

INOCULACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS EN PLATANERA- VALORACIÓN PARA EL CONTROL DE PLAGAS Y ENFERMEDADES Y EFECTOS EN LA PRODUCCIÓN

Raimundo Cabrera Pérez^{1*}, Cristina Giménez Mariño¹, Santiago Perera González², Tomás Martín Toledo¹.

¹ Departamento de Botánica, Ecología y Fisiología Vegetal. Universidad de La Laguna. Avda. Astrofísico Francisco Sánchez, s/n. Campus de Anchieta 38071. La Laguna. Tenerife. Islas Canarias. España.

² Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural. Cabildo Insular de Tenerife. Calle Alcalde Mandillo Tejera, 838007 Santa Cruz de Tenerife. Tenerife. Islas Canarias. España.

*Autor para la correspondencia: rcabrera@ull.edu.es.

RESUMEN

Los hongos endófitos constituyen una herramienta natural fundamental para que las plantas adquieran protección frente a plagas y enfermedades que provocan cuantiosas pérdidas en la agricultura. Se llevó a cabo un ensayo de inoculación de cuatro hongos endófitos en plantas de platanera variedad Brier. Dichos endófitos habían sido obtenidos previamente a partir de muestras de platanera, y resultaron activos en laboratorio frente a *Chrysodeyxis chalcites*, *Cosmopolites sordidus* y *Fusarium oxysporum*. Para el estudio, los endófitos se desarrollaron sobre arroz estéril en el laboratorio. En campo, se sembraron cuatro parcelas, con 10 repeticiones para cada endófito y plantas control. Los objetivos planteados fueron: determinar la capacidad de asentamiento de cada endófito y su grado de protección frente a organismos dañinos, y analizar su efecto sobre la producción del cultivo. Se realizaron tres muestreos a lo largo de un año, consiguiendo recuperar los endófitos inoculados en los dos primeros muestreos (a los 4 y 8 meses respectivamente). Se evaluó la incidencia de plagas (plusia, mosca blanca), y se valoró el peso de la piña al final del cultivo. Los datos obtenidos a partir de estos ensayos preliminares ponen de manifiesto que son necesarias nuevas inoculaciones para que el endófito se asiente por más tiempo en el vegetal. Por otra parte, en cuanto a la incidencia de plagas y enfermedades, no se observó diferencia entre las plantas tratamiento y control, y tampoco aparecieron diferencias significativas en el pesado de las piñas una vez recolectadas.

Palabras clave: Hongos endófitos, Platanera, control de plagas.

INOCULATION OF ENDOPHYTIC FUNGI IN BANANA-EVALUATION OF PEST AND DISEASES CONTROL AND EFFECTS ON YIELD

ABSTRACT

Endophytic fungi are natural and supportive tools available to plants, with which they can acquire protection against pests and diseases detrimental to growth of agricultural crops. Four fungal endophytes were inoculated in banana plants, cultivar Brier. The fungal endophytic strains were previously isolated from banana plants and upon further experimentation they were most potent against *Chrysodeyxis chalcites*, *Cosmopolites sordidus* and *Fusarium oxysporum*. In this study endophytes were cultivated on solid state medium (rice grains). Banana plants were planted on four plots with 10 replicates for each endophytic fungus and control to determine the assessment of each endophyte

and its protection level against the targets and to analyse the effect on yield. Three samplings were done throughout a year and the endophytes were recovered in the first two samplings (after 4 and 8 months after inoculation). Results of these preliminary assays show that other inoculations are necessary so that the endophyte can install in plants for longer time. As for the incidence of pest and diseases, no significant difference was observed between the treated and untreated plants and neither higher yield was reported during the study.

Keywords: endophytic fungi, banana, pest control.

INTRODUCCIÓN

Los hongos endófitos son un grupo de microorganismos, de enorme diversidad biológica, que viven en las plantas durante al menos una parte de su ciclo de vida sin causar ninguna manifestación visible de la enfermedad (Bacon and White, 2000). Se trata de una asociación planta-microbio única de costo-beneficio definida por "ubicación" que es transitoriamente asintomática, discreta y establecida enteramente dentro de los tejidos vivos de la planta huésped (Kusari and Spiteller, 2012). Durante esta asociación, ninguno de los organismos que interactúan se perjudica perceptiblemente. Como consecuencia de la interacción que se establece entre el endófito y la planta, se han observado efectos que mejoran la adaptación de la planta al ecosistema en el que habita al aumentar su tolerancia al estrés, a los cambios de temperatura y salinidad, su crecimiento (Zheng *et al.*, 2016) y su resistencia frente a las enfermedades, bacterias, nematodos, herbívoros, insectos y hongos patógenos (Aly *et al.*, 2011).

En los últimos años se ha investigado también la capacidad de los microorganismos endófitos para reducir la toxicidad de los metales a las plantas y así mejorar la eficiencia en el proceso de fitorremediación (Deng *et al.*, 2016).

Las Islas Canarias, principal región productora de plátanos de la UE, mantiene una superficie actual de cultivo de 9.100 hectáreas y la producción de plátano canario en 2016 fue de 433.678.239 millones de kilos, de los cuales 381.427.567 fueron para el mercado español peninsular, 35.984.393 para consumo interior, y 84.554 para mercado extranjero (ASPROCAN, 2016).

En el momento actual, se tiende cada vez más a la búsqueda de alternativas para el control de plagas y enfermedades, teniendo en cuenta que las restricciones en el empleo de químicos son cada vez mayores, y por tanto se hace necesario encontrar nuevas herramientas que permitan combatir los daños en los cultivos.

En este trabajo se plantearon los objetivos siguientes: por un lado, inocular hongos endófitos obtenidos previamente de la platanera, y comprobar su capacidad de colonización de los tejidos vegetales, y por otro, determinar si la presencia de estos endófitos está relacionada con una mayor protección frente a plagas y enfermedades, y un aumento en la productividad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Hongos endófitos seleccionados

Los endófitos empleados para hacer los ensayos fueron *Fusarium oxysporum* Schltdl, *Penicillium pinophilum* Tom, C., *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohny *Aspergillus flavus* Link, aislados previamente a partir de muestras de platanera, y que resultaron activos

en laboratorio frente a insectos plaga y hongos fitopatógenos de dicho cultivo (Martin, 2007).

Se sembraron en erlenmeyer con arroz previamente esterilizado. Transcurridas entre dos y tres semanas de crecimiento, se tomó el arroz inoculado y se transfirió a pequeñas bolsas de plástico con agua destilada estéril. El material así preparado es trasladado a campo para llevar a cabo la inoculación de las plantas de platanera.

Ensayos de campo

Los ensayos se realizaron en la finca “La Quinta Roja”, perteneciente al Cabildo Insular de Tenerife, y ubicada en el municipio de Garachico. El material vegetal empleado corresponde a plantas de platanera de la variedad Brier. El inóculo se aplicó cuando la planta estaba en maceta, cada platanera fue etiquetada, y posteriormente se realizó la siembra de las mismas en cuatro parcelas, con 10 repeticiones para cada endófito y plantas blanco en cada una de ellas, con el objeto de poder establecer una comparación.

Se realizaron tres muestreos (a los 4, 8 y 15 meses de la inoculación) en cada uno de los cuales fueron seleccionadas dos plantas por tratamiento y parcela. En total seis tratamientos, teniendo en cuenta los cuatro hongos inoculados, más el blanco (arroz libre del endófito) y el testigo.

Con un sacabocados se obtuvieron cilindros de pseudotallo que fueron llevados al laboratorio para proceder a su desinfección superficial (Giménez, 2006). Pequeños fragmentos de cada muestra fueron sembrados en placas con medio de cultivo y se llevó a cabo una observación diaria para detectar el crecimiento en placa de los posibles endófitos presentes. En total, por planta, se prepararon 4 placas: tres de ellas, con cuatro fragmentos de pseudotallo, correspondientes a la parte exterior, media e interior del mismo. La otra placa, la denominada “huella” se preparó pasando sobre el medio de cultivo el fragmento de platanera desinfectado, para asegurarnos que la esterilización superficial se había realizado de forma correcta.

A lo largo de todo el ensayo se llevó a cabo una única observación de la incidencia de plagas, así como de la presencia de plantas con síntomas de enfermedad. Para determinar la presencia de mosca blanca se estimó el porcentaje ocupado del área foliar del envés de la hoja de las últimas cuatro hojas emitidas por planta, mientras que para la lagarta se tuvo en cuenta el porcentaje de área foliar con daños de las últimas cuatro hojas emitidas por planta (Perera *et al.*, 2009). Para poder determinar el efecto de la inoculación sobre la producción del cultivo, se pesaron todas las piñas en el momento de la recolección, tanto las tratadas, como las seleccionadas como blanco y testigo, realizándose un análisis estadístico de los resultados obtenidos con el programa Statistix 10.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se puede observar en la tabla 1, en el primer muestreo se recuperan los 4 hongos inoculados y este resultado se extiende a las 5 parcelas, siendo el hongo *Aspergillus flavus* el que presenta mayores tasas de aislamiento. Sin embargo, a partir del segundo muestreo los porcentajes de aislamiento disminuyen de forma considerable, alcanzando valores nulos en el tercer muestreo. Dado que no se dispone de datos previos a estos ensayos, cabe establecer la hipótesis de que una sola inoculación no es suficiente para que el hongo endófito permanezca en la planta durante todo el ciclo de

la misma, por lo que será necesario una nueva inoculación para aumentar la presencia del endófito en la planta.

Tabla 1. Porciento de aislamiento de cada hongo endófito por parcela y muestreo.

Muestreos	parcela1			parcela2			parcela3			parcela4			parcela5		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<i>A. flavus</i>	95,8	87,5	0	58,3	0,0	0	45,8	58,3	0	66,6	0,0	0	70,8	25,0	0
<i>A. oryzae</i>	25,0	0,0	0	29,1	0,0	0	20,8	25,0	0	54,1	37,5	0	50,0	87,5	0
<i>P. phinophylum</i>	4,1	33,3	0	16,6	0,0	0	8,3	0,0	0	16,6	0,0	0	45,8	0,0	0
<i>F. oxysporum</i>	12,5	50,0	0	4,1	62,5	0	12,5	50,0	0	29,1	50,0	0	20,8	37,5	0

Las figuras 1 y 2 muestran el porcentaje de aislamiento en función de la zona del pseudotallo analizada. No se incluye el gráfico correspondiente al tercer muestreo ya que en este no se recuperaron los endófitos aislados. En el primer muestreo se observa que el hongo *Aspergillus flavus* domina y además tiene una mayor presencia en las partes media e interna de la muestra, lo cual se repite en el muestreo 2 para ese mismo hongo. El siguiente en porcentaje de aislamiento es *Aspergillus oryzae* principalmente en el primer muestreo ya que en el segundo no se aisló en un porcentaje tan elevado. *Penicillium phinophylum* presenta diferencias visibles entre el primer y segundo muestreo mientras que *Fusarium oxysporum* a diferencia del resto aumenta en el segundo muestreo dominando en la parte más externa en las primeras muestras y apareciendo con más frecuencia en la zona interna del pseudotallo en el segundo muestreo.

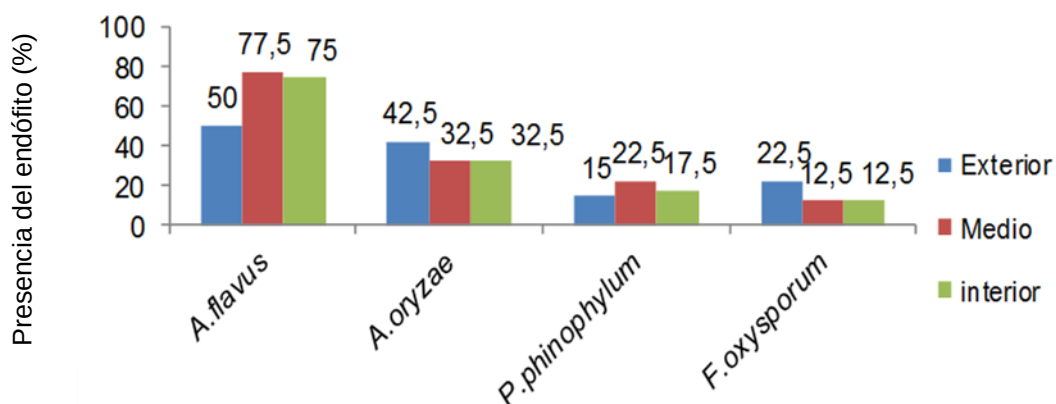


Figura 1. Porciento de aislamiento de los endófitos en el primer muestreo en base a la zona del pseudotallo estudiada.

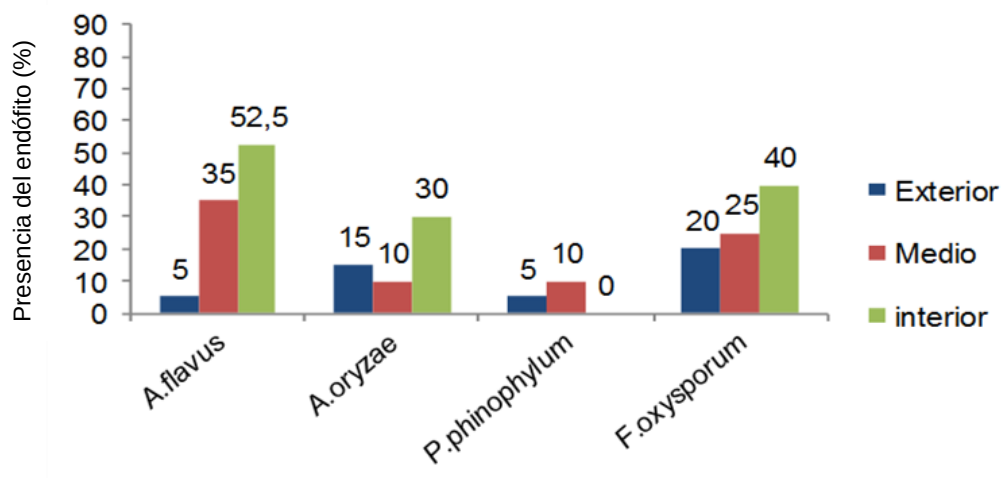


Figura 2. Porcentaje de aislamiento de los endófitos en el segundo muestreo en base a la zona del pseudotallo estudiada.

Para determinar la posible relación entre presencia del endófito e incidencia de plagas se llevó a cabo un muestreo total de 980 hojas en 375 (38,26 %) de las cuales había presencia de mosca blanca en grado 1 (menos de un 20 % de ocupación) y tan solo 19 (1,93 %) mostraron daños por lagarta también en grado 1 (menos de un 20 % de daños). No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos blanco y testigo.

En relación al peso de las piñas se llevó a cabo el análisis estadístico basado en el test HSD de Tukey (Figura 3). Los valores obtenidos indican que no hay diferencias significativas entre las piñas procedentes de plantas inoculadas y las testigo y blanco. Cabe considerar que este resultado parece estar relacionado con la disminución en el porcentaje de aislamiento de los endófitos en el segundo muestreo y la desaparición de los mismos en el tercero. Si tal y como muestran los resultados, el endófito no se asienta de forma definitiva con una sola inoculación, parece lógico que no haya diferencias significativas en el pesado de la fruta.

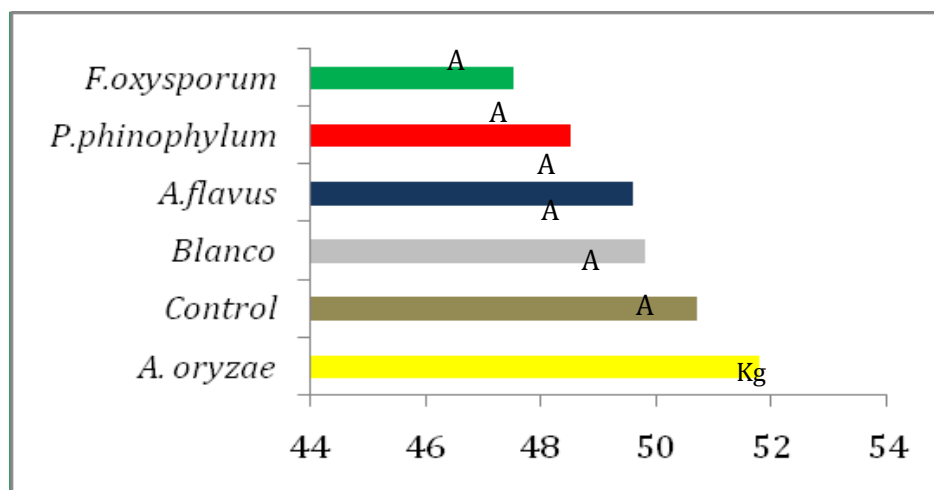


Figura 3. Promedio de peso por piña (Kg) y tratamiento. Para cada valor representado las barras designadas con la misma letra indican que no hay diferencias significativas $\alpha=0,05$.

En base a los resultados obtenidos, se plantea la necesidad de realizar nuevos ensayos; queda patente que una única inoculación a comienzo del cultivo no es suficiente para que el hongo endófito permanezca y se asiente en los tejidos vegetales, por lo que serán necesarias nuevas inoculaciones que proporcionen nuevos datos sobre la capacidad de colonización de los hongos endófitos y su posible influencia en la producción del cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

- ALY, A.H.; A. DEBBAB and P. PROKSCH. 2011. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*
- ASPROCAN 2016 (Asociación de Organizaciones de Productores de Plátanos de Canarias). Estadísticas cultivo del plátano en Canarias 2016.
- BACON, C.W. and J.F. WHITE. 2000. Physiological adaptations in the evolution of endophytism in the Clavicipitaceae. *Microbial Endophytes* (New York: Marcel Dekker Inc.).
- DENG, Z. and L. CAO. 2016. Fungal endophytes and their interactions with plants in phytoremediation: A review. *Chemosphere*, 168; 1100-1106.
- GIMÉNEZ, C. 2006. Productos bioactivos de plantas canarias y sus hongos endófitos: detección de actividad y utilización en el control de plagas y enfermedades agrícolas. Tesis doctoral. Dpto. Biología vegetal (Fitopatología). Universidad de La Laguna.
- KUSARI, S. and A. SPITELLER. 2012. Metabolomics of endophytic fungi producing associated plant secondary metabolites: progress challenges and opportunities. In *Metabolomics* pp. 241-266.
- MARTÍN TOLEDO, T. 2007. *Cosmopolites sordidus* (German) y *Chrysodeixis chalcites* (Esper) plagas de la platanera: nuevas herramientas para su control. Trabajo fin de carrera. Escuela técnica superior de ingeniería agraria. Dpto. Universidad de La Laguna.

- PERERA GONZÁLEZ, S.; E. HERNÁNDEZ SUÁREZ; M. DEL PINO PÉREZ; A. ALONSO PEREZ y M.P. HERNÁNDEZ SANTANA. 2009. Ensayo de eficacia de productos fitosanitarios en el control de la lagarta (*Chrysodeixis chalcites*) en el cultivo de la platanera. 28pp. Cabildo Insular de Tenerife.
- ZHENG, Y.K.; X.G. QIAO; C.P. MIAO; K. LIU; Y.W. CHEN; L.H. XU and L.X. ZHAO. 2016. Diversity distribution and biotechnological potential of endophytic fungi. *Ann Microbiol.*, 66:529-54.