



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS Y PECUARIAS**

**MAESTRÍA EN RECURSOS FITOGENÉTICOS POTENCIALES  
PARA LA AGRICULTURA**

**HIDROGEL Y HONGOS ENDÓFITOS NATIVOS PARA MEJORAR  
LA ADAPTACIÓN *ex vitro* DE PLANTAS DE BANANO**

**TESIS DE MAESTRÍA  
PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS EN RECURSOS FITOGENÉTICOS  
POTENCIALES PARA LA AGRICULTURA**

**PRESENTA  
DIANA CAROLINA RAMIREZ TORRES**

**DIRECTORA DE TESIS  
DRA. CARMELA HERNÁNDEZ DOMÍNGUEZ**

San Juan Acateno, Teziutlán, Puebla, México, diciembre de 2022



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRICOLAS Y PECUARIAS**

**MAESTRÍA EN RECURSOS FITOGENÉTICOS POTENCIALES  
PARA LA AGRICULTURA**

**HIDROGEL Y HONGOS ENDÓFITOS NATIVOS PARA MEJORAR  
LA ADAPTACIÓN *ex vitro* DE PLANTAS DE BANANO**

**TESIS DE MAESTRÍA  
PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS EN RECURSOS FITOGENÉTICOS  
POTENCIALES PARA LA AGRICULTURA**

**PRESENTA  
DIANA CAROLINA RAMIREZ TORRES**

**DIRECTORA DE TESIS  
DRA. CARMELA HERNÁNDEZ DOMÍNGUEZ**

**ASESORES  
DR. LUIS ANTONIO DOMÍNGUEZ PERALES  
DR. DELFINO REYES LOPEZ**

San Juan Acateno, Teziutlán, Puebla, México, diciembre de 2022

La presente tesis titulada: **HIDROGEL Y HONGOS ENDÓFITOS NATIVOS PARA MEJORAR LA ADAPTACIÓN *ex vitro* DE PLANTAS DE BANANO** realizada por **Diana Carolina Ramírez Torres**, ha sido revisada y aprobada por el siguiente consejo particular, para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN RECURSOS FITOGENÉTICOS  
POTENCIALES PARA LA AGRICULTURA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y PECUARIAS

Consejo particular integrado por:

Firma

Director: Dra. Carmela Hernández Domínguez

\_\_\_\_\_

Asesor: Dr. Delfino Reyes López

\_\_\_\_\_

Asesor: Dr. Luis Antonio Domínguez Perales

\_\_\_\_\_

San Juan Acateno, Teziutlán, Puebla, México, diciembre de 2022

Agradezco a la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por haberme otorgado la beca para poder obtener el grado de maestría.

El presente trabajo forma parte del Cuerpo Académico denominado: **BUAP-CA-355**  
**Agrobiotecnología y Recursos Naturales y de la Línea De Investigación: Control Biológico.**  
Dicho trabajo, fue financiado con recursos propios.

## **DEDICATORIA**

Por su puesto que a mi madre Elvira Torres, quien ha sido siempre un ejemplo a seguir y quien me ha apoyado para lograr todo lo que me propongo.

Mami estoy muy orgullosa de ti, eres la persona más importante en mi vida, te amo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi hermano A. Israel Ramírez por su paciencia y su compañía de toda la vida, quiero que sepas que estoy muy orgullosa de ti.

A Eduardo Tejeda Rodríguez y a su familia por su amabilidad, les estoy muy agradecida por permitirme instalar mi experimento en su hogar.

A Roberto Ortega gracias por tu invaluable amistad, eres una persona auténtica, te adoro y quiero verte cumplir tus metas.

A Fernando Lechuga gracias por tu ayuda y por tu tiempo, sin ti me hubiera sido muy difícil.

Gracias a mi directora Dra. Carmela Hernández y asesores Dr. Delfino Reyes y Dr. Luis A. Domínguez su tiempo y paciencia.

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
<b>INDICE DE CUADROS</b> .....	<b>iv</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>v</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>vi</b>
<b>ABSTRAC</b> .....	<b>vii</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II. OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
2.1. General .....	3
2.2. Específicos .....	3
<b>III. HIPÓTESIS</b> .....	<b>4</b>
<b>IV. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>5</b>
4.1. Hongos endófitos .....	5
4.1.1. Beneficios de los hongos endófitos .....	5
4.1.2. Problemática de la aclimatación en el cultivo <i>in vitro</i> y beneficios de los hongos endófitos .....	6
4.1.3. Clasificación de los hongos endófitos .....	6
4.2. Procesos de propagación del banano.....	7
4.2.1. Proceso de aclimatación de vitroplantas de banano .....	8
4.2.2. Origen y distribución del banano .....	9
4.2.3. Importancia del banano .....	10
4.3. Hidrogeles o polímeros absorbentes .....	10
4.3.1. Características del hidrogel .....	10
4.3.2. El uso del hidrogel en la agricultura.....	11
1.3.3. Benéficos del hidrogel en las plantas .....	12

4.3.4.	El estrés hídrico en las plantas.....	12
4.3.5.	La biodegradación del hidrogel .....	13
<b>V.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
5.1.	Lugar del experimento .....	17
5.2.	Obtención de hongos y material vegetal utilizados en el experimento .....	18
5.3.	Preparación del sustrato .....	19
5.4.	Determinación de la concentración de esporas de hongos endófitos.....	19
5.5.	Aplicación del hidrogel al sustrato.....	20
5.6.	Inoculación con hongos endófitos al sustrato con hidrogel .....	20
5.7.	Trasplante de plántulas <i>in vitro</i> a <i>ex vitro</i> e inoculación a raíz con hongos endófitos....	20
5.8.	Proceso de aclimatación de plántulas de banano .....	21
5.9.	Diseño experimental.....	22
5.10.	Variables a evaluar.....	23
5.10.1.	Supervivencia de esporas de hongos endófitos en el sustrato con hidrogel (SE) .....	23
5.10.2.	Longitud de raíz de plantas de banano (LR).....	23
5.10.3.	Diámetro de raíz de plantas de banano (DR) .....	24
5.10.4.	Longitud de plantas de banano (LP).....	24
5.10.5.	Número de hojas de plantas de banano (NH) .....	24
5.10.6.	Peso seco de raíz de plantas de banano (PSR).....	25
5.10.7.	Peso seco de tallo y hojas de plantas de banano (PSTH).....	25
5.10.8.	Colonización de cepas de hongos endófitos en raíz de plantas de banano (CH). .....	26
5.11.	Análisis estadístico.....	26
<b>VI.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>27</b>

6.1.	Supervivencia de esporas en el sustrato con hidrogel .....	27
6.2.	Desarrollo radicular y vegetativo en plántulas de banano <i>ex vitro</i> .....	28
6.2.1.	Longitud de raíz.....	28
6.2.2.	Diámetro de raíz .....	30
6.2.3.	Longitud de planta .....	31
6.2.4.	Número de hojas.....	33
6.2.5.	Peso seco de raíz, tallo y hoja.....	34
6.3.	Evaluación de la eficacia de colonización en raíces .....	35
<b>VII.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>38</b>
<b>VIII.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>39</b>
<b>IX.</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>50</b>

---

## INDICE DE CUADROS

Contenido	Pagina
<b>Cuadro 1.</b> Clasificación de criterios utilizados según la acción de hongos endófitos en las plantas.....	7
<b>Cuadro 2.</b> Estudios realizados con hidrogel.....	13
<b>Cuadro 3.</b> Descripción de especies de hongos endófitos utilizados.....	18
<b>Cuadro 4.</b> Tratamientos formados para el experimento de aclimatación de vitroplantas de banano.....	19
<b>Cuadro 5.</b> Programación del temporizador.....	21
<b>Cuadro 6.</b> Comparación de medias de cuadrados mínimos obtenidos con Kruskal Wallis de colonización de <i>Trichoderma longibrachiatum</i> en raíz de banano.....	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Contenido</b>	<b>Pagina</b>
<b>Figura 1.</b> Localización de El Jobo, Tlapacoyan .....	17
<b>Figura 2.</b> Estructura de acero en la que se dispusieron los tratamientos del experimento.....	22
<b>Figura 3.</b> Supervivencia de esporas en el sustrato con hidrogel después de tres meses de inoculación.....	28
<b>Figura 4.</b> Longitud de raíz de plántulas de banano después de tres meses del trasplante.....	30
<b>Figura 5.</b> Diámetro de raíz de plántulas de banano después de tres meses del trasplante.....	31
<b>Figura 6.</b> Longitud de plántulas de banano después de tres meses del trasplante.....	32
<b>Figura 7.</b> Numero de hojas de plántulas de banano después de tres meses del trasplante.....	33
<b>Figura 8.</b> Peso seco de raíz de plántulas de banano después de tres meses del trasplante.....	34
<b>Figura 9.</b> Peso seco de tallo y hojas de plántulas de banano después de tres meses del trasplante.....	35

## RESUMEN

Los beneficios de las especies de *Trichoderma* spp. asociadas a plantas son numerosos, y más aún si estas especies se mantienen por más tiempo en esta asociación. En el presente estudio se evaluó el efecto de hongos endófito y epífita en sustrato con hidrogel para la aclimatación de vitroplantas de banano oaxaqueño de nueve semanas de edad. Se utilizaron 10 aislados de *Trichoderma longibrachiatum* con comportamiento endófito y epífita, se inocularon en 144 vitroplantas de banano y se trasplantaron en sustrato con hidrogel. Las variables evaluadas fueron supervivencia de conidias en sustrato, longitud de raíz, diámetro, longitud de planta, número de hojas, peso seco de raíz tallo y hoja, y endofitismo de los aislados en raíz. El análisis de varianza mostró diferencia estadística significativa ( $P \leq 0.001$ ) entre tratamientos sobre la supervivencia de conidias, y de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), el mejor tratamiento fue el aislado V IV 2.1 con 98% de supervivencia. Tanto para desarrollo radicular como vegetativo en plántulas de banano *ex vitro* hubo diferencia significativa  $P \leq 0.0001$  entre los tratamientos. El mejor resultado en longitud de raíz, peso seco de raíz, tallo y hoja de acuerdo con la prueba Tukey a ( $P \leq 0.05$ ) se obtuvo con el aislado O I 3.2. Los aislados V IV 2.1, O I 5 M 3, O II 1 R O, P IV 5 R O tuvieron efecto similar al testigo sobre el número de hojas, por lo que se descartó efecto por la combinación de hidrogel con los aislados, o al hidrogel sin combinar. La comparación de medias de cuadrados mínimos obtenidos con Kruskal Wallis mostró que el aislado O III 3 M 3 tuvo mejor eficacia de colonización de raíz con 48.3 % seguido del V IV 2.1 con 43.3 % y O I 3.2 con 42%.

**Palabras clave:** Epífita, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma* spp.

## ABSTRAC

The benefits of *Trichoderma* spp. associated with plants are numerous, and even more so if these species remain longer in this association. In present study , it was evaluated the efecto of endophitic and epifictic. n the present study, the effect of endophytic and epiphytic fungi in a hydrogel substrate for the acclimatization of nine-week-old Oaxacan banana plants in vitro was evaluated. Ten isolates of *Trichoderma longibrachiatum* with endophytic and epiphytic behavior were used, inoculated in 144 banana vitroplants and transplanted in substrate with hydrogel. The variables evaluated were survival of conidia on substrate, root length, diameter, plant length, number of leaves, dry weight of root stem and leaf, and endophytism of root isolates. Analysis of variance showed significant statistical difference ( $P \leq 0.001$ ) between treatments on conidia survival, and according to Tukey's test ( $P \leq 0.05$ ), the best treatment was isolate V IV 2.1 with 98% survival. For both root and vegetative development in *ex vitro* banana seedlings there was significant difference  $P \leq 0.0001$  among treatments. The best result in root length, root, stem and leaf dry weight according to Tukey a test ( $P \leq 0.05$ ) was obtained with isolate O I 3.2. The isolates V IV 2.1, O I 5 M 3, O II 1 R O, P IV 5 R O had similar effect to the control on the number of leaves, so the effect was ruled out by the combination of hydrogel with the isolates, or to the hydrogel without combining. The comparison of least squares means obtained with Kruskal Wallis showed that the isolate O III 3 M 3 had better root colonization efficiency with 48.3 % followed by V IV 2.1 with 43.3 % and O I 3.2 with 42%.

**Key words:** Epiphyte, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma* spp.

## I. INTRODUCCIÓN

Los hongos endófitos se definen como microorganismos que pasan la mayor parte o todo su ciclo de vida colonizando los tejidos de la planta hospedera, sin causar daño evidente (Sánchez *et al.*, 2013), beneficiando a la planta huésped evitando que los organismos patógenos la colonicen (Sudha *et al.*, 2016). Algunos de los beneficios de estos hongos son la estimulación del crecimiento, la resistencia a enfermedades, mejoran la resistencia al estrés ambiental y el reciclado de nutrientes (Sturz & Nowak, 2000), del mismo modo pueden producir metabolitos secundarios que inhiben a un patógeno en particular o a otros hongos endófitos compitiendo por espacio y nutrientes (Sánchez *et al.*, 2013). Por otro lado, según (Kusari *et al.*, 2012) los metabolitos secundarios derivados de la interacción planta-hongos endófitos se han usado para el desarrollo de productos nematicidas, fungicidas, insecticidas y herbicidas. Todos estos beneficios intervienen de manera directa o indirecta en la adaptación de las plantas, incluyendo aquellas que son reproducidas por la técnica *in vitro* donde el principal reto es disminuir la mortalidad en la etapa de aclimatación. En esta etapa la planta necesitan adaptarse a su nuevo entorno en condiciones *ex vitro*, y uno de los principales problemas son las altas tasas de evapotranspiración lo que resulta en estrés hídrico que conlleva a la muerte (Irsyadi, 2021).

Una de las formas de contrarrestar el estrés hídrico en el proceso de aclimatación es el uso de hidrogel, el cual aumenta la retención de agua en el suelo y mitigar los efectos de los climas secos (Macías *et al.*, 2008). El hidrogel es un polímero súper absorbente de agua y otras soluciones acuosas que al ser incorporado a suelo o al sustrato puede mejorar sus propiedades (Montesano *et al.*, 2015).

Aunque el hidrogel se ha utilizado en cultivos como el pepino (Macías *et al.*, 2019) y el tabaco (Huang *et al.*, 2018) para mejorar el crecimiento y desarrollo de las plantas y en maíz para potenciar la actividad de los microorganismos presentes en el suelo (Yang *et al.*, 2014), se sabe muy poco acerca de la interacción de los hongos endófitos con hidrogel y su potencial en plantas de banano en etapa de aclimatación. Por lo cual, en este estudio se evaluó

el efecto de hidrogel y hongos endófitos en la etapa de aclimatación en plantas *in vitro* de plantas de banano oaxaqueño.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. General

Evaluar el efecto de cepas de *Trichoderma longibrachiatum* endófitas y epífitas en sustrato con hidrogel para la aclimatación de vitroplantas de banano oaxaqueño.

### 2.2. Específicos

Evaluar la supervivencia de esporas de 10 cepas de hongos endófitos y epífitas en sustrato con hidrogel.

Evaluar el desarrollo radicular y vegetativo en plantas de banano *ex vitro* usando sustrato con hidrogel y hongos endófitos y epífitas.

Evaluar la eficacia de colonización de 10 cepas de hongos endófitos y epífitas en plántulas de banano *ex vitro*.

### **III. HIPÓTESIS**

De las 10 cepas de hongos con hidrogel, las cepas endófitas tendrán mejor eficiencia en el desarrollo radicular y vegetativo en plantas *ex vitro* de banano.

## IV. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1. Hongos endófitos

La palabra endófito etimológicamente significa dentro de la planta (endon: dentro, phyton: planta) (Sánchez *et al.*, 2013). En un principio, el término endófito se refería a cualquier organismo que colonizara el interior de los tejidos de las plantas, pero fue Wilson en 1995 quien restringió el término únicamente a microorganismos, refiriéndose sólo a bacterias y a hongos que no provocan daño aparente a la planta hospedera. Actualmente, este término se refiere a bacterias, hongos, algas e insectos (Macías *et al.*, 2008), en donde los hongos son los microorganismos que se han aislado con mayor frecuencia como endófitos (Kusari *et al.*, 2012).

#### 4.1.1. Beneficios de los hongos endófitos

Los hongos endófitos pueden proteger a su planta hospedera de patógenos y plagas (Arnold *et al.*, 2003). Los endófitos foliares pueden reducir el ataque de herbívoros al producir alcaloides los cuales resultan tóxicos para los insectos y vertebrados (Schardl, 2001). Además pueden promover activa o pasivamente el crecimiento de la planta a través de una gran variedad de mecanismos, como metabolitos endófitos proporcionan una variedad de adaptaciones a la planta hospedera mejorando la resistencia a estrés por factores bióticos y abióticos (Sudha *et al.*, 2016). Muchos endófitos son capaces de solubilizar fosfato, mejorar la absorción de fósforo (P), la fijación de nitrógeno (N), la producción de sideróforos y hormonas vegetales como auxina, abscisinas, etileno, giberelinas y ácido indol acético (AIA), los cuales son importantes para la regulación del crecimiento de las plantas (Firáková *et al.*, 2007).

#### **4.1.2. Problemática de la aclimatación en el cultivo *in vitro* y beneficios de los hongos endófitos**

El cultivo de tejidos es un método de propagación de plantas el cual se realiza mediante el aislamiento de células, tejidos, protoplastos u órganos vegetales cultivados en medio artificial, en ambientes controlados y estériles. Este método es usado para obtener plantas superiores, libres de patógenos y extracción de metabolitos secundarios, sin embargo, la clave para una propagación exitosa es una buena aclimatación la cual es la última etapa en el cultivo de tejidos donde las plantas se adaptan de condiciones heterótrofas (*in vitro*) a condiciones autotróficas (*in vivo*) (Irsyadi, 2021) y es donde muchas plantas mueren reduciendo la producción (Kasutjjaningati *et al.*, 2020). De manera general, el método de propagación de cultivo de tejidos tiene una alta tasa de mortalidad en la etapa de aclimatación, por lo que se ha reportado que el porcentaje de plantas que sobreviven hasta la adultez fluctúa entre 40-60 % (Irsyadi, 2021).

#### **4.1.3. Clasificación de los hongos endófitos**

Los hongos endófitos se dividen en dos grandes grupos (Cuadro 1) el primer grupo son los Clavicipitáceos, hongos generalmente mutualistas esto quiere decir que defienden a su planta hospedera del ataque de plagas, el segundo grupo son los no Clavicipitáceos que pueden colonizar a las plantas angiospermas, coníferas helechos y plantas no vasculares (Rodríguez *et al.*, 2009).

**Cuadro 1. Clasificación de criterios utilizados según la acción de hongos endófitos en las plantas.**

CLAVICIPITÁCEOS		NO CLAVICIPITÁCEOS		
CRITERIO	CLASE 1	CLASE 2	CLASE 3	CLASE 4
Rango de hospedero	Reducido	General	General	General
Tejidos que coloniza	Brotes y rizomas	Brotes, raíces y rizomas	Brote	Raíces
Grado de colonización en la planta	Amplio	Amplio	Limitado	Amplio
Diversidad en la planta	Bajo	Bajo	Alto	Desconocido
Función ecológica	Incrementan la biomasa de las plantas, confieren tolerancia a la sequía y producen metabolitos secundarios tóxicos para los herbívoros.	Incrementan la biomasa de las plantas, confieren tolerancia al estrés biótico y abiótico y protegen contra los hongos patógenos por acción de los metabolitos secundarios.	Inducen resistencia a las enfermedades, protección contra herbívoros y modifican la sensibilidad al estrés abiótico mediante la producción de metabolitos secundarios.	Inhiben el crecimiento de patógenos y producen metabolitos secundarios tóxicos para los herbívoros.

Fuente: (Rodríguez *et al.*, 2009).

#### **4.2. Procesos de propagación del banano**

Según Galan *et al.* (2018) existen cinco diferentes etapas que deben pasar las plantas de banano que son propagados *in vitro* hasta llegar a la aclimatación:

Fase de preparación: Se selecciona la planta madre, es decir la planta de la que se toman los explantes, esta planta debe ser vigorosa, se deben tomar brotes de rizomas que

hayan estado en contacto con suelos con enfermedades ya que esto disminuirá la contaminación en la fase de establecimiento.

Fase de establecimiento: Esta fase tiene como objetivo lograr establecer el cultivo en condiciones *in vitro* donde las plantas sean vigorosas fisiológicamente teniendo en cuenta el tamaño del explante, mientras más chico sea menos riesgo de contaminación habrá.

Fase de multiplicación: Como lo indica el nombre es realizar diferentes técnicas para obtener un mayor número de plantas, en esta fase se realizan cuatro procedimientos para estimular la multiplicación; i) decapitado del área foliar, ii) cortes en el área de unión del tallo y la raíz, iii) corte vertical del ápice vegetativo y iv) obtención de ápices vegetativos. Se realiza hasta obtener plantas completas, es decir con hojas desarrolladas.

Fase de enraizamiento: El objetivo de esta etapa es que las plántulas estén preparadas para la siguiente fase, las plantas obtenidas en la fase anterior deben ser trasladadas a un medio de cultivo que favorezca el desarrollo y crecimiento de raíces lo que les permitirá ser trasplantadas a condiciones *ex vitro*.

Fase de aclimatación: Es la fase donde deben ser sacadas del ambiente *in vitro* y trasplantadas para que gradualmente se adapten a las condiciones externas.

#### **4.2.1. Proceso de aclimatación de vitroplantas de banano**

Las plantas procedentes del ambiente estéril del laboratorio deben ser endurecidas con extremo cuidado regulando al máximo las condiciones ambientales (luz, agua, temperatura, humedad y viento) antes de su transferencia a un vivero sombreado, mientras que el lugar de la aclimatación puede ser un invernadero normal con cubierta de polietileno y con una doble puerta de entrada por razones higiénicas y debe evitarse temperaturas por debajo de 13°C o por encima de 35°C (Galan *et al.*, 2018).

Durante el período de aclimatación que dura entre 1 a 4 semanas se induce la transferencia del metabolismo heterotrófico al autotrófico realizándose modificaciones graduales, tales como un progresivo aumento de la irradiación y una gradual disminución de

la humedad relativa del aire que permita a la planta tener un mayor control sobre la pérdida y absorción de agua (Smith *et al.*, 1986). La fase de aclimatación se realiza normalmente en invernadero bajo condiciones ambientales de baja humedad relativa, alta intensidad lumínica y ambiente aséptico. De igual manera, el aumento de la irradiación durante la fase de enraizamiento puede contribuir a la reducción de las pérdidas, tornándose menos frágiles cuando se trasladan del ambiente *in vitro* al ambiente *ex vitro* (Capellades *et al.*, 1990), en viveros con sombreado inicial de hasta un 70 % durante los primeros 15 días, transcurridos los primeros quince días, el sombreado debe ser reducido al 50 % e incluso exponer al final las plantas a plena luz antes de proceder a su traslado al vivero y disminuir la aportación de agua a las hojas para evitar la incidencia de antracnosis (Galan *et al.*, 2018). La humedad relativa debe mantenerse al 90 % durante la primera semana y luego entre 50 y 90 % durante el resto de esta fase (Robinson & Sáuco, 2009).

#### **4.2.2. Origen y distribución del banano**

El banano es procedente del Sudeste Asiático, en específico de Papúa Nueva Guinea de acuerdo con vestigios encontrados que indican que este sitio fue el lugar de origen, aunque en la actualidad todavía se encuentra en estado salvaje en Filipinas e incluso en Papúa Nueva Guinea e Indonesia (Robinson & Galán, 2012; Lassoudière, 2010).

Según Robinson y Galán (2012) no se conoce con exactitud cómo fue la difusión inicial del cultivo de banano desde su centro de origen a otros lugares, sin embargo, se describen las principales etapas; en el año 500 d. C se introduce el banano a África desde Indonesia a través de Madagascar llegando al año 1000 d. C el cultivo se dispersa en las islas polinesias y se comienza su introducción en el mediterráneo, después se sabe del cultivo hasta el año 1300 al 1400 donde los bananos procedentes de África Occidental se comienzan a introducir a las Islas canarias mientras que en el año 1516 desde las islas canarias inicia su introducción al nuevo mundo desde la ciudad que hoy en día Santo Domingo, República Dominicana y es cuando comienza su distribución en las zonas tropicales de América del año 1500 a 1800. Mientras que para inicios del siglo XIX se introducen al nuevo mundo los cultivares Pequeña Enana” y “Gros Michel” directamente del Sudeste asiático a finales de

este mismo siglo se inicia el comercio internacional, a comienzos del siglo XX el banano se convierte en un alimento de consumo generalizado en los mercados de los países de clima templado del hemisferio occidental y también del Sudeste de Asia y a finales de este siglo se creó la Organización Común del Mercado (OCM) para la banana en la Unión Europea basada en un sistema de contingentes y otras ayudas compensatorias para los productores europeos y países ACP (África, Caribe y Pacífico) y para el siglo XXI las continuas quejas de los países del área dólar conducen a la adopción de un sistema exclusivamente arancelario en el mercado de la Unión Europea. Las bajas tarifas aplicadas a las importaciones de bananas procedentes del área dólar acentúan la tendencia a un mercado de bananas más liberalizado y se alcanza un acuerdo final en 2010.

#### **4.2.3. Importancia del banano**

Actualmente a nivel mundial los principales países productores de banano son India, Filipinas, China, Ecuador, Brasil, Indonesia, Tanzania, Guatemala, Costa Rica y México. Este último en el 2017 ocupó el décimo lugar con una producción de 2, 232,360 millones de toneladas, en una superficie de 75,810 hectáreas, las cuales tuvieron un rendimiento de 29.4 toneladas por hectárea, esto representó una producción del 2% (FAO, 2017). Actualmente, los estados que sostienen la producción mexicana de plátano son Chiapas, Tabasco, Veracruz, Nayarit, Michoacán, Colima, Jalisco, Guerrero, Oaxaca y Puebla generando un total de 4, 787,969 millones de pesos mexicanos (FAO, 2017; SE, 2012).

### **4.3. Hidrogeles o polímeros absorbentes**

#### **4.3.1. Características del hidrogel**

Un hidrogel es una red de cadenas poliméricas hidrofílicas reticuladas y es clasificado en dos principales grupos de acuerdo a sus propiedades fisicoquímicas. El primer grupo es un hidrogel reversible, en el cual las cadenas de polímeros están unidas por fuerzas electrostáticas, enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas. Se caracteriza por su inestabilidad y se convierte en una mezcla de polímeros aplicando calor, tales como la

gelatina y el agar. El segundo grupo es más estable químicamente en el cual las cadenas de polímeros están unidas por enlaces covalentes tales como el almidón y los monómeros de vinilo (Elshafie & Camele, 2021).

Existen muchos tipos de hidrogeles pero el que es utilizado en la agricultura es el poliácido de potasio o también llamado poliácido de sodio, ya que tienen un uso prometedor en la agricultura debido a su fácil degradación en los suelos (Elshafie *et al.*, 2020).

#### **4.3.2. El uso del hidrogel en la agricultura**

El hidrogel es un polímero hidrófilo superabsorbente que es capaz de expandirse con el agua (Ahmed, 2015), es utilizado en el campo de la agronomía por su principal característica la cual es incrementar la retención de agua en los suelos y por lo tanto evita el estrés hídrico en las plantas (Macías *et al.*, 2019; Satriani *et al.*, 2018), ya que las plantas aumentan su raíz a mayor humedad disponible en el suelo (Rivera *et al.*, 2021). Se estima que la vida útil del hidrogel en suelos es de 3 a 5 años, sus componentes hacen que sea susceptible a degradarse. Tienen cuatro características principales que los hacen apropiados para los suelos: a) Absorben y retienen el agua cientos de veces su propio peso liberándola lentamente, b) protegen al suelo de la reducción por falta de humedad, c) mejoran el rendimiento de diferentes fertilizantes que se aplican en el suelo y d) mejoran la actividad de los microorganismos presentes en el suelo. (Gokavi *et al.*, 2018; Thombare *et al.*, 2018; Deaker *et al.*, 2007).

El uso de hidrogeles influye directamente en la permeabilidad, densidad estructural, textura y en la tasa de evaporación e infiltración del agua en los suelos (Guilherme *et al.*, 2015). Por otra parte, tienen un amplio rango de aplicación desde el área forestal, plantaciones industriales, jardines de áreas públicas y privadas, en el manejo de áreas con acceso limitado al recurso hídrico y conservación del agua, hasta pequeñas plantaciones y huertos de traspatio (Guilherme *et al.*, 2015).

### **1.3.3. Benéficos del hidrogel en las plantas**

El uso de polímeros absorbentes o también llamados hidrogeles tienen muchos beneficios, tales como conservación de la humedad, reducción de la escorrentía superficial, evita la erosión de los suelos, mejorar la calidad del suelo, resistencia al estrés biótico y abiótico, reducción de la frecuencia de riego por lo que reduce el consumo de agua, disminuye el abuso de fertilizantes y pesticidas en los campos y reduce la tasa de evapotranspiración en las plantas (Elshafie & Camele, 2021), los hidrogeles son macromoléculas sintéticas que tienen la capacidad de retener más cien veces su peso en agua (Sinha, 2018) la aplicación de estos polímeros en la agricultura es muy importante puesto que absorben el agua y la mantiene disponible para las plantas por más tiempo (Akhter *et al.*, 2004) por lo tanto minimiza el impacto del estrés hídrico en los cultivos (Gokavi *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2014) evitando la percolación puesto que las partículas de hidrogel actúan como reservorios de agua en la zona de la raíz (Abdallah, 2019; Thombare *et al.*, 2018; Mandal *et al.*, 2015). El uso de estos polímeros juega un rol muy importante mejorando la microbiota del suelo, por ejemplo, estudios realizados por Yang *et al.* (2014) en el uso del hidrogel poli-glutámico en el cultivo de maíz mostraron el aumento de crecimiento de las plántulas de maíz, además de mejorar la abundancia de colonias de bacterias promotoras de crecimiento en las plantas tales como *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Burkholderia*.

### **4.3.4. El estrés hídrico en las plantas**

El estrés por sequía debido a la falta de agua en el suelo tiene un efecto negativo en las plantas ya que se producen radicales de oxígeno y peroxidación lipídica (Elshafie & Camele, 2021), mientras que este último puede producir impactos negativos en la morfología de las plantas como retraso del crecimiento en la altura, disminución del área foliar (Wei & Durian, 2014).

#### 4.3.5. La biodegradación del hidrogel

El hidrogel es muy sensible y puede ser absorbido fácilmente por los tejidos de las plantas (Pathak & Ambrose, 2020), mientras que estos se degradan fácilmente cuando se exponen a los rayos ultravioleta o por la acción de los microorganismos del suelo ya sea en actividad aeróbica o anaeróbica se degrada en agua, dióxido de carbono y compuestos nitrogenados la biodegradación de los hidrogeles de acrilato es del 1 al 9% por año en condiciones anaerobias similares a la descomposición de la materia orgánica en zonas forestales (Elshafie & Camele, 2021).

Aunque existen diversos estudios sobre el hidrogel en el cuadro 2 se muestran los relacionados a desarrollo y crecimiento en plantas y asociación con la microbiota del suelo.

**Cuadro 2. Estudios realizados con hidrogel**

<b>AUTORES</b>	<b>EFEECTO</b>
Ortega <i>et al.</i> (2020)	Rendimiento de 2.3. kg/m <sup>2</sup> , obtención de un rendimiento igual a que el pepino con riego convencional.
Satriani <i>et al.</i> (2018)	Disminuye el estrés hídrico en los cultivos ya que retiene agua.
Barón <i>et al.</i> (2007)	El uso de hidrogel en <i>Picea abies</i> , <i>pinus sylvestris</i> y <i>fagus sylvatica</i> tuvo un efecto de mayor tasa de supervivencia.
Chirino <i>et al.</i> (2011)	Recomiendan una dosis de 1.5% de hidrogel para obtener mayor efectividad en sus benéficos.
Geesing y Schmidhalter, (2004)	El hidrogel no influyó significativamente en la supervivencia o en el crecimiento en el cultivo de <i>Triticum aestivum</i> .
Rivera <i>et al.</i> (2021)	Las raíces de las plantas pueden ampliar su sistema radicular con mayor volumen de humedad en el suelo, lo que hace más eficiente el crecimiento, inclusive si el hidrogel se aplica de forma localizada.

Liu <i>et al.</i> (2008)	Los agentes que retienen agua, como el hidrogel, pueden promover la fotosíntesis y la acumulación de biomasa en el cultivo de la papa.
Yang <i>et al.</i> (2010)	El hidrogel aumentó el contenido de humedad en el suelo y la acumulación de materia seca en Trigo de invierno.
Huang <i>et al.</i> (2018)	El uso de hidrogel en tabaco aumentó el peso de planta, diámetro de tallo, el número de hojas y el área foliar máxima. También mejoró la actividad radicular. Mientas que reduce las actividades de las enzimas peróxido dismutasa (SOD), Peroxidasa (POD) y Catalasa (CAD), que son enzimas segregadas para contrarrestar el estrés hídrico.
Guan y Wu (2007)	Mostraron que el hidrogel puede retener el 90% de agua aplicada pero aproximadamente 2/3 de esta agua es aprovechada por la planta.
Yang <i>et al.</i> (2020)	Encontraron que el uso de hidrogeles en plántulas de maíz mejora la actividad de microorganismos beneficiosos de suelo, mejora la distribución de la humedad, aumento el crecimiento de plántulas de maíz y mejora la abundancia de bacterias promotoras del crecimiento de las plantas como <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> y <i>Burkholderia</i> .
Chaithra y Sridhara, (2018); Yadollahi <i>et al.</i> (2012)	Mejora la comunidad microbiana del suelo.
Pattanaaik <i>et al.</i> (2015)	Mejoró la capacidad de retención del agua, manteniendo la humedad por más tiempo por lo que la actividad microbiana del suelo mejoró al ser aplicado en el cultivo de limón.
Pieve <i>et al.</i> (2013)	Redujo la mortalidad de plantas de café.
Eneji <i>et al.</i> (2013); Karimi <i>et al.</i> (2009)	Para tener un mejor efecto en la remediación del suelo y crecimiento de plantas, aumento de la tasa fotosintética y

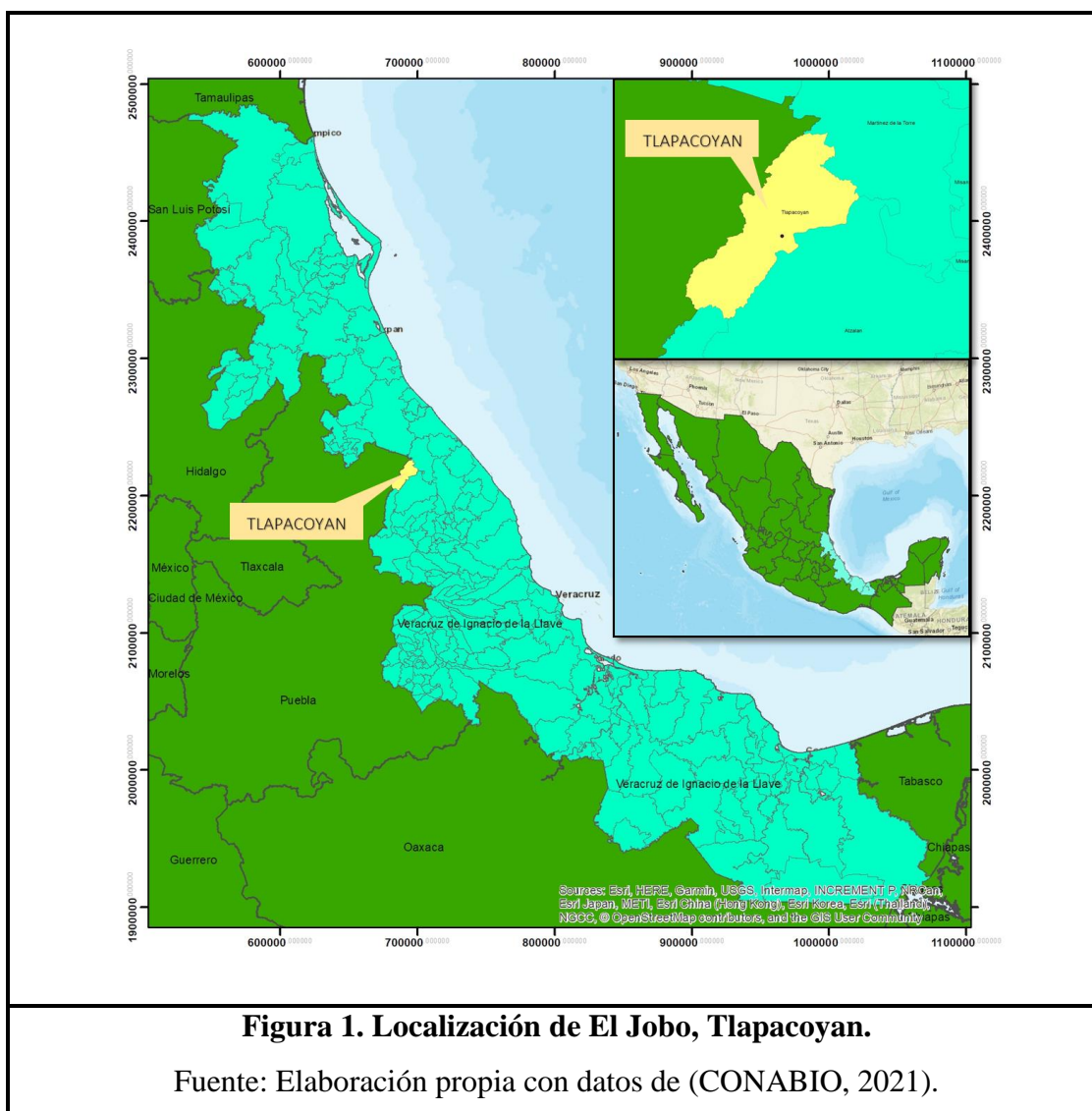
	rendimiento de los cultivos sugieren que el hidrogel debe aplicarse en el suelo a una profundidad de 0 -20 cm.
Kalhature <i>et al.</i> (2016)	Encontraron que el hidrogel fue capaz de mejorar la germinación de semillas, la aparición de plántulas y el crecimiento de raíces.
Guilherme <i>et al.</i> (2015)	Incrementa la aireación del suelo y reduce la tasa de evapotranspiración.
Wei y Durian (2014)	El estrés por sequía puede provocar impactos negativos en la morfología de las plantas, como puede ser atrofia de la altura, disminución del área foliar y daño en las hojas, El uso de hidrogeles puede contrarrestar estos impactos negativos inclusive mejorar el crecimiento y rendimiento en condiciones climáticas desfavorables.
Hüttermann <i>et al.</i> (2009)	La biodegradación del hidrogel puede realizarse con organismos biológicos tales como los hongos, descomponiéndolo de un 1 a un 9% anual.
Elshafie <i>et al.</i> (2020)	Mostraron que el conjunto de hidrogel y bacterias <i>Burkholderia gladioli</i> , tuvo un efecto significativo en la germinación de semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> .
Konzen <i>et al.</i> (2017)	El uso de hidrogel promueve el crecimiento en altura de planta, diámetro y biomasa en fresco en <i>M. scabrella</i> .
Pontes <i>et al.</i> (2018)	Observaron que una dosis de hidrogel de entre 2 a 3 g/L mostró el mejor desarrollo de plántulas en <i>Enterolobium contortisiliquum</i> .
Bernardi <i>et al.</i> (2012)	Aplicaron una dosis de 6 g/L y observaron un incremento en el crecimiento en altura de la planta y diámetro de tallo un 23% en <i>Corymbia citriodora</i> .

Sarvaš <i>et al.</i> (2007)	Reportaron que una aplicación de 7 g/L de hidrogel produce mortalidad en las plantas de <i>Pinus sylvestris</i> .
Deaker <i>et al.</i> (2007)	<p>Probaron la adición de rizobios en semillas para mejorar la inoculación, por lo tanto, concluyen que la desecación al momento de inocular puede causar una baja tasa de supervivencia de los rizobios en las semillas ya que los microorganismos no la soportan y mueren o quedan en modo de latencia.</p> <p>Recomiendan el uso de agentes aglutinantes como el hidrogel en el sustrato de las plantas de leguminosa al aplicar rizobios para evitar la muerte por desecación.</p>

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Lugar del experimento

El experimento se realizó en la localidad de El Jobo, Tlapacoyan, Veracruz de Ignacio de la Llave, México, dicha localidad está ubicada entre la latitud  $20^{\circ}0'38.72''N$  y longitud  $97^{\circ}9'56.55''O$  (Figura 1). Se encuentra a una altitud de 211 metros sobre el nivel del mar (INEGI, 2009).



## 5.2. Obtención de hongos y material vegetal utilizados en el experimento

Los aislados de hongos de *Trichoderma longibrachiatum* se obtuvieron de la colección de hongos del laboratorio de Biología Molecular ubicado en la Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias (FCAyP) perteneciente a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (Cuadro 3) los cuales fueron extraídos de raíces de plantas de banano de diferentes variedades con el fin de establecer los tratamientos (Cuadro 4). Se utilizaron 144 plantas de banano *in vitro* de la variedad oaxaqueño las cuales tenían nueve semanas de edad, una altura de 4.5 a 5.5 centímetros, diámetro de tallo de 0.4 centímetros y con tres hojas, la cuales fueron obtenidas del laboratorio Nature Source Improved Plants (NSPI).

**Cuadro 3. Descripción de especies de hongos endófitos utilizados.**

<b>ESPECIE</b>	<b>NÚMERO DE ACCESIÓN DEL BANCO DE GENES</b>	<b>Comportamiento</b>	<b>NÚMERO DE AISLADO EN LA COLECCIÓN DE FCAyP</b>
<i>T. longibrachiatum</i>	OPI57557	Endófito	V IV 3.2
<i>T. longibrachiatum</i>	OPI57555	Endófito	V IV 2.1
<i>T. longibrachiatum</i>	OPI57544	Epífito	O I 1R 3
<i>T. longibrachiatum</i>	OPI57545	Epífito	O I 5 M 3
<i>T. longibrachiatum</i>	OPI57543	Endófito	O I 3.2
<i>T. longibrachiatum</i>	OPI57550	Epífito	O III 4 R 3
<i>T. longibrachiatum</i>	OPI57548	Epífito	O II 1 R 3
<i>T. longibrachiatum</i>	-	Epífito	O II 1 R o
<i>T. longibrachiatum</i>	OPI57549	Epífito	O III 3 M 3
<i>T. longibrachiatum</i>	OPI57551	Epífito	P IV 5 R o

**Cuadro 4. Tratamientos formados para el experimento de aclimatación de vitroplantas de banano.**

<b>TRATAMIENTO (T)</b>	<b>UNIDADES EXPERIMENTALES</b>	<b>REPETICIONES</b>
T1 (V IV 3.2 + Hidrogel)	4	3
T2 (V IV 2.1 + Hidrogel)	4	3
T3 (O I 1R 3 + Hidrogel)	4	3
T4 (O I 5 M 3 + Hidrogel)	4	3
T5 (O I 3.2 + Hidrogel)	4	3
T6 (O III 4 R 3 + Hidrogel)	4	3
T7 (O II 1 R 3 + Hidrogel)	4	3
T8 (O II 1 R o + Hidrogel)	4	3
T9 (O III 3 M 3 + Hidrogel)	4	3
T10 (P IV 5 R o + Hidrogel)	4	3
T11 (Solo Hidrogel)	4	3
T12 (Testigo)	4	3

### **5.3. Preparación del sustrato**

Para la preparación del sustrato se usó una mezcla de perlita, tierra de monte y peat moss a razón de 3:1:3, estos tres elementos se mezclaron sobre plástico, con una pala de cuchara y la mezcla de sustrato fue colocado en bolsas de plástico para ser esterilizado a 15 lb/in<sup>2</sup> por 20 minutos en autoclave vertical (Man-Olve).

### **5.4. Determinación de la concentración de esporas de hongos endófitos**

Para preparar la concentración de esporas de cada tratamiento, se tomó un círculo de 0.5 cm de diámetro el cual contenía la espora contenida en glicerol y se colocaron sobre discos de papel celofán adheridos sobre medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) marca BD Bioxon, esterilizado a 15 lb/in<sup>2</sup> por 15 minutos en autoclave vertical (Man-Olve),

contenido en placas de Petri, las cuales fueron selladas con cinta parafilm (Bemis) e incubadas a  $32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$  hasta que la caja se llenara con el crecimiento. Posteriormente, con una pinza, el hongo se retiró del papel celofán, se diluyó en 200 mL de Tween 80 al 0.03 % contenido en matraces de 500 ml, se determinó y ajustó la concentración de  $1 \times 10^5$  esporas por mL de cada aislamiento con el método de conteo Neubauer (Anexo 1). Cada solución obtenida de los aislados se colocó en aspersores con 240 mL de la solución con esporas, los cuales se etiquetaron con el nombre del aislado.

### **5.5. Aplicación del hidrogel al sustrato**

Para hidratar el hidrogel (Silos de agua S.A. de C.V.) a cada 1 gramo de hidrogel se le agregaron 100 mL de agua destilada estéril, según las instrucciones del fabricante. Posteriormente en 1.92 kg de sustrato se agregaron 18 gramos de hidrogel hidratado (Rivera *et al.*, 2021) y se homogeneizó.

### **5.6. Inoculación con hongos endófitos al sustrato con hidrogel**

La mezcla de sustrato con hidrogel se extendió sobre plásticos blancos estériles de 60 x 60 centímetros y se inoculó con 240 mL de Tween 80 al 0.03% que contenía la concentración de  $1 \times 10^5$  esporas por mL en 1.92 kg de sustrato con hidrogel, correspondiente a cada tratamiento, con un aspersor manual.

Para cada tratamiento se llenaron 12 bolsas negras calibre 500 de 8 x 15 cm, las cuales contenían 160 gr de la mezcla del sustrato con hidrogel inoculado con esporas de hongos endófitos y posteriormente se trasplantaron las vitroplantas a condiciones *ex vitro*.

### **5.7. Trasplante de plántulas *in vitro* a *ex vitro* e inoculación a raíz con hongos endófitos**

Las plantas se sacaron del medio de cultivo *in vitro* y su raíz fue lavada con agua destilada esterilizada a  $15\text{ lb/in}^2$  por 15 minutos en autoclave vertical (Man-Olive).

Posteriormente se formaron grupos de 12 plantas, correspondientes a las repeticiones de cada tratamiento y de cada una de ellas su raíz fue introducida en Tween 80 al 0.03% que contenía la concentración de  $1 \times 10^5$  esporas por mL de esporas por 5 minutos, posteriormente todas las plantas fueron sembradas en bolsas negras con sustrato preparado previamente.

### **5.8. Proceso de aclimatación de plántulas de banano**

Los tratamientos se colocaron en un microtúnel con estructura de acero de 1x3 metros de longitud 0.9 metros de elevación con cubierta de plástico blanco (Figura 2), el microtúnel se instaló en un área bajo la sombra para mantener una luminosidad del 35 %.

Las temperaturas se registraron dentro y fuera del microtúnel con un datalogger (marca: Tzone, modelo: TempU 03), la temperatura promedio fue de 32 °C. La fase de aclimatación de las plántulas de banano al microtúnel se realizó de diciembre de 2021 a marzo de 2022. Se aplicaron nebulizaciones diarias para evitar el estrés de las plántulas, tres veces al día, donde el gasto fue de 3 litros por minuto (Cuadro 5).

Se realizaron dos fertilizaciones, una a los 26 días y la segunda los 34 días después del trasplante, se agregaron 144 gramos de fertilizante NPK 20-20-20 disueltos en 1.44 litros de agua y se aplicaron 10 mL en la base de cada planta.

**Cuadro 5. Programación del temporizador.**

<b>Hora de encendido</b>	<b>Hora de apagado</b>
10:00 a.m.	10:01 a.m.
01:00 p.m.	01:01 p.m.
04:00 p.m.	04:01 p.m.



**Figura 2. Estructura de acero utilizada para el experimento.**

### **5.9. Diseño experimental**

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño completamente al azar con 12 tratamientos, 3 repeticiones por tratamiento y 4 unidades experimentales por repetición (Cuadro 2).

## **5.10. Variables a evaluar**

### **5.10.1. Supervivencia de esporas de hongos endófitos en el sustrato con hidrogel (SE)**

Para evaluar la sobrevivencia de esporas en el sustrato de cada una de las cepas de hongos endófitos, después de tres meses del trasplante se tomaron 10 g de suelo a 5 centímetros de profundidad de 2 unidades experimentales de cada tratamiento, ésta cantidad de suelo se diluyó en 90 mL de Tween 80 al 0.05 % en un matraz, se agitó en vortex por 1 minuto, se tomaron 100 µL de la solución y se extendieron con un triángulo de cristal estéril sobre la superficie del medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA, marca: BD Bioxon) el cual fue esterilizado a 15 lb/in<sup>2</sup> por 15 minutos en autoclave vertical (Man-Olive), contenido en placas de Petri, en dicho medio se agregó estreptomicina en dosis de 50 µL/L de medio y cloranfenicol a la misma concentración contenido para evitar el crecimiento de bacterias, posteriormente cada placa de Petri se selló con cinta parafilm (Bemis) y se incubó a 32 °C ± 2 por 120 horas (Hernández *et al.*, 2021), posteriormente se utilizó el programa Image J para Windows para determinar el área de esporulación de las cepas (anexo 2).

### **5.10.2. Longitud de raíz de plantas de banano (LR)**

Con ayuda de un vernier electrónico, se midió la longitud inicial de la raíz principal (LIRP) y la longitud final de la raíz principal (LFRP) desde la base del tallo a la cofia. Al momento del trasplante y a los tres meses. Para obtener la longitud real de raíz principal (LRR) se aplicó la siguiente ecuación:

$$\text{LRR} = \text{LFRP} - \text{LIRP}.$$

LRR: Longitud real de raíz principal (mm).

LFRP: Longitud final de la raíz principal (mm).

LIRP: Longitud inicial de la raíz principal (mm).

### **5.10.3. Diámetro de raíz de plantas de banano (DR)**

Con ayuda de un vernier electrónico, se midió el diámetro inicial de la raíz principal (DIRP) y el diámetro final de la raíz principal (DFRP). Al momento del trasplante y a los tres meses. Para obtener el diámetro real (DR) se aplicó la siguiente ecuación:

$$DR= DFRP-DIRP.$$

DR: Diámetro real de raíz principal (mm).

DFRP: Diámetro fina de la raíz principal (mm).

DIRP: Diámetro inicial de la raíz principal (mm).

### **5.10.4. Longitud de plantas de banano (LP)**

Con ayuda de un vernier electrónico, se midió la longitud inicial de planta (LIP) y la longitud final de planta (LFP), desde la hoja más alta a la base del tallo. Al momento del trasplante y a los tres meses del trasplante. Para obtener la longitud real (LR) se aplicó la siguiente ecuación:

$$LR= LFP-LIP$$

LR: Longitud real (mm).

LFP: Longitud final de planta (mm).

LIP: Longitud inicial de planta (mm).

### **5.10.5. Número de hojas de plantas de banano (NH)**

Se contabilizó el número de hojas inicial (NHI) y el número de hojas final (NHF) de cada planta al momento del trasplante los tres meses. Para obtener el número de hojas crecidas (NHC) se aplicó la siguiente ecuación:

$$NHC=NHF-NHI$$

NHC: Número de hojas crecidas.

NHF: Número de hojas final.

NHI: Número de hojas inicial.

#### **5.10.6. Peso seco de raíz de plantas de banano (PSR)**

Con ayuda de un horno (Marca: Riossa, Modelo: 172) se secó la raíz, cuando tuvo un peso constante se procedió a pesar con la ayuda de una balanza granataria el peso seco inicial de raíz (PSIR) al momento del trasplante y el peso seco final de raíz (PSFR) a los tres meses, expresado en gramos. Para obtener la ganancia de peso seco total en raíz (PSTR) se aplicó la siguiente ecuación:

$$PSTR=PSFR-PSIR$$

PSTR: Peso seco total de raíz (g).

PSFR: Peso seco final de raíz (g).

PSIR: Peso seco inicial de raíz (g).

#### **5.10.7. Peso seco de tallo y hojas de plantas de banano (PSTH)**

Con ayuda de un horno (Marca: Riossa, Modelo: 172) se secó el tallo y hojas, cuando tuvieron un peso constante se procedió a pesar con la ayuda de una balanza granataria el peso seco inicial de tallo y hojas (PSIT) al momento del trasplante y el peso seco final de tallo y hojas (PSFT) a los tres meses, expresado en gramos. Para obtener la ganancia de peso seco total en tallo y hojas (PSTT) se aplicó la siguiente ecuación:

$$PSTT=PSFT-PSIT$$

PSTT: Peso seco total de tallo y hojas (g).

PSFR: Peso seco final de tallo y hojas (g).

PSIR: Peso seco inicial de tallo y hojas (g).

#### **5.10.8. Colonización de cepas de hongos endófitos en raíz de plantas de banano (CH)**

Para determinar la colonización de hongos de cada tratamiento, se tomó 1 g raíz principal y se cortó en trozos de 1 cm y se lavó con hipoclorito de sodio al 1 % por 15 segundos, se enjuagó en agua estéril por 5 minutos y se secó con sanitas estériles. Posteriormente 10 trozos estériles fueron colocados sobre medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA, marca: BD Bioxon) el cual fue esterilizado a 15 lb/in<sup>2</sup> por 15 minutos en autoclave vertical (Man-Olve), contenido en placas de Petri, en dicho medio se agregó estreptomycin en dosis de 50 µL/L de medio y cloranfenicol a la misma concentración contenido para evitar el crecimiento de bacterias. Estas cajas fueron incubadas por 24 horas a 32 ° C ± 2 y se monitoreo el crecimiento presentado. El hongo crecido de cada trozo fue observado en un microscopio compuesto (LEICA) y se determinó su identidad del hongo endófito por medio de claves taxonómicas (Hernández *et al.*, 2021).

#### **5.11. Análisis estadístico**

Para el análisis de datos de crecimiento radicular y vegetativo y supervivencia de esporas de hongos endófitos en el sustrato con hidrogel se determinó la distribución normal estándar y realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un 95 % de confiabilidad para determinar el efecto de los tratamientos además de una comparación de medias por el método de Tukey.

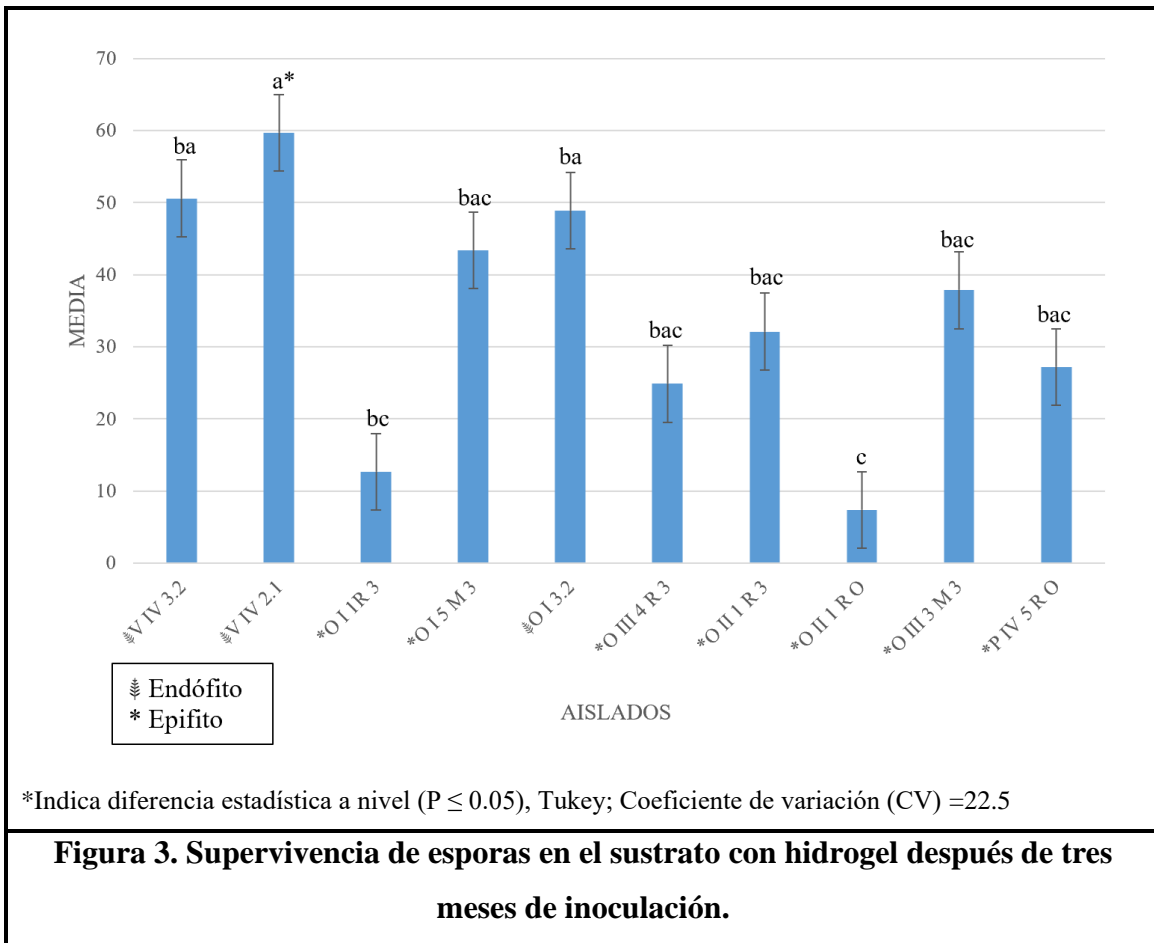
Para el análisis de datos de colonización de las cepas de hongos endófitos en raíz de plántulas de banano *ex vitro* tratadas con hidrogel y hongos endófitos se utilizó la prueba de Kruskal-Wallys mediante el uso de PROC NPAR1WAY WILCOXON (Prueba de rangos con signos de Wilcoxon con un nivel de significancia de 0.05), se utilizó el programa SAS versión 9.0 para Windows.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Supervivencia de esporas en el sustrato con hidrogel

De acuerdo con los resultados en la figura 3, se observó diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). El tratamiento con mayor supervivencia de conidias fue el inóculo del aislado V IV 2.1 con 98% de supervivencia, seguido de V IV 3.2 con 91% y OI 3.2 con 82%, todos de procedencia endófito. Encontrándose resultados similares con Hoyos *et al.* (2015) que mostraron que *Trichoderma* spp. aplicado a una concentración de  $1 \times 10^5$  en sustrato de plantas que tiene alta capacidad de competencia en el suelo, y sobrevive manteniendo esta población por más de 44 días después de ser inoculado, ya que en esta investigación se utilizó la misma concentración. Sin embargo, es necesario mencionar que no todos los aislados de la misma especie tienen el mismo comportamiento (Lu *et al.*, 2004), en este caso las conidias del aislado O II 1 R O con comportamiento epífita tuvieron la menor supervivencia de 11.86%. A pesar de que ya se han documentado varios aspectos sobre el comportamiento de hongos endófitos y epífitos, existen pocos estudios sobre la eficacia de su supervivencia en sustrato con hidrogel.

Por otra parte estudios realizados por Deaker *et al.*, (2007) en sustratos tratados con hidrogel mostraron que la tasa de supervivencia en *Rizobium* sp. aumentó al evitar la desecación y mantener la humedad por más tiempo disponible para la microbiota. Así mismo Chaithra y Sridhara, (2018); Pattanaaik *et al.*, (2015) y Yadollahi *et al.*, (2012) mencionan que la disponibilidad de humedad mejora las comunidades microbianas presentes en el suelo. Lo que es posible, debido a que el hidrogel retiene el 90% de agua que se le aplica, es decir, 2/3 partes de esta agua son absorbidas por la planta, mientras que el agua restante queda disponible en el suelo y puede ser aprovechada por los microorganismos presentes (Guan & Wu, 2007).



## 6.2. Desarrollo radicular y vegetativo en plántulas de banano *ex vitro*

### 6.2.1. Longitud de raíz

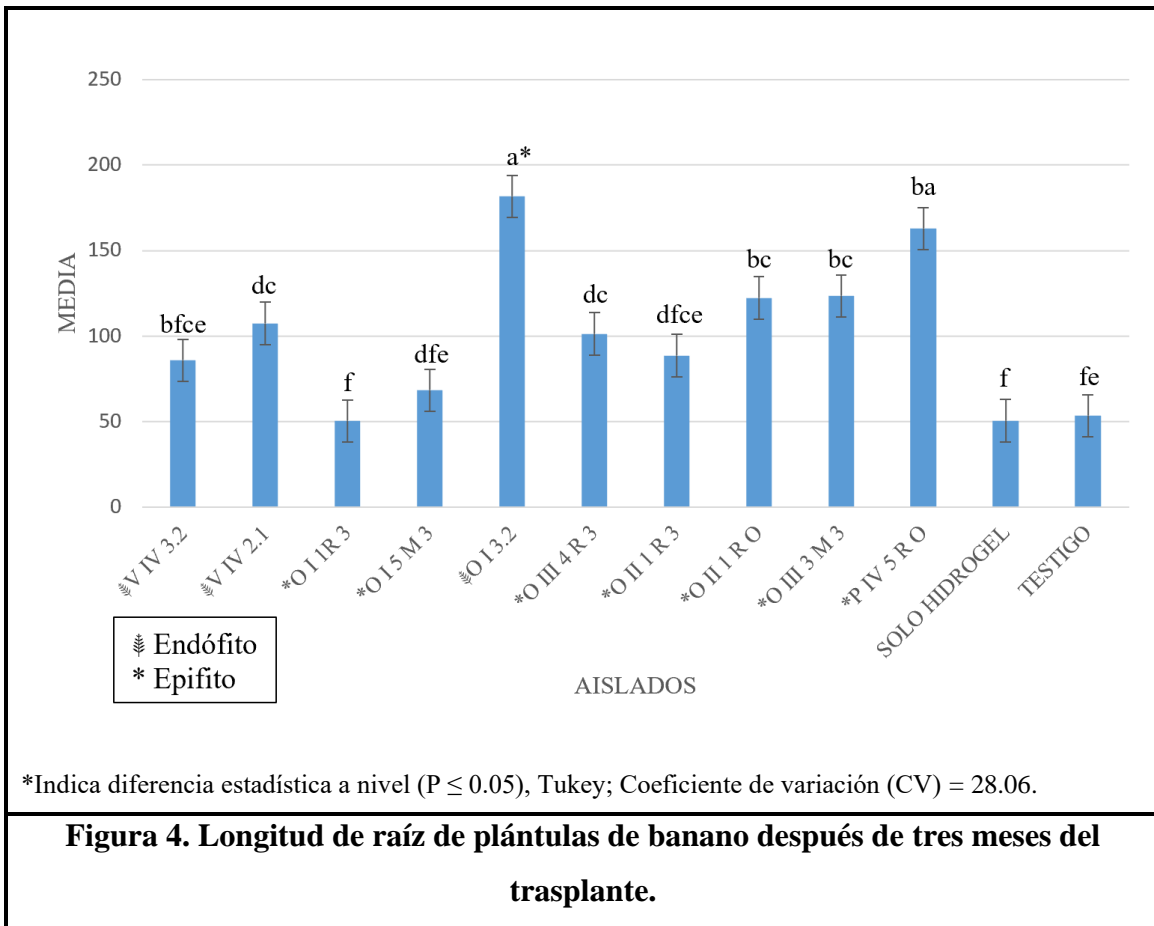
Con los resultados obtenidos en la figura 4, se observó diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ), el mejor tratamiento fue el aislado O I 3.2 el cual tiene comportamiento endófito, seguido por P IV 5 R O con comportamiento epifito a diferencia del testigo. En investigaciones relacionadas con aislados de *T. asperellum*, *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* en el cultivo de jitomate (Ruiz *et al.*, 2018) se obtuvieron resultados semejantes ya que indujo el crecimiento en longitud de raíz, al igual que en el cultivo de maracuyá al ser inoculado con *Trichoderma harzianum* se obtuvo el aumento en longitud de raíz (Cubillos *et al.*, 2009). Estos estudios demuestran el efecto de *Trichoderma* spp. como generador del crecimiento vegetal, dicho crecimiento está relacionado con la capacidad de

los aislados en solubilizar fosfatos, micronutrientes y cationes minerales útiles para el metabolismo de las plantas (Tucci et al., 2011). Sin embargo la respuesta en la estimulación de crecimiento y desarrollo de planta es diferente ya que depende del tipo de aislado utilizado y su tipo de interacción con los tejidos de la plantas, además de la concentración del aislado, la forma de aplicación, la humedad y la temperatura (Lu *et al.*, 2004).

Sin embargo, de acuerdo con los resultados del estudio el efecto combinado de ambos no necesariamente sugiere un efecto sinergista, debido a que el aislado O I 1 R3 epífita promovió igual longitud de raíz al que contenía solo hidrogel, por lo tanto, esto sugiere, que el efecto sinergista depende del tipo de aislado que estemos aplicando como es el caso del aislado P IV 5 R endófito y P IV 5 R O epífita. Por otra parte, de acuerdo con los resultados del estudio, la longitud de raíz de las plantas tratadas no depende de la procedencia endófito o epífita del hongo lo que se puede observar en el resultado mostrado por los aislados VIV 3.2 y VIV 2.1 de procedencia endófito comparados con los de procedencia epífita.

Estudios realizados por Rivera *et al.*, (2021) menciona que el uso de agentes retenedores de agua como el hidrogel puede inducir el crecimiento del sistema radicular de las plantas ya que existe una mayor área de humedecimiento disponible para ellas, aun incluso si se aplica de forma localizada. Mientras que en plantas de tabaco se vio un efecto en la actividad radicular (Huang *et al.*, 2018) ya que existe una disminución del estrés hídrico al aplicar hidrogel (Satriani *et al.*, 2018) por otra parte el estrés hídrico puede ocasionar impactos negativos en la morfología de las plantas, así como también limitar su crecimiento (Wei & Durian, 2014).

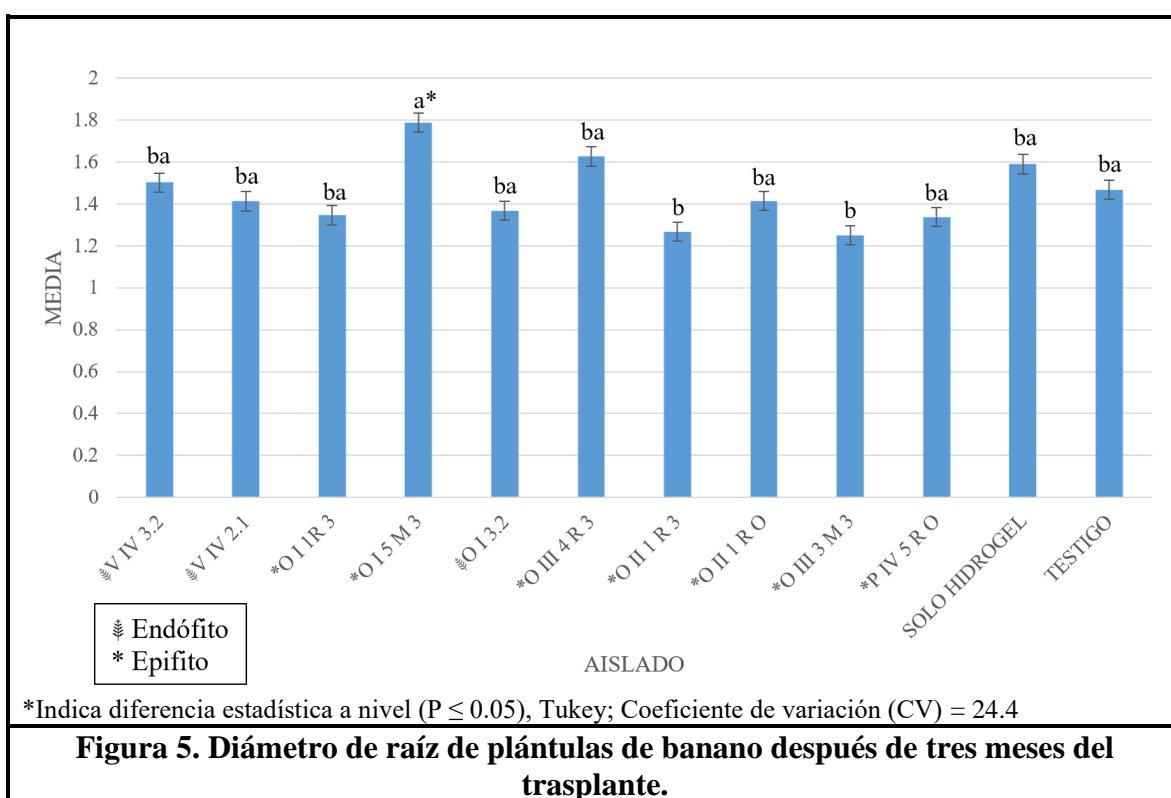
Por otro lado, los tratamientos que indujeron menor longitud en raíz fue el aislado O I 1 R3 con comportamiento epífita y el tratamiento que contenía solo hidrogel, lo que sugiere que los hongos endófitos potencian el crecimiento de raíz en plántulas de banano al aplicarse con hidrogel en el sustrato.



### 6.2.2. Diámetro de raíz

De acuerdo con los resultados en la figura 5, se observó diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). El aislado que indujo mayor crecimiento en diámetro fue O I 5 M 3, lo que sugiere que existe estimulación hormonal por los aislados de hongos usados en el estudio sobre las células que conforman el tejido de crecimiento o cambium vascular de las plantas de banano. Coincidiendo con los resultados de Kalhapure *et al.* (2016) que encontraron que el hidrogel fue capaz de mejorar el crecimiento de raíces, mientras que en el cultivo de *Capsicum chinense* cuando se aplicaron cepas de *Trichoderma* spp. obteniendo diferencias significativas en crecimiento de raíces (Candelero *et al.*, 2015), mientras que Ortuño *et al.* (2013) lograron aumentar el volumen radical de *Lactuca sativa* L. hasta 67.5% al aplicar aislados de *Trichoderma* spp. y concluyeron que al aplicarlos se promueve el crecimiento vegetal de esta especie. Dicho crecimiento puede atribuirse a la estimulación del

hongo a producir ácido indolacético el cual acidifica la rizosfera y solubiliza nutrientes para que la planta los puedan absorber (Bonilla, 2005). Al respecto, autores como Tucci *et al.* (2011) observaron que *Trichoderma* spp. puede solubilizar fosfatos y micronutrientes útiles para el metabolismo de la planta, además de producir fitohormonas como auxinas, citocininas, giberelinas, y especialmente ácido indolacético (AIA) (Domínguez *et al.*, 2016) que estimulan el crecimiento vegetal (Tucci *et al.*, 2011), lo que resulta en aumento en diámetro de las plantas tratadas con este hongo.



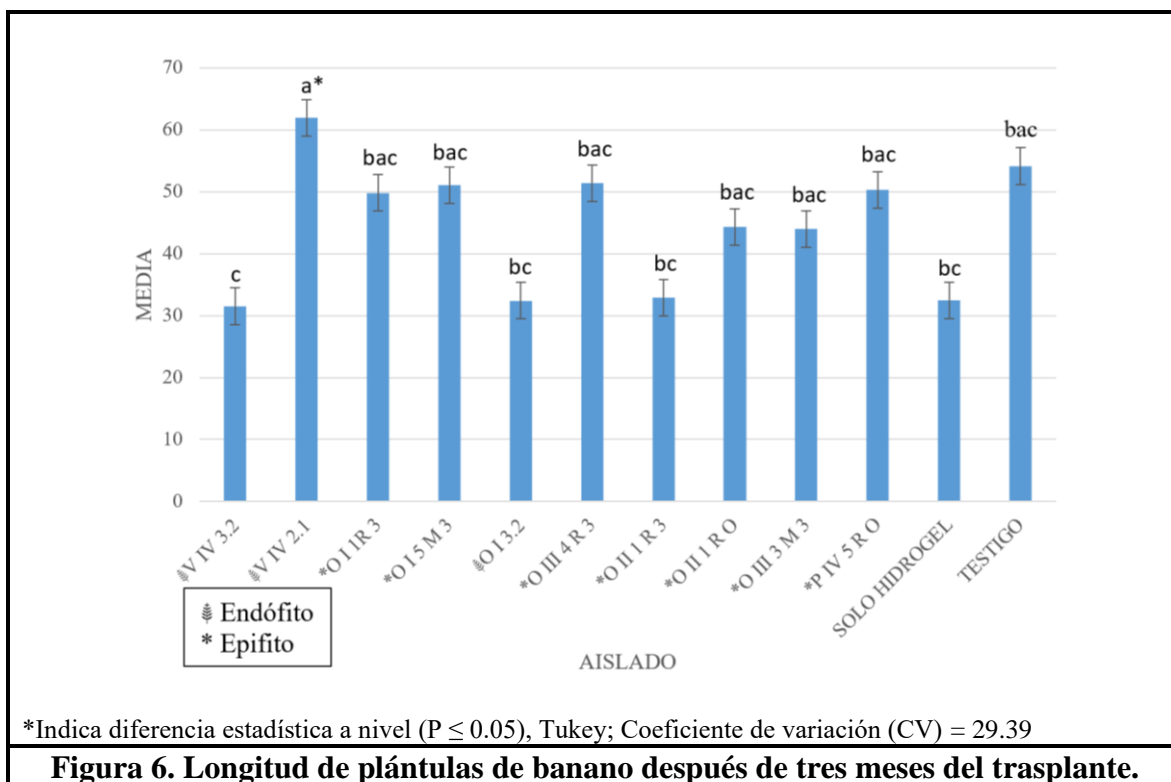
**Figura 5. Diámetro de raíz de plántulas de banano después de tres meses del trasplante.**

### 6.2.3. Longitud de planta

De acuerdo con los resultados en la figura 6, se observó diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.05$ ). El tratamiento que generó mayor longitud fue el aislado V IV 2.1 de procedencia endófito, a diferencia del testigo y el aislado V IV 3.2 también de procedencia endófito el cual generó menor longitud que el testigo lo que sugiere que el efecto en longitud

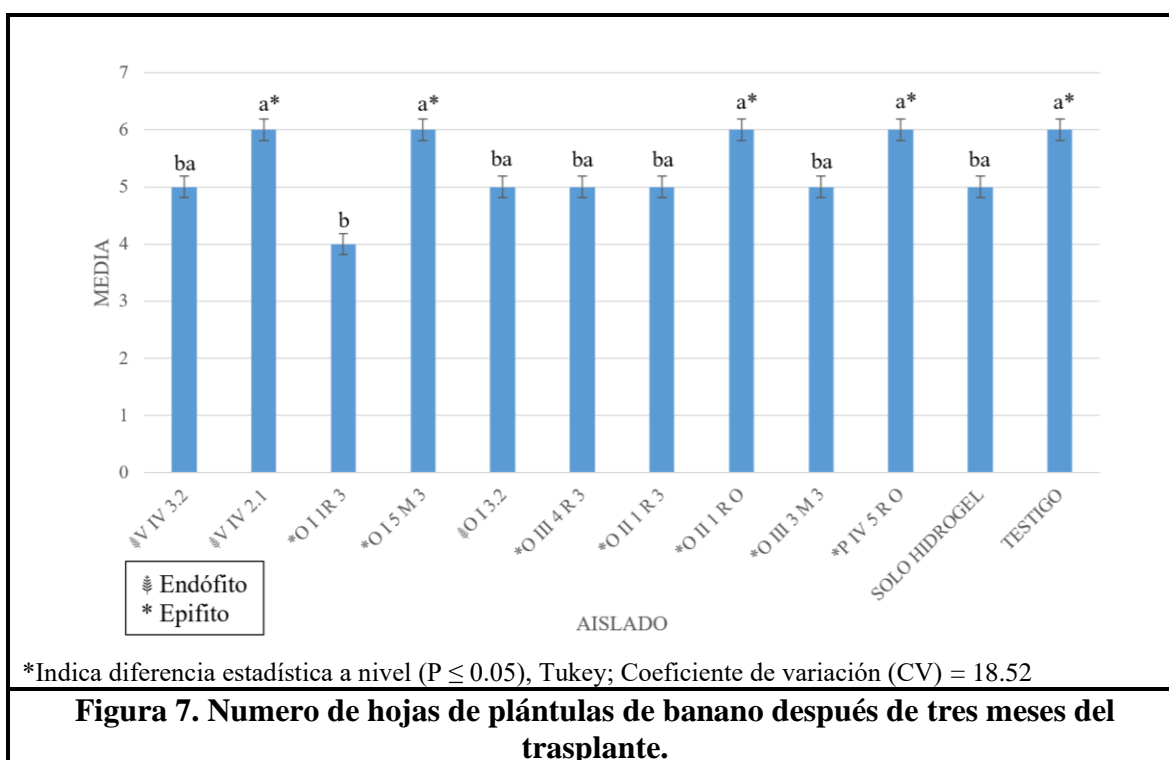
de planta no depende de la procedencia o comportamiento de los hongos. Resultados similares encontraron Ruiz *et al.* (2018) al inocular con *Trichoderma longibrachiatum* en plantas de tomate, las cuales mostraron 13% más altura que el testigo. Mientras que Pelagio *et al.*, (2017) al inocular *Trichoderma atroviride* en plantas de *Arabidopsis* observaron que estas mostraron un incremento en altura. Así mismo Nieto *et al.*, (2017) y Hung *et al.* (2013) mencionan que la interacción de *Trichoderma* spp. con la planta mejora el enraizamiento y la capacidad de absorber nutrientes y agua lo que aumenta su crecimiento.

Por otra parte autores como Konzen *et al.*, (2017) encontraron que el uso del hidrogel promueve el crecimiento en altura de planta en árboles de *Mimosa scabrella* mientras que Bernardi *et al.* (2012) al usar hidrogel en plantas de *Corymbia citriodora* observaron un incremento en altura de planta. Así mismo la ausencia de estrés hídrico en plantas con hidrogel en el sustrato puede mejorar el crecimiento, incluso aun en condiciones climáticas desfavorables (Wei & Durian, 2014).



#### 6.2.4. Número de hojas

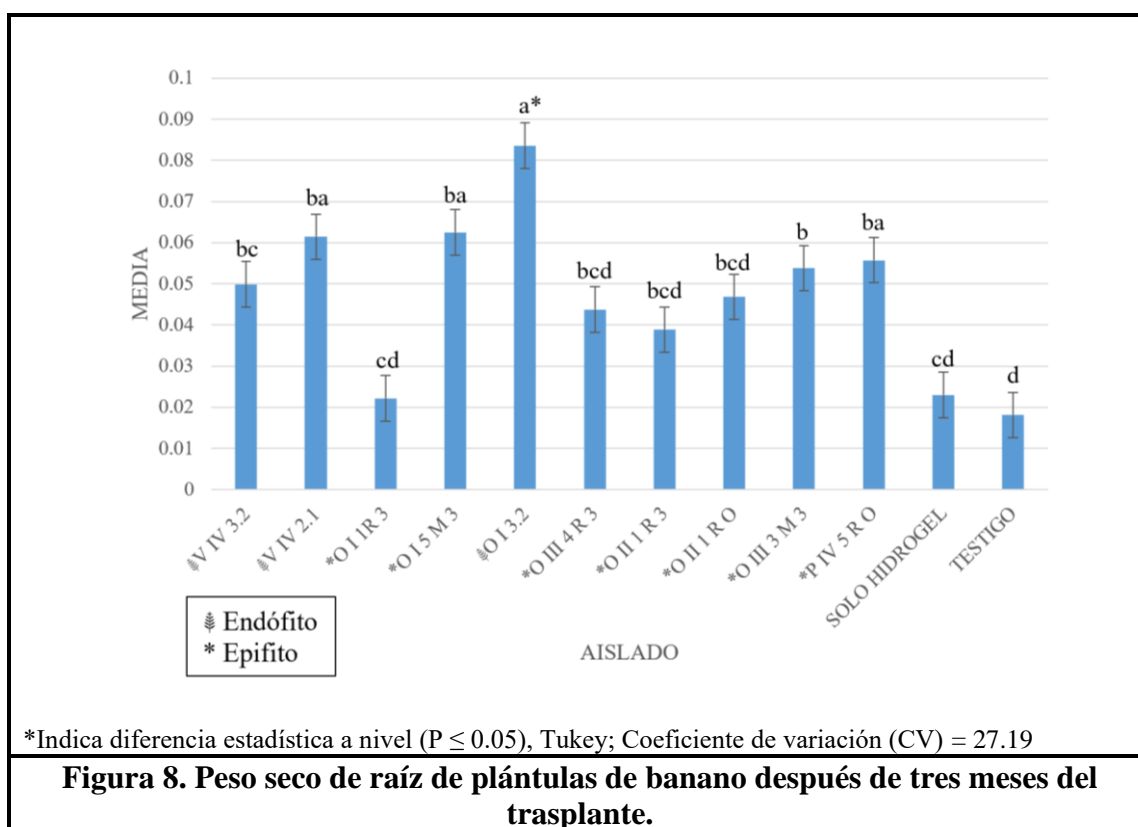
De acuerdo con los resultados en la figura 7, se observó diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.0029$ ). Los aislados V IV 2.1, O I 5 M 3, O II 1 R O, P IV 5 R O tuvieron efecto similar al testigo, ya que tuvieron igual número de hojas, por lo que se descarta que el efecto sea atribuible a la combinación de hidrogel con los aislados, o al hidrogel sin combinar. Sin embargo, a pesar de que en el estudio no se encontró efecto en los tratamientos se concuerda con los resultados de Hoyos *et al.* (2015) encontraron que el aislado de *Trichoderma longibrachiatum* aumento el área foliar en plantas de *Phaseolus vulgaris*, mientras que estudios realizados por Ruiz *et al.*, (2018) en jitomate mostraron resultados significativos en la producción de hojas al ser inoculadas con *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma longibrachiatum*. Por otra parte, autores como Huang *et al.* (2018) encontraron que el uso de hidrogel en plantas de tabaco aumentó el área foliar y el número de hojas mientras que la actividades de enzimas como la Peróxido dismutasa, la peroxidasa y la catalasa disminuyeron debido a la falta de estrés hídrico.

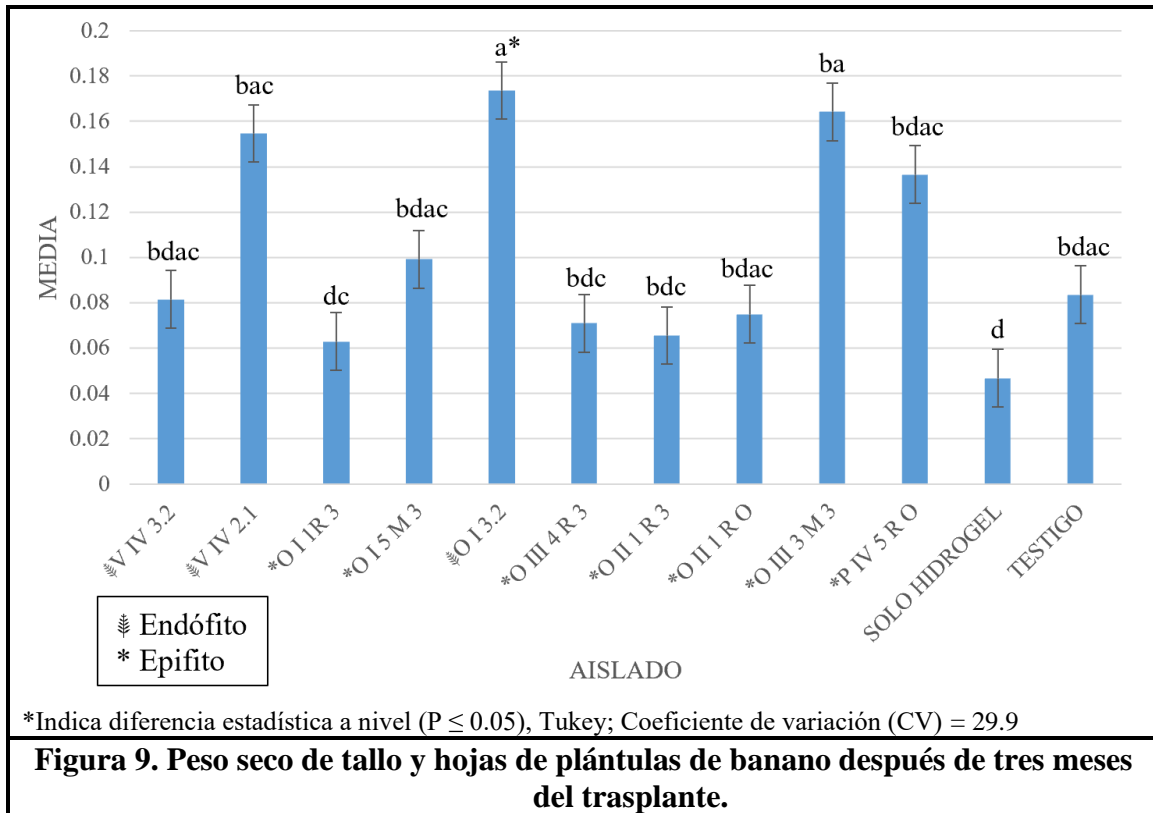


**Figura 7. Numero de hojas de plántulas de banana después de tres meses del trasplante.**

### 6.2.5. Peso seco de raíz, tallo y hoja

De acuerdo con los resultados en las figuras 8 y 9, se observó diferencia significativa entre tratamientos ( $P \leq 0.0005$ ). El tratamiento que indujo mayor peso seco de raíz, tallo y hoja fue el aislado O I 3.2 de origen endófito, a diferencia del testigo y sólo hidrogel, lo que sugiere un efecto combinado del aislado y el hidrogel, sin embargo, depende en gran parte del tipo de aislado. Estudios similares coinciden con los resultados de esta investigación donde al inocular plantas de *Lolium perenne*, *Trifolium repens*, *Medicago sativa* y *Pisum sativum* L. con *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma* spp. obtuvieron diferencia significativa e incremento en la producción de materia seca (León, 2015; Acurio y Imbaquingo, 2016 y Eraso Insuasty *et al.*, 2014). Al igual que los encontrados por Ruiz *et al.*, (2018) en plantas de jitomate y los de López & González (2004) en plantas de *Capsicum annuum* donde se logró 38% de aumento de biomasa al aplicar cepas nativas de *Trichoderma* spp. Así mismo en plantas de *Lactuca sativa* L. se obtuvo una ganancia del 82% de biomasa aplicando cepas de *Trichoderma* spp. (Ortuño *et al.*, 2013).





### 6.3. Evaluación de la eficacia de colonización en raíces

De acuerdo a los resultados en el cuadro 6, se observó diferencia significativa entre tratamientos ( $X^2_{0.05} = 28.29$ ,  $P \leq 0.05$ ). La mediana más grande correspondió al aislado O III 3 M 3 que tuvo mayor endofitismo con una media de colonización de 39.62, la cual representa el 48.3 %, seguido del aislado V IV 2.1 con una media de colonización de 28.5, la cual representa el 43.3 %, y el aislado O I 3.2 con una media de colonización 28.5, la cual representa el 43.3 %. El resultado obtenido en esta investigación concuerda con los encontrados por Ruano *et al.* (2016) y Samolski *et al.* (2012) la mayoría de las especies de *Trichoderma* investigadas colonizan la superficie de la raíz o viven como endófitos dentro de sus tejidos. En este estudio el aislado O III 3 M 3 de procedencia epífita tuvo mayor colonización dentro de la raíz lo que quiere decir que adquirió un comportamiento endófito, mientras que los aliados de comportamiento endófito V IV 2.1 y O I 3.2 a pesar de que no

tuvieron la mediana de colonización más alta, tuvieron un efecto considerable en las variables de crecimiento radicular y vegetativo en aclimatación de plantas de banano.

**Cuadro 6. Comparación de medianas de cuadrados mínimos obtenidos con Kruskal Wallis de colonización de *Trichoderma longibrachiatum* en raíz de banano**

Tratamientos (T)	Mediana de colonización de raíz
Aislados endófitos	
V IV 3.2 (T1)	11.9
<b>V IV 2.1 (T2)</b>	<b>28.5</b>
<b>O I 3.2 (T5)</b>	<b>28.5</b>
Aislados epífitos	
O I 1R 3 (T3)	7
O I 5 M 3 (T4)	13.125
O III 4 R 3 (T6)	19.25
O II 1 R 3 (T7)	26.33
O II 1 R o (T8)	10.16
<b>O III 3 M 3 (T9)</b>	<b>39.62</b>
P IV 5 R o (T10)	7

Coefficiente de variación (CV) = 26.3

Aunque no se pudo observar en este estudio el efecto del hidrogel sobre la colonización de los diferentes aislados inoculados en raíz autores como Gokavi *et al.*, (2018) y Deaker *et al.* (2007) mencionan que el uso de hidrogel mantiene la humedad disponible en el suelo que ayuda a mejora la actividad de su microbita, por otra parte en plantas de maíz se pudo encontrar que el hidrogel mejora la actividad de microorganismos benéficos del suelo, mejora la distribución de la humedad por la tanto la abundancia de bacterias como *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Burkholderia* las cuales son promotoras del crecimiento de las plantas (Yang

*et al.*, 2020). Esto sugiere que debería probarse el efecto del hidrogel sobre la colonización hongos endófitos.

## VII. CONCLUSIONES

El hidrogel aplicado al sustrato puede aumentar la supervivencia de aislados de *Trichoderma longibrachiatum* de procedencia endófito o epífita. Así mismo, el trasplante de vitroplantas sobre este sustrato y la inoculación de hongos mejora la longitud de raíz, incrementa el diámetro y con ello aumentó el peso seco, así como el de tallo y hoja de plantas de banano en fase de aclimatación, mas no aumenta el número de hojas.

Aunque los aislados de *Trichoderma longibrachiatum* provengan de diferente fuente de aislamiento y tengan diferente comportamiento (endófito y epífita) se pueden utilizar para promover crecimiento radicular y vegetativo en plantas de banano en fase de aclimatación, ya que mientras algunos de ellos promueven el desarrollo radicular, otros promoverán el desarrollo vegetativo, sin embargo, habrá muy pocos que tengan buen resultado sobre ambos, además de tener buena supervivencia en el sustrato y buena colonización sobre la raíz de la planta.

El comportamiento de las diferentes cepas de *Trichoderma* fue variable, sin embargo, el aislado O I 3.2 fue más consistente en la mayoría de las variables medidas, ya que longitud de raíz, peso seco de raíz, peso seco de tallos y hojas presento los valores más altos y en supervivencia, diámetro de raíz y número de hojas presento valores que le siguieron al valor más alto, por lo que se puede inferir que este tratamiento es el que mejor dio resultados positivos.

## VIII. BIBLIOGRAFIA

- Abdallah, A. (2019). Influence of Hydrogel Type and Concentration, and Water Application Rate on some Hydraulic Properties of a Sandy Soil. *Alexandria Science Exchange Journal*, 40, 349-362. <https://doi.org/10.21608/asejaiqjsae.2019.36940>
- Acurio, D., & Imbaquingo, C. (2016). Aislamiento, caracterización y evaluación de Trichoderma spp. Como promotor de crecimiento vegetal de Raygrass (Lolium perenne) y trébol blanco (Trifolium repens). *La Granja*, 25, 53. <https://doi.org/10.17163/lgr.n25.2017.05>
- Ahmed, E. M. (2015). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of Advanced Research*, 6(2), 105-121. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006>
- Akhter, J., Mahmood, K., Malik, K., Mardan, A., Ahmad, M., & Iqbal, M. (2004). Effects of Hydrogel Amendment on Water Storage of Sandy Loam and Loam Soils and Seedling Growth of Barley Wheat and Chickpea. *Plant, Soil and Environment*, 50. <https://doi.org/10.17221/4059-PSE>
- Arnold, A. E., Mejía, L. C., Kyllö, D., Rojas, E. I., Maynard, Z., Robbins, N., & Herre, E. A. (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(26), 15649-15654. <https://doi.org/10.1073/pnas.2533483100>
- Barón, A., Barrera Ramírez, I. X., Boada Eslava, L. F., & Rodríguez Niño, G. (2007). Evaluación de hidrogeles para aplicaciones agroforestales. *Ingeniería e Investigación*, 27(3), 35-44. <https://www.redalyc.org/pdf/643/64327305.pdf>
- Bernardi, M. R., Sperotto Junior, M., Daniel, O., & Vitorino, A. C. T. (2012). Crescimento de mudas de Corymbia citriodora em função do uso de hidrogel e adubação. *CERNE*, 18, 67-74. <https://doi.org/10.1590/S0104-77602012000100009>

- Bonilla, M. A. (2005). *Estrategias adaptativas de plantas del páramo y del bosque altoandino en la Cordillera Oriental de Colombia*. Universidad Nacional de Colombia - Unibiblos. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/53365>
- Candelerio, D. J., Cristobal, A. J., Reyes, R. A., Tun, S. J., Gamboa, A., & Ruíz, S. (2015). Trichoderma spp. Fostering growth on Capsicum chinense Jacq. Seedlings and antagonistic against Meloidogyne incognita. *Phyton*, 84(1), 113-119. <https://doi.org/10.32604/phyton.2015.84.113>
- Capellades, M., Fontarnau, R., Carulla, C., & Debergh, P. (1990). Environment influences anatomy of stomata and epidermal cells in tissue-cultured Rosa multiflora. *Journal of the American Society for Horticultural Science (USA)*. [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=Environment+influences+anatomy+of+stomata+and+epidermal+cells+in+tissue-cultured+Rosa+multiflora&author=Capellades%2C+M.+%28Univ.+of+Barcelona%2C+Spain%29&publication\\_year=1990](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Environment+influences+anatomy+of+stomata+and+epidermal+cells+in+tissue-cultured+Rosa+multiflora&author=Capellades%2C+M.+%28Univ.+of+Barcelona%2C+Spain%29&publication_year=1990)
- Chaithra, M., & Sridhara, S. (2018). Growth and yield of rainfed maize as influenced by application of super absorbent polymer and Pongamia leaf mulching. *International Journal of Chemical Studies*, 6(5), 426-430. <https://www.chemjournal.com/archives/?year=2018&vol=6&issue=5&ArticleId=3587&si=false>
- Chirino, E., Vilagrosa, A., & Vallejo, V. R. (2011). Using hydrogel and clay to improve the water status of seedlings for dryland restoration. *Plant and Soil*, 344(1), 99-110. <https://doi.org/10.1007/s11104-011-0730-1>
- CONABIO. (2021, marzo 24). *Portal de Información Geográfica—CONABIO*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/>
- Cubillos, J., Valero, N., & Mejía, L. (2009). Trichoderma harzianum como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (Passiflora edulis var. Flavicarpa Degener).

- Deaker, R., Roughley, R. J., & Kennedy, I. R. (2007). Desiccation tolerance of rhizobia when protected by synthetic polymers. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(2), 573-580. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.09.005>
- Domínguez, S., Rubio, M. B., Cardoza, R. E., Gutiérrez, S., Nicolás, C., Bettiol, W., Hermosa, R., & Monte, E. (2016). Nitrogen Metabolism and Growth Enhancement in Tomato Plants Challenged with *Trichoderma harzianum* Expressing the *Aspergillus nidulans* Acetamidase amdS Gene. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1182. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01182>
- Elshafie, H. S., & Camele, I. (2021). Applications of Absorbent Polymers for Sustainable Plant Protection and Crop Yield. *Sustainability*, 13(6), Art. 6. <https://doi.org/10.3390/su13063253>
- Elshafie, H. S., Nuzzaci, M., Logozzo, G., Gioia, T., & Camele, I. (2020). Biological investigations on the role of hydrogel formulations containing bioactive natural agents against some common phytopathogens of *Phaseolus vulgaris* L. and seed germination. *Journal of Biological Research - Bollettino Della Società Italiana Di Biologia Sperimentale*, 93(2), Art. 2. <https://doi.org/10.4081/jbr.2020.9219>
- Eneji, A., Islam, M., An, P., & Amalu, U. C. (2013). Nitrate retention and physiological adjustment of maize to soil amendment with superabsorbent polymers. *Journal of Cleaner Production*, 52, 474-480. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.02.027>
- Firáková, S., Šturdíková, M., & Můčková, M. (2007). Bioactive secondary metabolites produced by microorganisms associated with plants. *Biologia*, 62(3), 251-257. <https://doi.org/10.2478/s11756-007-0044-1>

- Galan, V., Rangel, A., Lopez, J., Hernandez, J. B. P., Sandoval, J., & Rocha, H. S. (2018). Propagación del banano: Técnicas tradicionales, nuevas tecnologías e innovaciones. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40. <https://doi.org/10.1590/0100-29452018574>
- Geesing, D., & Schmidhalter, U. (2004). Influence of sodium polyacrylate on the water-holding capacity of three different soils and effects on growth of wheat. *Soil Use and Management*, 20(2), 207-209. <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2004.tb00359.x>
- Gokavi, N., Mote, M., Ds, N., Manjunath, Y., Raghuramulu, & Mote, K. (2018). Performance of hydrogel on seed germination and growth of young coffee seedlings in nursery. 7(3), 1364-1366. <https://www.phytojournal.com/archives?year=2018&vol=7&issue=3&ArticleId=4363>
- Guan, X., & Wu, J. (2007). Development and tendency of super absorbent polymers application on agriculture. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 23(7), 13-17. [https://www.researchgate.net/publication/294150079\\_Development\\_of\\_super\\_absorbent\\_polymer\\_and\\_its\\_application\\_in\\_agriculture](https://www.researchgate.net/publication/294150079_Development_of_super_absorbent_polymer_and_its_application_in_agriculture)
- Guilherme, M. R., Aouada, F. A., Fajardo, A. R., Martins, A. F., Paulino, A. T., Davi, M. F. T., Rubira, A. F., & Muniz, E. C. (2015). Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: A review. *European Polymer Journal*, 365. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.04.017>
- Hernández, C., Vázquez-Moreno, F., Cruz-Pantoja, A. J., Orduño-Cruz, N., Domínguez-Perales, L. A., & Vázquez-Cruz, F. (2021). Efecto de quitosan y metabolitos de *Trichoderma parareesei* en el crecimiento de *Fusarium oxysporum*. *Revista Bio Ciencias*, 8, 10 pág-10 pág. <https://doi.org/10.15741/revbio.08.e867>
- Hoyos, L., Cardona, A., Osorio, W., & Orduz, S. (2015). Efecto de diversos aislamientos de *Trichoderma* spp. En la absorción de nutrientes en frijol (*Phaseolus vulgaris*) en dos

- tipos de suelo. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 9(2), 268-278. <https://doi.org/10.17584/rcch.2015v9i2.4183>
- Huang, W. X., Wei, Z. Z., Niu, G. Y., Zhang, Y. J., & Shao, H. F. (2018). Effects of sodium polyacrylate and potassium polymer on growth and physiological characteristics of different flue-cured tobaccos. *Bulgarian Chemical Communications*, 50(2), 315-323. [http://www.bcc.bas.bg/bcc\\_volumes/Volume\\_50\\_Number\\_2\\_2018/BCC-50-2-2018-APCET-5-Huang-315-323.pdf](http://www.bcc.bas.bg/bcc_volumes/Volume_50_Number_2_2018/BCC-50-2-2018-APCET-5-Huang-315-323.pdf)
- Hung, R., Lee, S., & Bennett, J. W. (2013). *Arabidopsis thaliana* as a model system for testing the effect of *Trichoderma* volatile organic compounds. *Fungal Ecology*, 6(1), 19-26. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2012.09.005>
- Hüttermann, A., Oriquiriza, L. J. B., & Agaba, H. (2009). Application of Superabsorbent Polymers for Improving the Ecological Chemistry of Degraded or Polluted Lands. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 37(7), 517-526. <https://doi.org/10.1002/clen.200900048>
- INEGI. (2009). *Prontuario de Información Geográfica de los Estados Unidos Mexicanos*. [http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos\\_geograficos/21/21174.pdf](http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/21/21174.pdf)
- Irsyadi, M. B. (2021). Factors that effect of the optimal plantlet growth from tissue culture on the acclimatization stage. *Proceeding International Conference on Science and Engineering*, 4, 100-104. <http://ejournal.uin-suka.ac.id/saintek/icse/article/view/2805/2203>
- Kalhature, A., Kumar, R., Singh, V. P., & Pandey, D. S. (2016). Hydrogels: A boon for increasing agricultural productivity in water-stressed environment. *Current Science*, 111(11), 1773-1779. <https://www.jstor.org/stable/24911537>
- Karimi, A., Noshadi, M., & Ahmadzadeh, M. (2009). Effects of Super Absorbent Polymer (Igeta) on Crop, Soil Water and Irrigation Interval. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 12. [https://jstnar.iut.ac.ir/browse.php?a\\_id=1132&sid=1&slc\\_lang=en](https://jstnar.iut.ac.ir/browse.php?a_id=1132&sid=1&slc_lang=en)

- Kasutjianingati, K., Firgiyanto, R., & Warisu, A. (2020). Response of the Vanda Planlet (*Vanda sanderiana*) to the Addition of Guano and Mycorrhizal Fertilizers in the Acclimatization Stadia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 411, 012005. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/411/1/012005>
- Konzen, E. R., Navroski, M. C., Friederichs, G., Ferrari, L. H., Pereira, M. de O., & Felipe, D. (2017). The use of hydrogel combined with appropriate substrate and fertilizer improve quality and growth performance of *Mimosa scabrella* benth seedlings. *CERNE*, 23, 473-482. <https://doi.org/10.1590/01047760201723042440>
- Kusari, S., Hertweck, C., & Spiteller, M. (2012). Chemical Ecology of Endophytic Fungi: Origins of Secondary Metabolites. *Chemistry & Biology*, 19(7), 792-798. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.06.004>
- Lassoudière, A. (2010). *L'histoire du bananier*. Editions Quae.
- León, C. D. (2015). *Efecto de tres dosis de trichoderma en la producción primaria de Medicago sativa (Alfalfa) en la granja Guaslán MAGAP* [Tesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/5292>
- Liu, D., Huang, Z., Cai, L., & Wei, Z. (2008). Effect of Different Ways and Amounts of Aquasorbent- applying on Yield and Benefit of Potato. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 17(1), 266-270. [https://caod.oriprobe.com/articles/13454387/Effect\\_of\\_Different\\_Ways\\_and\\_Amounts\\_of\\_Aquasorben.htm](https://caod.oriprobe.com/articles/13454387/Effect_of_Different_Ways_and_Amounts_of_Aquasorben.htm)
- López, C. G., & González, P. A. G. (2004). Selección de Cepas Nativas de Trichoderma spp. Con Actividad Antagónica sobre *Phytophthora capsici* Leonian y Promotoras de Crecimiento en el Cultivo de Chile (*Capsicum annum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22(1), 117-124. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61222115>
- Lu, Z., Tombolini, R., Woo, S., Zeilinger, S., Lorito, M., & Jansson, J. K. (2004). In Vivo Study of Trichoderma-Pathogen-Plant Interactions, Using Constitutive and Inducible Green Fluorescent Protein Reporter Systems. *Applied and Environmental*

*Microbiology*, 70(5), 3073-3081. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.5.3073-3081.2004>

Macías, Grijalva Contreras, R. L., Robles Contreras, F., López Carvajal, A., Núñez Ramírez, F., Macías Duarte, R., Grijalva Contreras, R. L., Robles Contreras, F., López Carvajal, A., & Núñez Ramírez, F. (2019). Irrigation deficit and hydrogel application in olive productivity in desert regions. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(2), 393-404. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i2.1751>

Macías, Hernández-Bautista, B. E., Jiménez-Estrada, M., González, M. C., Glenn, A. E., Hanlin, R. T., Hernández-Ortega, S., Saucedo-García, A., Muria-González, J. M., & Anaya, A. L. (2008). Naphthoquinone spiroketal with allelochemical activity from the newly discovered endophytic fungus *Edenia gomezpompae*. *Phytochemistry*, 69(5), 1185-1196. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.12.006>

Mandal, U., K.L., S., Venkanna, K., Korwar, G., Reddy, Dr. K., Pushpanjali, P., Reddy, N. N., Govindarajan, D., Masane, R., & Yadaiah, P. (2015). Evaluating Hydrogel Application on Soil Water Availability and Crop Productivity in Semiarid Tropical Red Soil. *Indian Journal of Dryland Agricultural Research and Development*, 30, 1. <https://doi.org/10.5958/2231-6701.2015.00018.4>

Montesano, F. F., Parente, A., Santamaria, P., Sannino, A., & Serio, F. (2015). Biodegradable Superabsorbent Hydrogel Increases Water Retention Properties of Growing Media and Plant Growth. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 4, 451-458. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2015.03.052>

Nieto, M. F., Steyaert, J. M., Salazar-Badillo, F. B., Nguyen, D. V., Rostás, M., Braithwaite, M., De Souza, J. T., Jimenez-Bremont, J. F., Ohkura, M., Stewart, A., & Mendoza-Mendoza, A. (2017). Environmental Growth Conditions of *Trichoderma* spp. Affects Indole Acetic Acid Derivatives, Volatile Organic Compounds, and Plant Growth Promotion. *Frontiers in Plant Science*, 8, 102. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00102>

- Ortega, A. E., Flores Tejeida, L. B., Guevara-González, R. G., Rico-García, E., & Soto-Zarazúa, G. M. (2020). Hidrogel acrilato de potasio como sustrato en cultivo de pepino y jitomate. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(6), 1447-1455. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i6.2222>
- Ortuño, N., Miranda, C., & Claros, M. (2013). Selección de cepas de Trichoderma spp. Generadoras de metabolitos secundarios de interés para su uso como promotor de crecimiento en plantas cultivadas. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 1(1), 16-32. <https://doi.org/10.36610/j.jsab.2013.010100016>
- Pathak, V., & Ambrose, R. P. K. (2020). Starch-based biodegradable hydrogel as seed coating for corn to improve early growth under water shortage. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(14), 48523. <https://doi.org/10.1002/app.48523>
- Pattanaaik, S., Wangchu, L., Singh, B., Hazarika, B., Singh, S., & Pandey, A. (2015). Effect of hydrogel on water and nutrient management of Citrus reticulata. *Research on Crops*, 16. <https://doi.org/10.5958/2348-7542.2015.00015.7>
- Pelagio, R., Esparza-Reynoso, S., Garnica-Vergara, A., López-Bucio, J., & Herrera-Estrella, A. (2017). Trichoderma-Induced Acidification Is an Early Trigger for Changes in Arabidopsis Root Growth and Determines Fungal Phytostimulation. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.00822>
- Pieve, L. M., Guimarães, R., Assis, G., Amato, G. A., & Corrêa, J. (2013). Use of water retention polymers during implementation of coffee plantations. *Coffee Science*, 8(3), 314-323. <http://www.coffeescience.ufla.br/index.php/Coffeescience/article/view/450>
- Pontes, R. A., Gondim, F. A., & Costa, M. C. G. (2018). Seedling growth of tree species under doses of hydrogel and two levels of luminosity. *Revista Árvore*, 42. <https://doi.org/10.1590/1806-90882018000100012>
- Rivera, R. D., Muekay, C. M., Saltos, J. R. M., & Intriago, D. A. M. (2021). Volumen de humedecimiento por la aplicación de hidrogel en suelos de diferentes texturas. *La*

*Granja: Revista de Ciencias de la Vida*, 33(1), 67-75.  
<https://doi.org/10.17163/lgr.n33.2021.06>

- Robinson, J., & Galán, S. (2012). *Plátanos y bananas*. Editorial Paraninfo.
- Robinson, & Sáuco, V. G. (2009). Weaning (acclimatization) of in vitro-produced banana plants. *Fruits*, 64(5), 325-332. <https://doi.org/10.1051/fruits:2009026>
- Rodriguez, R. J., White, J. F., Arnold, A. E., & Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: Diversity and functional roles. *The New Phytologist*, 182(2), 314-330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>
- Ruano, D., Prieto, P., Rincón, A. M., Gómez-Rodríguez, M. V., Valderrama, R., Barroso, J. B., & Mercado-Blanco, J. (2016). Fate of *Trichoderma harzianum* in the olive rhizosphere: Time course of the root colonization process and interaction with the fungal pathogen *Verticillium dahliae*. *BioControl*, 61(3), 269-282. <https://doi.org/10.1007/s10526-015-9706-z>
- Ruiz, M. F., Ornelas-Paz, J. de J., Olivas-Orozco, G. I., Acosta-Muñiz, C. H., Sepúlveda-Ahumada, D. R., Pérez-Corral, D. A., Rios-Velasco, C., Salas-Marina, M. Á., Fernández-Pavía, S. P., Ruiz-Cisneros, M. F., Ornelas-Paz, J. de J., Olivas-Orozco, G. I., Acosta-Muñiz, C. H., Sepúlveda-Ahumada, D. R., Pérez-Corral, D. A., Rios-Velasco, C., Salas-Marina, M. Á., & Fernández-Pavía, S. P. (2018). Efecto de *Trichoderma* spp. Y hongos fitopatógenos sobre el crecimiento vegetal y calidad del fruto de jitomate. *Revista mexicana de fitopatología*, 36(3), 444-456. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1804-5>
- Samolski, I., Rincón, A. M., Pinzón, L. M., Viterbo, A., & Monte, E. (2012). The qid74 gene from *Trichoderma harzianum* has a role in root architecture and plant biofertilization. *Microbiology (Reading, England)*, 158(Pt 1), 129-138. <https://doi.org/10.1099/mic.0.053140-0>
- Sánchez, R. E., Sánchez-Ortiz, B. L., Sandoval-Espinosa, Y. K. M., Ulloa-Benítez, Á., Armendáriz-Guillén, B., García-Méndez, M. C., & Macías-Rubalcava, M. L.

- (2013). Hongos endófitos: Fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 16(2), 132-146. [https://doi.org/10.1016/S1405-888X\(13\)72084-9](https://doi.org/10.1016/S1405-888X(13)72084-9)
- Sarvaš, M., Pavlenda, P., & Takáčová, E. (2007). Effect of hydrogel application on survival and growth of pine seedlings in reclamations. *Journal of Forest Science*, 53. <https://doi.org/10.17221/2178-JFS>
- Satriani, A., Catalano, M., & Scalcione, E. (2018). The role of superabsorbent hydrogel in bean crop cultivation under deficit irrigation conditions: A case-study in Southern Italy. *Agricultural Water Management*, 195, 114-119. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2017.10.008>
- Schardl, C. L. (2001). Epichloë festucae and related mutualistic symbionts of grasses. *Fungal Genetics and Biology: FG & B*, 33(2), 69-82. <https://doi.org/10.1006/fgbi.2001.1275>
- Sinha, S. (2018). Biodegradable superabsorbents: METHODS of preparation and application-A review. En *Fundamental Biomaterials: Polymers* (pp. 307-322). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102194-1.00014-1>
- Smith, M. K., Biggs, B. J., & Scott, K. J. (1986). In vitro propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 6(3), 221-228. <https://doi.org/10.1007/BF00040007>
- Sturz, A. V., & Nowak, J. (2000). Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Applied Soil Ecology*, 15(2), 183-190. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00094-9](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00094-9)
- Sudha, V., Govindaraj, R., Baskar, K., Al-Dhabi, N., & Duraipandiyan, V. (2016). Biological properties of Endophytic Fungi. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016150436>

- Thombare, N., Mishra, S., Siddiqui, M., Usha, J., Deodhari, S., & Mahajan, G. (2018). Design and development of guar gum based novel, superabsorbent and moisture retaining hydrogels for agricultural applications. *Carbohydrate Polymers*, 185(1), 169-178. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.01.018>
- Tucci, M., Ruocco, M., De Masi, L., De Palma, M., & Lorito, M. (2011). The beneficial effect of *Trichoderma* spp. On tomato is modulated by the plant genotype. *Molecular Plant Pathology*, 12(4), 341-354. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00674.x>
- Wei, Y., & Durian, D. J. (2014). Rain water transport and storage in a model sandy soil with hydrogel particle additives. *The European Physical Journal E*, 37(10), 97. <https://doi.org/10.1140/epje/i2014-14097-x>
- Yadollahi, A., Teymouri, N., Abdousi, V., & Sarikhani, S. (2012). Application of Superabsorbent in Microcatchments for Establishing Almond Orchards under Rainfed Condition. *Journal of Water Research in Agriculture*, 26(1), 93-104. <https://doi.org/10.22092/jwra.2012.118954>
- Yang, Cen, R., Feng, W., Liu, J., Qu, Z., & Miao, Q. (2020). Effects of Super-Absorbent Polymer on Soil Remediation and Crop Growth in Arid and Semi-Arid Areas. *Sustainability*, 12(18), Art. 18. <https://doi.org/10.3390/su12187825>
- Yang, L., Yang, Y., Chen, Z., Guo, C., & Li, S. (2014). Influence of super absorbent polymer on soil water retention, seed germination and plant survivals for rocky slopes eco-engineering. *Ecological Engineering*, 62, 27-32. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.10.019>
- Yang, Wu, P., Wu, J., Zhao, S., Zhao, X., Huang, Z., & He, F. (2010). Impacts of water-retaining agent on soil moisture and water use in different growth stages of winter wheat. 26, 19-26. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1002-6819.2010.12.004>

## IX. ANEXOS

### 1. Metodología de la cámara de Neubauer.

Para preparar el Tween 80 Al 0.03 %: en un frasco de laboratorio con tapa, agregar 250 mililitros de agua des-ionizada y agregar 75 microlitros ( $\mu\text{L}$ ) de Tween 80. Esterilizar a una presión de 15 lb/in<sup>2</sup> por 15 minutos. Almacenar cerrado a temperatura ambiente.

Raspar con una espátula los cultivos de hongo con 5 días de crecimiento y se retira la espora, colocar en un vial estéril 5 mililitros (ml) de Tween 80 a 0.03 %. Agitar la suspensión de esporas en un vortex durante 5 minutos.

Agitar la suspensión de esporas en un vortex durante 1 minuto. Colocar un cubreobjetos sobre la cámara de Neubauer, de la suspensión de conidios se toma 10 microlitros ( $\mu\text{L}$ ) y colocan en la cuadrícula, dejar reposar por dos minutos para estabilizar el movimiento de los conidios. La muestra cargada se visualiza en el microscopio compuesto utilizando el aumento 40X, se cuentan las esporas

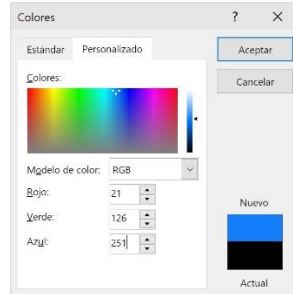
Para realizar el cálculo de las concentraciones, obtenido el promedio de cada una de la suspensión de esporas, se aplica las siguientes formulas:

- Fórmula para calcular el número de esporas por mililitro:  
$$\text{Numero de esporas/mL} = (\text{Promedio de esporas}) (1 \times 10^5)$$
- Fórmula para calcular el volumen:  
$$\text{Volumen a disolver} = (1 \times 10^5 \cdot \text{Volumen requerido}) / \text{Numero de esporas por mL.}$$

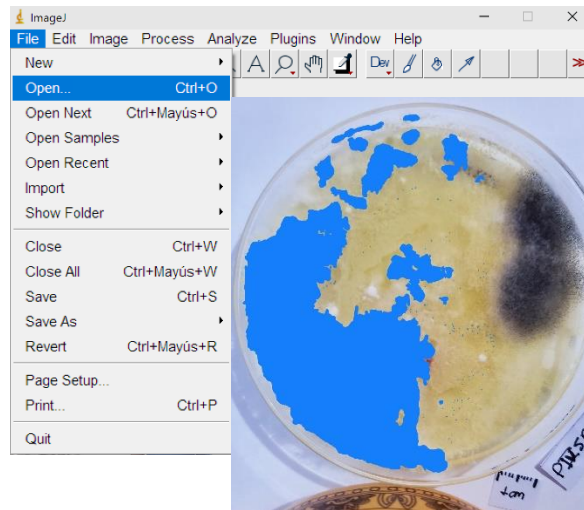
Por último, tenemos que agregar el Volumen a disolver (V) en el volumen requerido.

## 2. Instrucciones para el programa Image J

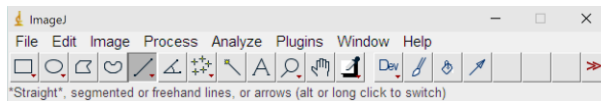
- a. La imagen se coloreo con el área del hongo de color azul con la siguiente configuración:



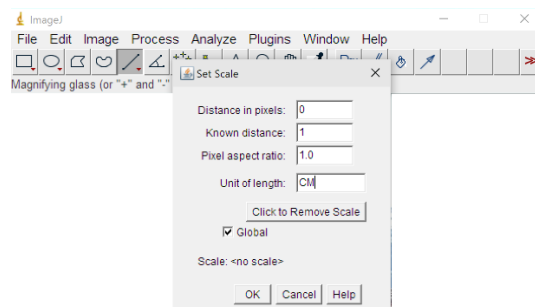
- b. File > Open > Elegir imagen



- c. Herramienta Straight > Trazar una línea en la regla de 1 cm



- d. Analyze > Set scale > Know distance: 1 > Unid: CM



e. Image > Adjust > Color Threshold; Hue: 16-156; Saturation: 50-244 y Brighness: 234-255.

