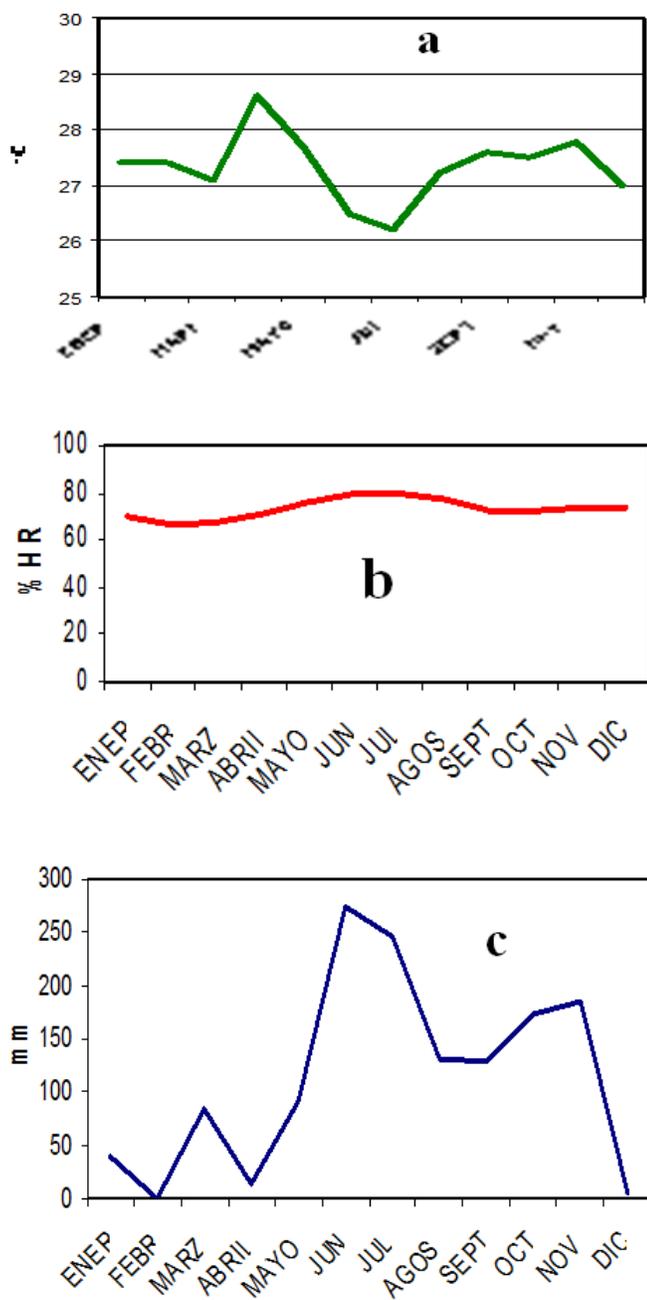


Figura 3. Condiciones climáticas para el año 2006 en Barinas, Venezuela: a) Temperaturas promedio (°C), b) Humedad relativa (%) y c) Precipitación (mm).

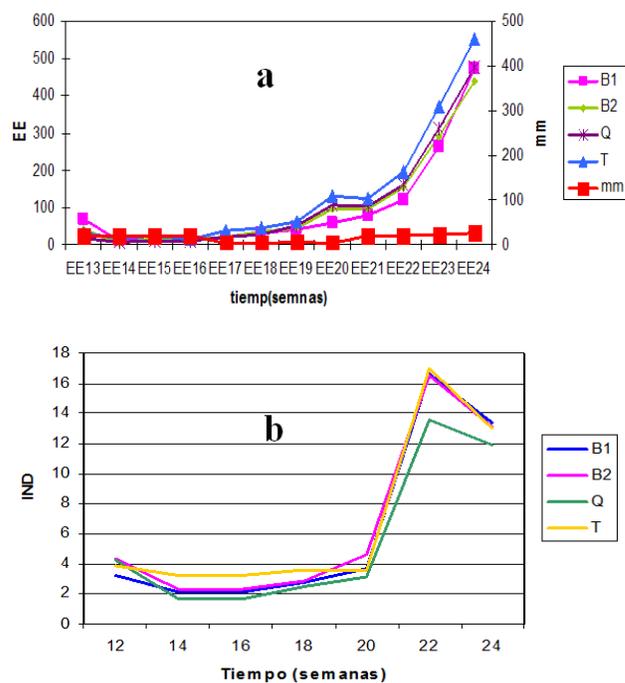


Figura 4. Representación del progreso de la enfermedad con tratamiento foliar para las variables: a) Estado de evolución de la enfermedad (EE) y precipitación; b) Índice de infección (IND).

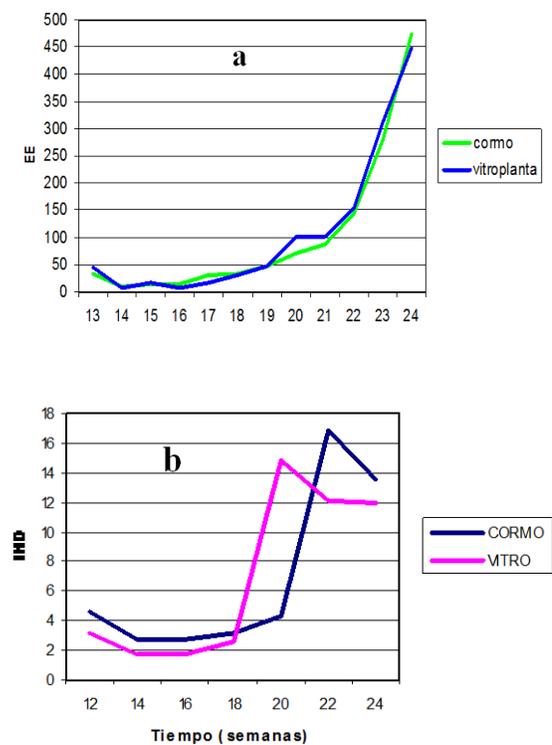


Figura 5. Representación del progreso de la enfermedad con cormos y vitroplantas para las variables: a) Estado de evolución de la enfermedad (EE); b) Índice de infección (IND).

En este ciclo del cultivo sólo se pudo evaluar la fase vegetativa, debido a que se presentó una bacteriosis (*Erwinia* sp.), por lo que hubo que eliminar la plantación. Esta bacteriosis se vio favorecida por lluvias atípicas en la zona en los meses de Enero y Febrero (Figura 3c), unido al riego por inundación que favoreció la diseminación de la enfermedad. Sin embargo, aunque no se encontraron diferencias estadísticas significativas en ninguna de las variables evaluadas, en el cuadro 8 se presenta un resumen de las tendencias de los resultados en todas las variables evaluadas en la fase vegetativa.

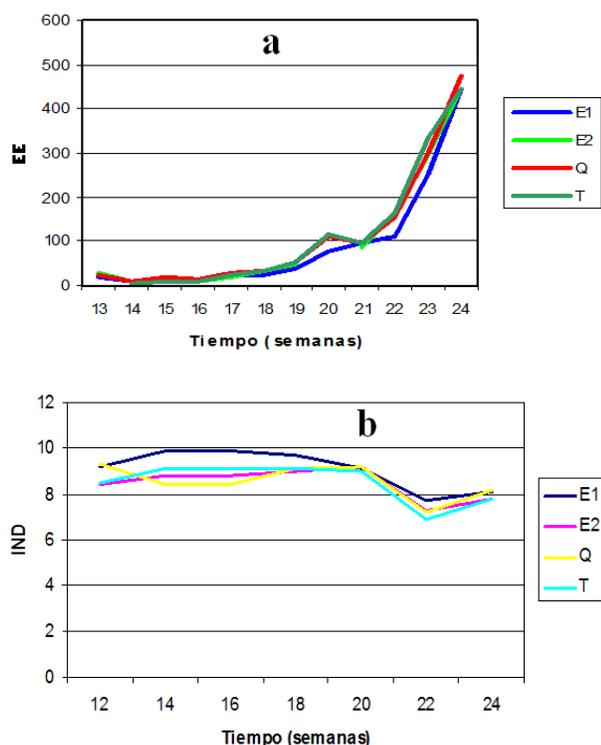


Figura 6. Representación del progreso de la enfermedad con tratamiento radical para las variables: a) Estado de evolución de la enfermedad (EE); b) Índice de infección (IND).

Con respecto a los tratamientos radicales, se observó que con E1 se disminuyeron los valores de EE y de IND y se encontró la mejor posición de la HMJE y que con E2 la mayor cantidad de TH y el mejor REF. La tendencia de E1 en ser efectivo en el control de la enfermedad coincide con lo señalado por la literatura quienes indican que algunas especies de *Trichoderma* son capaces de inducir resistencia en la planta de pepino hospedera; debido a que pueden dar inicio a una respuesta de defensa como aumento en la actividad de peroxidasas que están relacionadas a la producción de compuestos fungitóxicos, aumento en la actividad de quitinasas, en la actividad de las enzimas en las raíces y hojas (Yedidia *et al.*, 1999).

Es importante señalar que con la aplicación de E2, se encontró mayor número de Hojas Totales (TH) y mejor REF, lo que posiblemente indica que este endofítico tuvo un efecto estimulador en el crecimiento de la planta como señala la literatura que dice que este tipo de hongo, es capaz de colonizar el tejido de la planta sin causar ningún tipo de daño ni de síntoma, interviniendo en su fisiología estimulando el crecimiento y aumentando la resistencia al estrés causado por factores abióticos (Pocasangre *et al.*, 2000 y 2001). Otros trabajos señalan que con la aplicación de *T. harzianum*, se incrementa el área y longitud de la raíz, tallo y área de la hoja, comparados con tratamientos no tratados, presentado incremento significativo de Cu, P, Fe, Zn, Mn y Na en las raíces de las plantas de pepino (Yedidia *et al.*, 2001).

Es importante recordar la procedencia de los endofíticos: E1 proviene de Guatemala y E2 de Costa Rica; países con condiciones agroecológicas distintas a las encontradas en Barinas, razón por la que posiblemente no ejercieron un efecto significativo en el control inducido de la Sigatoka negra ni en un efecto significativo en estimular el crecimiento de las

Cuadro 5. Resumen de tendencias de todas las variables evaluadas de tratamientos aplicados a nivel foliar, radical y tipo de semilla en la fase vegetativa, floración y cosecha de banano 2do ciclo.

Variables	Tratamiento radical	Significación	Tipo de semilla	Significación
EE	(E1 E2 Q T)	ns	Cormo <i>Vitroplanta</i>	ns
REF	(E2 T Q E1)	ns	Vitroplanta <i>Cormo</i>	ns
IND	(E1 Q T E2)	ns	Vitroplanta <i>Cormo</i>	ns
TH	(E2 T E1 Q)	ns	Cormo <i>Vitroplanta</i>	ns
HMJE	(E1 E2 Q T)	ns	Vitroplanta <i>Cormo</i>	ns
Tendencia	<u>E1 y E2</u>		<u>Vitroplanta</u>	

Signif: Significación: \*\*: Indica diferencias significativas entre los tratamientos.

ns: indica que no hay diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

Letras en cursivas indican los peores resultados. Letras subrayadas indican la tendencia del mejor tratamiento

plantas. En relación a esto último Howell (2003), señala que los mecanismos de acción de la especie de *Trichoderma* están fuertemente influenciadas por el sustrato sobre el cual el hongo se desarrolle y condiciones ambientales tales como la temperatura, pH de suelo, presencia de otros microorganismos nativos de la zona; el autor también señala que estos factores podrían influir en la actividad biocontroladora por inhibición del crecimiento y desarrollo de este, o podría influir también en la producción de metabolitos de enzimas y/o antibióticos, asimismo puede ser el caso de que no los afecte pero si limite su eficacia en el control.

E2 manifestó una tendencia favorable y consistente en floración y en cosecha (cuadro 5). La literatura señala que muchas especies del género *Trichoderma* actúan como agentes de control biológico debido a que presentan diferentes mecanismos de acción; micoparasitismo, compitiendo por espacio y nutrientes, estimulando el crecimiento de las plantas, antibiosis y hasta son capaces de inducir resistencia a ciertas enfermedades; todos estos mecanismos pueden actuar de forma coordinada dependiendo de la especie de *Trichoderma*, del patógeno, tipo de cultivo, condiciones ambientales como temperatura ambiente y del suelo, humedad, disponibilidad de nutrientes, pH del suelo etc. (Benítez *et al.*, 2004).

### CONCLUSIONES

- Los tratamientos químicos a nivel radical (nematicidad Carbonan, carbofuran) mostraron los mejores resultados en la fase vegetativa, floración y cosecha.
- Con la aplicación del hongo endofítico E2 proveniente de Costa Rica, se encontraron los mejores resultados para ejercer control sobre Sigatoka negra en banano.
- Los cormos presentaron las mejores características en la fase vegetativa y floración en todas las variables evaluadas, tanto en banano como en plátano
- Las vitroplantas mostraron los mejores valores en cosecha en banano.
- Con la aplicación de E1, la tendencia fue de reducir los valores de EE y de IND y con E2 estimuló el TH y el REF.

- En el segundo ciclo las vitroplantas presentaron los mejores valores de IND, EE, TH, HMJE y REF

### RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones con cepas de hongos endofíticos nativos de la zona donde se instales los ensayos.
- Diseñar programas de manejos integrados donde se incluyan los endofíticos como elemento de protección y promotor de crecimiento en el tratamiento de la semilla.

### LITERATURA CITADA

- Baek, J.; C. Howell and C. Kenerely. 1999. The role of extracellular chitinase from *Trichoderma virens* Gv29-8 in the biocontrol of *Rhizoctonia solani*. *Curr. Genet.* 35: 41-50.
- Benítez, T.; A. Rincón, M. Limón and A. Codón. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Microbiological* 7: 249-260.
- Carroll, C. G. 1990. Fungal endophytes in vascular plants: Mycological research opportunities in Japan. *Trans. Micol. Soc. Japan.* 31:103-116.
- Clay, K. 1998. Fungal endophytes of grasses: a defensive mutualism between plant and fungi. *Ecology* 69: 10-16.
- Decker, H.; R. Cassamayor García y M. E. Rodríguez Fuentes. 1973. Nuevas investigaciones sobre tratamientos de rizomas del plátano con agua caliente y nematicidas contra nematodos parásitos. *Cartas ALAF* 7: 51-57.
- Delgado, E. y R. Paiva. 2001. Estudio de la Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) sobre la sostenibilidad de la producción de musáceas en Barinas, Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 18:277-289.
- Elad, Y. and A. Kapat. 1999. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. *Eur. J. Plant Pathol.* 105: 177-189.
- Fouré, F. 1985. Black leaf streak disease of banana and plantains (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) study of the symptoms and stages of the disease in Gabon. IRFA. París.

- Gauhl, F. 1989. Epidemiology and ecology of Black Sigatoka on plantain and banana (*Musa* spp.) in Costa Rica, Centroamérica. Ph D. Thesis of Systematisch Geobotanische. Institut der Georg August Universität Göttingen and Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenchutz der Georg August Universität Göttingen.
- Guzmán, M. 2006. Estado actual y perspectivas futuras del manejo de la Sigatoka negra en América Latina. *In: Memorias XVII Reunión Internacional Acorbat*. Joinville, SC, Brasil. Bananicultura: Un Negocio Sostenible. E. Soprano, F. A. Tcacenco, L. A. Lichtemberg y M. C. Silva (eds.) Editorial Epagri, Estación experimental de Itajaí, SC, Brasil. p. 83-91.
- Guzmán, M. 2002. Situación de la Sigatoka negra en Costa Rica y opciones para el manejo de la enfermedad. *Memorias ACORBAT*. Cartagena, Colombia. 27 de octubre-2 de noviembre. p. 18-19.
- Harman, G. E.; R. H. Howel, A. Viterbo, I. Chet and M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2:43-56.
- Henriques, W.; R. D. Jeffers, T. E. Lacher and R. J. Kendall. 1997. Agrochemical use on banana plantations in Latin America; perspective on ecological risk. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16: 91-99.
- Howell, C. and R. Stipanovic. 1983. Glovirin as a new antibiotic from *Gliocladium virens*, and its role in the biological control of *Pythium ultimum*. *Can. J. Microbiol.* 29: 321-324.
- Howell, C. 2002. Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Phyium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 92: 177-180.
- Howell, C. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* spp in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 87 (1): 4-10.
- Hutton, D. G. and D. C. Chung. 1973. Effect of post-planting applications of nematicide DBCP to plantain. *Nematropica* 3:45
- Latch, G. C.; W. F. Hunt and D. R. Musgrave. 1985. Ebdophytic fungi affect growth of perennial ryegrass. *N. Zeal. Journal. Agricultural Research* 28: 165-168.
- Marín, D. y R. Romero. 1998. El combate de la Sigatoka negra *In: Divulgación científica al servicio del productor bananero nacional*. Revista CORBANA. San José. Costa Rica. p. 104-129.
- Martínez, G. 1996. The present situation with regard to black Sigatoka in Venezuela. *Infomusa* 6 (1): 16-17.
- Meneses, A. 2003. Utilización de hongos endofíticos para el control biológico del nematodo barrenador *Radhopholus similis* (Cobb). Tesis Mag. Sc. Biblioteca Orton, CATIE. Turrialba, Costa Rica. 67 p.
- Norton, D. C. 1978. Ecology of plant-parasitic nematodos. Ed. John Wiley and sons. Ney Yok. 217 p.
- Pocasangre, L.; R. A. Sikora, V. Vilich and P. Schuster. 2000. Survey of banana endophytic fungi from central America and screening for biological control of *Radopholus similis*. *In: M. Blanke and J. Pohlen* (Eds). ISHS conference on fruit production in the tropic an subtropics. Bonn. p. 283-289.
- Pocasangre, L. A. R. Sikora y M. Araya. 2001. Estado actual de la situación nematológica en los bananos y plátanos en América Latina. *PROMUSA. Infomusa.* 10 (2): 1-12.
- Yedidia, I.; N. Benhamou and I. Chet. 1999. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* Appl. Environ. Microbiol. 65: 1061-1070.
- Yedidia, I.; A. Srivastva, Y. Kapulnik and I. Chet. 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant Soil.* 235-242.