

## ARTÍCULO CIENTÍFICO

EFECTO ENRAIZADOR DE *Trichoderma asperellum* EN EL CULTIVO DE PALMA ACEITERABravo, Vladimir<sup>a</sup>; Ronquillo, Mayra<sup>b\*</sup>; Martínez, Miguel<sup>b</sup>; Quezada Gonzalo<sup>c</sup><sup>a</sup> Asociación Nacional de Cultivadores de Palma Aceitera (ANCUPA), Vía Santo Domingo-Quinindé km 37 ½, La Concordia, Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador.<sup>b</sup> Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Av. Quito km. 1 ½ vía a Santo Domingo de los Tsáchilas, Quevedo, Los Ríos, Ecuador.<sup>c</sup> Universidad Técnica de Manabí, Av. Urbina y Che Guevara, Portoviejo, Manabí, Ecuador.**Resumen**

El escaso desarrollo de raíces debido a causas bióticas y abióticas es uno de los principales problemas en el manejo agronómico de la palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.). Este estudio tuvo los objetivos: 1) aislar cepas nativas de *Trichoderma* spp., 2) caracterizar y seleccionar in vitro los aislados con mejores características de crecimiento, 3) identificar mediante análisis molecular el aislado seleccionado y 4) determinar el efecto de la aplicación de un formulado de *Trichoderma* combinado con raquis en el desarrollo de raíces de la palma aceitera. Se colectaron muestras de suelo en cuatro localidades de las provincias de Esmeraldas y Santo Domingo de los Tsáchilas. Las pruebas de crecimiento y características morfológicas en laboratorio permitieron seleccionar tres aislados de *Trichoderma* spp. El examen de las características morfológicas y moleculares permitieron identificar al aislado T1 como *Trichoderma asperellum*. En fase de campo se evaluaron seis tratamientos con un formulado de *Trichoderma* spp. ( $1 \times 10^8$  unidades formadoras de colonia) aplicado en la corona de la palma adicionada con raquis. Los resultados obtenidos mostraron que el tratamiento 1 (*Trichoderma* T1) alcanzó un crecimiento de raíces de 636 cm (20% de incremento con relación al segundo tratamiento) a los 6 meses y 1384 cm (27,5% de incremento con respecto al

segundo tratamiento) a los 18 meses. En relación al peso seco de raíces, el mismo tratamiento registró 105 gramos (47% de incremento con respecto al segundo tratamiento). Se concluye que *Trichoderma asperellum* combinado con raquis, tiene un efecto positivo en la longitud y peso seco de raíces de la palma aceitera.

**Palabras clave:** Raíces, Palma Aceitera, *Trichoderma asperellum*.

**ROOTING EFFECT OF *Trichoderma asperelleum* IN OIL PALM CROPS****Abstract**

Scarce root development due to biotic and abiotic causes is one of the main problems in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) production. The study had the following objectives 1) isolate native strains of *Trichoderma* spp., 2) characterize and select via in vitro selection the strains with the best growth characteristics, 3) identify the strains with the best characteristics with molecular analysis and 4) determine the effect of the application of *Trichoderma* combined with raquis (leftover from fruit bunch after oil extraction) on the development of the oil palm roots. Soil samples from four oil palm production zones in province of Esmeraldas and Santo Domingo de los Tsáchilas where collected. Three strains of *Trichoderma* spp., where selected after growth and morphological tests in laboratory. The T1 strain was identified as *Trichoderma asperellum* using morphological characterization

\*Correspondencia a: Asociación Nacional de Cultivadores de Palma Aceitera, Vía Santo Domingo-Quinindé km 37 ½, La Concordia, Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador. Teléfono: +(593) 997330394, e-mail: mronquillo@ancupa.com

and PCR. Six treatments were evaluated under field conditions. *Trichoderma* spp. was applied with a concentration of  $1 \times 10^8$  CFU on the crown of the plant with added raquis. Results indicated that treatment 1 (*Trichoderma* T1 strain) after 6 months reached 636 cm (20% increase in compare to the second treatment); and 1385 cm (27,5% increase in compare to second treatment) after 18 months. Treatment 1 also registered a dry root weight of 105 g., which was 47% higher than the second treatment.. We could conclude that *Trichoderma asperellum* combined with raquis, has a positive effect over the longitude and dry root weight in oil palm roots.

**Keywords:** Roots, Oil Palm, *Trichoderma asperellum*.

## I. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas agronómicos del cultivo de palma aceitera (*Elaeis guineensis* L.), en algunas zonas productoras del Ecuador, es el escaso desarrollo de raíces debido a causas bióticas (plagas como *Sagalassa valida*, *Dysmicoccus brevipes*, *Neolecanium silverai*, entre otros) y/o causas abióticas (fertilizantes mal aplicados, herbicidas y otros agroquímicos en dosis inapropiadas, altas temperaturas, etc.).

El uso de raquis (racimo sin fruto) alrededor de las palmas, es una práctica común para el cultivo. Entre otras ventajas, ayuda a disminuir significativamente la incidencia del barrenador de la raíz (*Sagalassa valida*), regula las poblaciones de la plaga por períodos prolongados, aumenta de manera considerable los microorganismos benéficos de la rizósfera, e incrementa el volumen de raíces. [1] El raquis aplicado a la corona de la palma aceitera estimula la generación de raíces terciarias y cuaternarias, indispensables para la absorción de agua y nutrientes. [2] Aunque esta práctica puede ser costosa ofrece muchos beneficios a quienes pueden optar por este residuo de la palma.

Por otro lado, se conoce que *Trichoderma* es un hongo saprófito de vida libre común en los ecosistemas del suelo, capaz de interactuar con raíces y tejido foliar vegetal. [3] Es un excelente controlador biológico de patógenos del suelo, [4] pues actúa como hiperparásito competitivo, ya que produce metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas que degradan la pared celular de hongos

patógenos. *Trichoderma*, es ávido por materia orgánica, sin la cual es difícil que se establezca en el suelo para cumplir sus funciones, y mediante la descomposición de materia orgánica, libera nutrientes en formas disponibles para la planta, [5] gracias a su actividad solubilizadora de fosfatos [6] y a la producción de ácido 3-indol acético, sustancia promotora del desarrollo del sistema radical. [7] Adicionalmente, *Trichoderma* actúa de manera similar a las bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR, por las siglas en ingles), produciendo la enzima 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid-deaminase (ACCD), la misma que interfiere en la biosíntesis de etileno promoviendo el desarrollo vegetal por medio de la vía de las giberelinas. [8]

Si bien es cierto, hoy se conoce las bondades del raquis y de *Trichoderma*, poco o nada se conoce sobre el efecto de la combinación de ambos para mejorar el enraizamiento de la palma aceitera. Al aplicar el *Trichoderma* "nativo", en combinación con el raquis previamente enfriado (a temperatura ambiente), el microorganismo probablemente tendrá mayores posibilidades de sobrevivir y establecerse en el suelo, para potencializar el enraizamiento de la palma gracias a una mayor producción de raíces responsables de la nutrición y absorción de agua. Con un sistema radicular más eficiente, obviamente se espera un mejor desarrollo de la palma y por lo tanto una mayor contribución en el rendimiento de fruta y aceite.

Con este antecedente, la Asociación Nacional de Cultivadores de Palma Aceitera (ANCUPA), en conjunto con la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), la Universidad Técnica de Manabí (UTM) y la empresa Servicios para la Palma y sus Derivados (SERPADER S.A.) llevaron a cabo un estudio de laboratorio y campo con los objetivos de: a) aislar cepas nativas de *Trichoderma* spp., b) caracterizar y seleccionar in vitro los aislados con mejores características de crecimiento, c) identificar mediante análisis molecular el aislado seleccionado y en fase de campo: d) determinar el efecto de la aplicación de un formulado de *Trichoderma* combinado con raquis en el desarrollo de raíces de la palma aceitera.

## II. METODOLOGÍA

### FASE DE LABORATORIO

## Colección de muestras

Durante el primer semestre de 2010 en cinco zonas palmicultoras de la provincia de Esmeraldas y Santo Domingo de los Tsáchilas (TABLA 1), se realizó la colecta de muestras de suelo realizando agujeros de 50 x 50 x 30 cm en la rizósfera, se obtuvo cinco submuestras de cada sitio muestreado para formar una muestra compuesta de aproximadamente 500 gramos. Las muestras debidamente identificadas fueron trasladadas en una nevera portátil al Laboratorio de Microbiología de ANCUPA ubicado en el km 37 ½ vía Santo Domingo-Quinindé.

**Tabla 1:** Cepas nativas de *Trichoderma* spp., aisladas y evaluadas en fase de laboratorio

Aislado	Codificación	Origen
<i>Trichoderma asperellum</i> *	T1	San Lorenzo-Mataje
<i>Trichoderma</i> sp.	T2	San Lorenzo-El Consuelo
<i>Trichoderma</i> sp.	T3	La Concordia
<i>Trichoderma</i> sp.	T5	San Lorenzo- km 5 vía Ibarra

\*La identificación molecular se realizó para esta cepa, mientras para el resto se realizó identificación morfológica.

## Aislamiento y purificación

En el aislamiento se utilizó el medio selectivo TSM para *Trichoderma* [9] enmendado con nitrato de calcio (1 g/l), nitrato de potasio (0,25 g/l), sulfato de magnesio (0,25 g/l), cloruro de calcio (1 g/l), ácido cítrico (0,05 g/l), sacarosa (2 g/l), agar (25 g/l), sulfato de estreptomycin (0,005 g/l), mancozeb (0,003 g/l) y alcohol etílico (0,50 ml/l). [10] Las muestras de suelo obtenidas se tamizaron y pesaron 10 g para disolverlos en 100 ml de agua destilada estéril, la solución madre se dispensó en medio de cultivo TMS. Además se utilizó el sistema de siembra en grumos depositando homogéneamente sobre la superficie de la caja Petri. Las cajas se incubaron en la estufa a 28 °C durante 14 días, para luego realizar la purificación en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (39,5 g/l).

Se realizaron preparados microscópicos en placas y se observó las características morfológicas del hongo comparándolas con claves especializadas en el Manual de Hongos Imperfectos de Barnett. [11]

## Pruebas de crecimiento

El crecimiento radial en mm/día se determinó mediante lecturas diarias del crecimiento con la ayuda de una regla graduada, desde el centro de la caja Petri hasta que el hongo alcanzó las paredes de la misma. [12] Se observó las características de producción de micelio y conidias, y metabolitos secundarios. Adicionalmente se determinó el crecimiento radial en medio de cultivo con diferentes niveles de pH (4, 5, 6 y 7) y temperatura (20, 25, 30 y 35°C).

## Identificación molecular:

El análisis molecular se realizó a través del Laboratorio de Biotecnología de la Estación Santa Catalina del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), para lo cual se envió cultivos monospóricos de *Trichoderma*. La amplificación de la región ITS del ADN ribosomal se realizó con los iniciadores ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). La secuenciación de los productos de PCR purificados en una concentración de 20 ng se realizó a través de la compañía comercial Macrogen, Inc. en Seúl, Corea del Sur.

## Multiplicación masiva de *Trichoderma*:

Para la multiplicación en sustratos orgánicos (arrocillo y cascarilla de arroz, relación 3:1 respectivamente), se siguió el protocolo del laboratorio de Microbiología de ANCUPA, para ello se empleó 500 g del sustrato esterilizado al vapor en dos ocasiones sucesivas durante 30 minutos a 121 °C y 15 psi. Una vez enfriado se inoculó con 40 ml de una suspensión de *Trichoderma* con una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC. El sustrato fue incubado por quince días, los primeros cinco días a 28 °C y 65% de humedad relativa (HR), los cinco días posteriores a 23 °C y 50% de HR y los últimos cinco días a 18 °C y 33% de HR. Posteriormente, se determinó la concentración mediante lecturas en la cámara de Neubauer.

## FASE DE CAMPO

El estudio en campo se ejecutó durante el período junio 2011- Enero 2013 en SERPADER S.A., ubicada en el km 50 vía Santo Domingo-Quinindé a una

altitud 280 m.s.n.m.; latitud: 0°20'00" S; longitud: 84°20'00" O; temperatura media: 24,35 °C; luminosidad: 5 horas/luz/día, humedad relativa: 70%; precipitación anual promedio: 3071,26 mm. El material de palma evaluado fue el híbrido intra-específico INIAP-Tenera de tres años de edad.

### Diseño estadístico

El factor en estudio fue la combinación del raquis y Trichoderma. Se evaluaron seis tratamientos, combinando raquis con tres cepas nativas y una cepa comercial (Trichoeb 5WP), un testigo solo con raquis y un testigo absoluto (TABLA 2). Se utilizó un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) con cinco repeticiones. Para el análisis estadístico, se utilizó covarianza (ANCOVA) con los datos de la primera evaluación de raíces como covariable.

**Tabla 2:** Tratamientos evaluados en fase de campo

Tratamiento	Descripción
1	Raquis + T1*
2	Raquis + T2*
3	Raquis + T3*
4	Raquis + Trichoeb 5WP (testigo comercial)
5	Raquis sin Trichoderma (tratamiento control)
6	Testigo absoluto

\*Orígenes detallados en tabla 1

### Aplicación de Trichoderma

Se utilizó 5 g de sustrato con una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC. Estos se agitaron en 2 litros de agua hasta la completa dispersión de las conidias en el agua. Se aplicaron 2 litros de la solución en la corona de cada planta, cubriendo un radio de 1,50 m desde la base del estipe. Después de la primera aplicación se distribuyó 250 kg de raquis alrededor de la corona de cada planta, distanciada a 0,5 m desde la base del estipe.

### VARIABLES EVALUADAS

Los parámetros evaluados en la planta fueron: a) longitud de raíces, b) peso fresco de raíces, c) peso seco de raíces, y d) porcentaje de materia seca de raíces.

Para determinar el peso fresco y peso seco de raíces, se realizó un hoyo de 50 cm de ancho x 50 cm de largo x 30 cm de profundidad, a una distancia de 1,50 m desde la base del estipe. Se recolectó todas las raíces presentes en el hoyo (primarias, secundarias, terciarias y cuaternarias) de dos plantas por unidad experimental y se registró el peso fresco de raíces con la ayuda de una balanza digital, y para el peso seco, las raíces fueron secadas previamente en una estufa a 75°C durante 48 horas, y después se determinó el peso seco.

Para determinar la longitud de raíces, primero se midió la longitud de todas las raíces primarias secas (R1) con una cinta métrica, y luego la longitud de las raíces secundarias, terciarias y cuaternarias se midió a través de la metodología propuesta por Newman. [13] Se colocó las raíces sobre una bandeja de área conocida, con cuadrículas de 1 cm<sup>2</sup>, para así, contar el número total de intersecciones entre las raíces y las cuadrículas. La longitud se determinó utilizando la ecuación:

$$R2 = (x N A) / H \quad \text{Ec. 1}$$

Dónde:

R2: Longitud de raíces (cm)

x: factor de corrección 1,57

N: Número de intersecciones (entre raíces y cuadrícula)

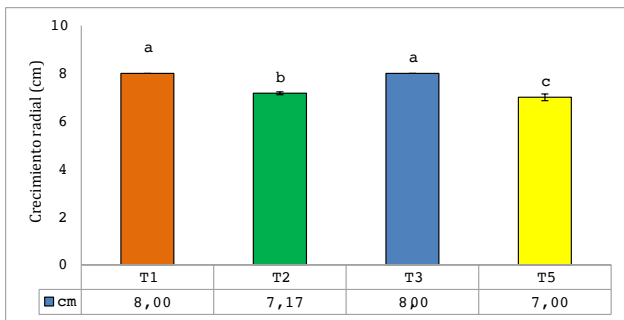
A: Área de la bandeja (cm<sup>2</sup>)

H: Longitud de la línea transversal de la bandeja (cm)

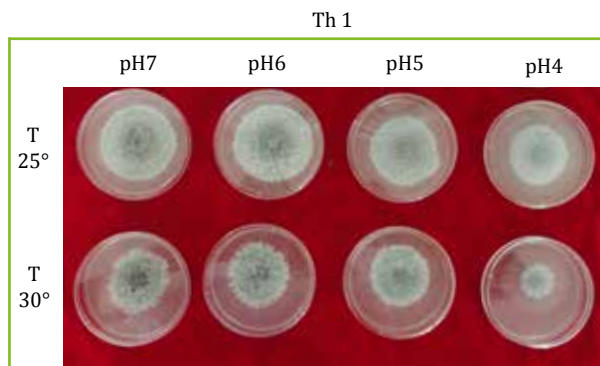
La longitud total de raíces se calculó con la fórmula:  $R1 + R2$ .

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

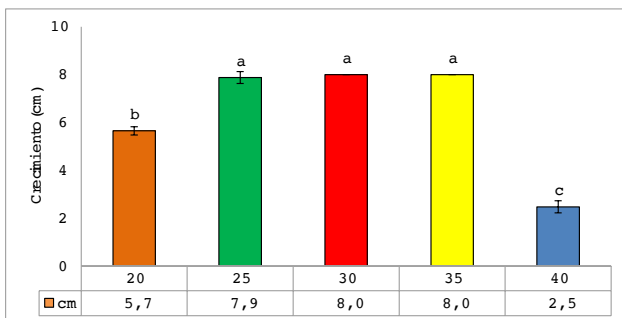
De las muestras procesadas se obtuvieron cuatro aislados de *Trichoderma* spp. (TABLA 1). El aislado de T3 presentó el mejor crecimiento radial con 8,00 cm al cuarto día de evaluación, siendo estadísticamente igual que el aislado T1 (8,00 cm), en contraste con los aislados T2 y T5 que obtuvieron 7,17 y 7,00 cm, respectivamente (Fig. 1). Adicionalmente, se determinó que los aislados de Trichoderma evaluados tienen un mejor crecimiento a pH entre 5 y 7 y que la temperatura idónea para el desarrollo del hongo está entre 25 y 35 °C (Fig. 2), y temperaturas superiores a 35°C limitan considerablemente su desarrollo (Fig. 3).



**Fig. 1.** Crecimiento radial de cuatro aislados de *Trichoderma* a los 4 días de crecimiento in vitro en laboratorio. Destacan los aislados T1 y T3. Tratamientos con igual letra no difieren entre sí (Tukey 5%).



**Fig. 2.** Efecto del pH y la temperatura en el desarrollo in vitro del aislado de *Trichoderma asperellum*



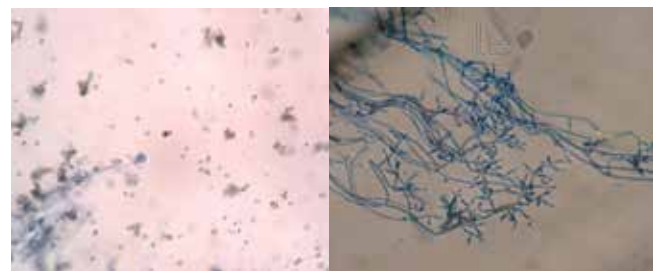
**Fig. 3.** Crecimiento radial de cuatro aislados de *Trichoderma* a los 4 días de crecimiento in vitro bajo diferentes temperaturas. Tratamientos con igual letra no difieren entre sí (Tukey 5%).

El análisis molecular se realizó al final del estudio. Las secuencias de la región ITS del ADN ribosomal del aislado de *Trichoderma* T1 comparada con las secuencias depositadas en el Gen Bank, a través del BLAST, mostró un porcentaje de homología del 99% con las secuencias de *Trichoderma asperellum* (TABLA 3).

**Tabla 3:** Identificación molecular del aislado T1 el género *Trichoderma*, utilizando la secuenciación de la región ITS del ADN ribosomal y el programa BLAST

Datos del aislado	Identificación en GenBank			
	Descripción	Número de acceso	Cobertura (%)	Homología (%)
T1	<i>Trichoderma asperellum</i>	JX270638.1	97	99

El aislado *Trichoderma* T1 identificado mediante análisis molecular como *T. asperellum*, se caracteriza por no producir pigmentación difusa en PDA, sin presencia de olor. Se observó fiálides en espiral con grupos de 2 a 4 con forma de botella, rectos, ligeramente alargados en la mitad. Las conidias fueron globosas a subglobosas u ovoides. Las clamidosporas fueron terminales, subglobosas a ovoides (Fig. 4). Estas son características propias de la especie *T. asperellum*. [14] Esta especie es considerada como un hongo antagonista controlador biológico, que protege al cultivo de los patógenos del suelo. [3]



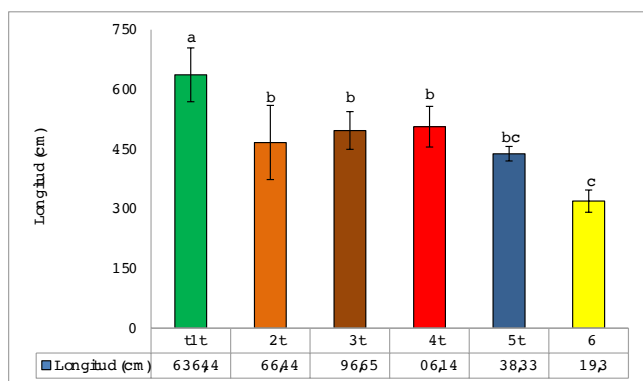
**Fig. 4.** Estructuras del hongo *Trichoderma asperellum* vistas en microscopio. Clamidospora y conidias (izquierda) y filialides (derecha). Aumento de 400X.

Con base a los resultados del estudio de laboratorio, para la fase de campo se utilizaron los aislados T3, T1 y T2, y se consideraron las variables peso fresco y peso seco de raíces.

### Longitud de raíces:

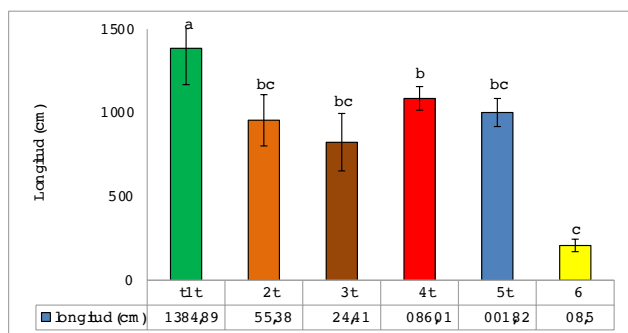
Según el Análisis de la Covarianza (ANCOVA), se registraron diferencias estadísticas para los tratamientos a los 6 meses de evaluación (Fig. 5). La mejor respuesta presentó el tratamiento 1 (*Trichoderma asperellum* + raquis) con 636,4 cm (20% de incremento con relación al segundo tratamiento). Los tratamientos 4, 3, 2 y 5, presentaron un menor crecimiento con 506,13, 496,64, 466,36 y 438,25 cm, respectivamente. La respuesta más baja en cuanto a crecimiento se presentó en el testigo con 319,33 cm.





**Fig. 5.** Longitud de raíces, en centímetros, obtenidos a los 6 meses de evaluación en la planta en cada tratamiento. Destaca el tratamiento con raquis enriquecido con *Trichoderma asperellum* (Tratamiento 1). Tratamientos con igual letra no difieren entre sí (Tukey 5%).

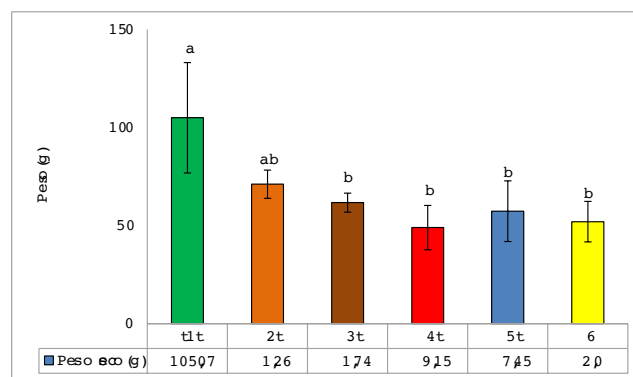
Para la segunda evaluación (18 meses), se registraron diferencias estadísticas para los tratamientos en estudio (Fig. 6). La mejor respuesta para crecimiento de raíces se presentó en el tratamiento 1 con 1384,8 cm (27,5% de incremento con respecto al segundo tratamiento en respuesta). El tratamiento 4 se ubicó en el segundo rango con 1086 cm; los tratamientos 2, 3 y 5, presentaron un menor crecimiento con 955,3, 824,4 y 1001,8 cm respectivamente. Adicionalmente, la respuesta más baja en cuanto a crecimiento se presentó en el testigo con 208,5 cm.



**Fig. 6.** Longitud de raíces, en centímetros, obtenidos, obtenidos a los 18 meses de evaluación en cada tratamiento. Destaca el tratamiento con raquis enriquecido con *Trichoderma asperellum* (Tratamiento 1). Tratamientos con igual letra no difieren entre sí (Tukey 5%).

**Peso seco de raíces:**

Según el ANCOVA, se registraron diferencias estadísticas para los tratamientos durante los 18 meses de evaluación (Fig. 7). El mejor peso seco de raíces se presentó en el tratamiento 1 con 105,0 gramos (47% de incremento con respecto al segundo tratamiento en respuesta). El resto de tratamientos (2, 3, 4, 5 y 6), tuvieron una menor respuesta con 71,2, 61,7, 49,1, 57,4 y 52 g respectivamente.



**Fig. 7.** Peso seco en gramos de raíces obtenidas en cada tratamiento. Destaca el tratamiento con raquis enriquecido con la cepa *Trichoderma asperellum* (Tratamiento 1). Tratamientos con igual letra no difieren entre sí (Tukey 5%).

Los resultados expuestos permiten identificar al tratamiento 1 como la más eficiente en el desarrollo del sistema radicular de la planta. Estos resultados demuestran el mayor desarrollo radicular de las plantas inoculadas con el microorganismo, combinado con el residuo de la palma.

Un sinnúmero de estudios han demostrado la acción del Trichoderma en la elongación radicular. Clouston [15] encontró una cepa nativa de Trichoderma (IT160) que incrementó la longitud y el peso seco de las raíces de *Impatiens walleriana*, en 20% y 42%, respectivamente, siendo significativamente superior, incluso, a la fitohormona IBA. También se ha reportado un incremento entre 38 y 62% en peso seco de raíces de *Cucumis sativus*. [16]

Es evidente el efecto de Trichoderma en el crecimiento de raíces, pero los mecanismos de su acción todavía no se entienden claramente, aunque los beneficios se deben a que el microorganismo es un oportunista simbiótico avirulento. [17] Se ha propuesto varias teorías de los mecanismos del efecto, como por ejemplo que: 1) Trichoderma compete con microorganismos patógenos, 2) produce sustancias promotoras de crecimiento, como ácido 3-indol acético que actúa como catalizador de los tejidos meristemáticos primarios de la planta [6] que promueven el desarrollo de un sistema mejorado de raíces, incrementando la absorción de nutrientes, y, 3) reduce las sustancias inhibitoras del crecimiento vegetal. [15,16]. Estas razones hacen que Trichoderma sea un microorganismo de alta importancia en el uso agrícola.

En cuanto al raquis, el efecto positivo en el

incremento del volumen radicular de la palma también ha sido documentado. Se demostró el efecto del control de la *Sagalassa valida*, y el aumento de la población de microorganismos benéficos, respectivamente. [1, 18] Además, el aporte de nutrientes al suelo con la aplicación de raquis es favorecido gracias al incremento del contenido de cationes intercambiables: potasio y magnesio, en un 1250% y 3000% respectivamente, [19] y favorece a la absorción de Potasio reflejado en el contenido foliar de la planta, [2] y fósforo disponible en la capa superficial del suelo, en un 350%. Además, la relación carbono-nitrógeno (C/N) en el raquis es alta (54), lo que favorece el establecimiento y la descomposición inicial por medio de los hongos benéficos. [19]

#### IV. CONCLUSIONES

*Trichoderma asperellum* y *Trichoderma* sp. T3 (tabla 1) mostró superioridad en el crecimiento radial in vitro, frente a las otras cepas de *Trichoderma* sp., bajo condiciones específicas de crecimiento en laboratorio.

El crecimiento in vitro de los aislados de *Trichoderma* sp., fue afectado por la temperatura, debido a las características edafoclimáticas de origen del hongo.

El presente estudio demuestra claramente el efecto positivo en la longitud y en el peso seco de raíces de palma, al combinar el *Trichoderma asperellum* más raquis, lo cual hace que esta combinación se convierta en una práctica recomendable para aumentar el volumen radical de la palma aceitera.

Con base a este estudio se recomienda la aplicación de *Trichoderma asperellum*, como parte del manejo de las mejores prácticas agronómicas del cultivo, que incluya fuentes de materia orgánica (ej. raquis) para facilitar el crecimiento del microorganismo benéfico y así potencializar su uso.

Es importante enfatizar que al utilizar raquis, este debe ser previamente enfriado a temperatura ambiente, y colocado uniformemente, dejando una distancia aproximada de 20 cm de la base del estipe, y sin amontonarlo, para permitir una suficiente ventilación para el crecimiento microbiano benéfico del suelo y el desarrollo radical. Se recomienda emplear esta práctica combinada principalmente durante los tres primeros años de crecimiento de

la palma, etapa crucial para conseguir en la planta vigor y tolerancia a plagas, y así acondicionarla para una etapa segura de buena producción de fruta.

Las aplicaciones se pueden realizar cada seis meses, para lograr el establecimiento del hongo en el suelo y por lo tanto en la rizósfera de la planta.

#### REFERENCIAS

- [1] ANCUPA (2007) "Control integrado del gusano barrenador de la raíz (*Sagalassa valida*) en el cultivo de la palma aceitera (*Elaeis guineensis* J.)", *Revista Palma*, 8(2), 15-17.
- [2] F. Recalde, M. Calvache (2008) "Evaluación de diferentes sistemas de mantenimiento de la corona de palma aceitera (*Elaeis guineensis* J.) sobre la absorción del potasio", Tesis para la obtención de Ingeniero Agrónomo. UCE. Quito, Ecuador.
- [3] C.R Howell (2003) "Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts", *Plant Dis.* 87, 4-10.
- [4] A. Sid-Ahmed, M. Ezziyyani, C. Pérez-Sánchez, M. Candela (2003) "Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annum*) plants", *Eur. J. Plant Pathol.* 109, 418-426.
- [5] A. Godes (2007) "Perspectivas de los inoculantes fúngicos en Argentina", *Denad Internacional*, pp. 11-14.
- [6] D. Vera, N. Valero, M. Cepeda (2007) "Microorganismos solubilizadores de fosfatos y bacterias fijadoras de nitrógeno en páramos y región cálida tropical", Colombia, pp. 169-183.
- [7] H. Valencia, J. Sánchez, N. Valero (2005) "Producción de ácido indolacético por microorganismos solubilizadores de fosfato presentes en la rizósfera de *Espeletia grandiflora* y *Calamagrostis effusa* del Páramo el Granizo", Unibiblos, Colombia, pp. 177-193.
- [8] Y. Brotman, U. Landau, Á. Cuadros-Inostroza, T. Takayuki, A. R. Fernie, I. Chet, A. Viterbo, L. Willmitzer (2013) "Trichoderma-Plant Root Colonization: Escaping Early Plant Defense Responses and Activation of the Antioxidant Machinery for Saline Stress Tolerance", *PLoS Pathog.* 9(3), e1003221.
- [9] Y. Elad, I. Chet I, y I. Henis (1981) "A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* sp. from soil", *Phytoparasitica*, 71, 59-67.
- [10] L. Núñez (2003) "Uso de Termoterapia y

Control Biológico para el Tratamiento de *Fusarium oxysporum* en Babaco”, Tesis para Master en Ciencias de Fitoprotección, Quito, pp. 90.

[11] H.L. Barnett, B.B. Hunter (1998) “Illustrated genera of imperfect fungi”, 4ta. Edición, APS Press, pp. 218.

[12] G. Abdel-Fattah, Y. Shabana, A. Ismail, Y. Rashad (2007) “*Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent against *Bipolaris orizae*”, *Mycophatologia*, 164, 81-89.

[13] E. Newman (1966) “A method of estimating the total length of root in a sample”, *Journal of applied ecology*, 3, 139-145.

[14] G. J. Samuels (2004) “Trichoderma a guide to identification and biology”, United States Dept. of Agriculture-Agricultural Research Service. Systematic Botany and Mycology Lab.

[15] A. Clouston, R. Hill, R. Minchin, M. Braithwaite, A. Stewart (2010) “A bioassay screening Trichoderma isolates for enhancement of root development in *Impatiens walleriana* cuttings”, *New Zealand plant protection*, 63, 33-38.

[16] L. Chaur-Tsuen, L. Chien-Yih (2002) “Screening strains of *Trichoderma* spp. for plant growth enhancement in Taiwan”, *Plant Pathology Bulletin*, 11, 215-220.

[17] G. Harman, C. Howell, A. Viterbo, I. Chet, M. Lorito (2004) “Trichoderma species-opportunistic, avirulent plant symbionts”, *Nat. Rev. Microbiol.* 2, 43-56.

[18] H. Calvache (2001) “El manejo integrado de plagas en el agroecosistema de la palma de aceite”, *Revista PALMAS*, 22(3), 51-60.

[19] R. Corley, P. Tinker (2009) “La palma de aceite”, Cuarta Edición, Versión en español, Blackwell Publishing Ltda, pp. 407-411.