

Efecto de gradientes de humedad del suelo sobre la capacidad antagónica del *Trichoderma* sp. contra *Fusarium oxysporum* y su relación con el crecimiento de las plantas de piña (*Ananas comosus*)

Keyshell Shakira Cole Hodgson.

Tesis para optar por el grado de licenciatura en ingeniería agronómica con énfasis en fitotecnia

**Universidad de Costa Rica
Sede del Atlántico
Facultad de Ciencias Agroalimentarias
Escuela de Agronomía**

M.Sc. Gerardo Pérez

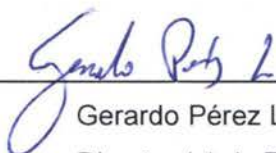
2022

Este trabajo final de investigación fue aceptado por la Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Escuela de Agronomía de la de la Universidad de Costa Rica, Sede del Atlántico, como requisito parcial para optar por el grado y título de Licenciado en Ingeniería Agronómica con énfasis en Fitotecnia.

Firmantes:



Rosibel Orozco Vargas
Representante del Tribunal



Gerardo Pérez León
Director (a) de Tesis



Salvador Monge Fallas
Lector de la tesis

Werner Rodríguez Montero
Lector de la tesis



Kenneth Largaespada Zelaya
Representante de la carrera Ing. Agronomía.



Keyshell Shakira Cole Hodgson
Postulante

DEDICATORIA

A mi querida madre Nilda Hodgson por estar en las buenas y en las malas dándome motivación para seguir adelante; por siempre creer en mí, cuando yo dudé de mi capacidad.

A mi padre Alexander Cole por su apoyo incondicional y su disponibilidad de siempre salir a cualquier hora del día a mi auxilio. A mi hermano Jamal Cole, por siempre ayudarme cuando lo necesitaba y por ayudarme a cumplir sueños de intercambios estudiantiles.

A mi tío y mi tía Teddy Cole Scarlett (Q.E.P.D.) y Mayra Gómez que fueron los primeros en abrirme las puertas de sus casas al yo iniciar mi aventura universitaria, los quiero mucho y estoy muy agradecida, a mi Abuela Shilda Bozwell por siempre orar, creer y estar para mí; a mis amigas Glendolyn Milliner, Melody Watson y Daniela Luna por su apoyo emocional, siempre acertado. Y a todas las personas que en algún momento fueron parte del proceso.

Salmos 111:10

El principio de la sabiduría es el temor de Jehová; Buen entendimiento tiene todos los que practican sus mandamientos.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a Dios, a todas las personas de Upala Agrícola S.A y en especial a Greddin Chavaría por siempre tener la disposición de facilitar cualquier material o consulta, a la Universidad de Costa Rica por darme la oportunidad de realizar la tesis a pesar de las restricciones por la pandemia, a la familia Salazar Rojas por abrirme las puertas de su hogar y siempre tratarme como una más. A los estudiantes asistentes en especial a Keylor Delgado y a mi compañero de carrera Kenneth Picado, por apoyarme en todas las etapas, sin ellos no hubiera sido posible; al personal del laboratorio, en especial a Juan José. Al profesor Eduardo Corrales, por ayudarme a encontrar resultados con mayor profundidad. Por último, me gustaría agradecer a todos mis profesores que participaron de esta tesis Gerardo Pérez, Werner Rodríguez, Ronald Arias y Salvador Monge.

RESUMEN

El cultivo de la piña (*Ananas comosus*) desempeña un rol importante en la economía del país, siendo el tercer producto de mayor exportación costarricense después de los dispositivos médicos y el banano.

Desafortunadamente, la expansión de este cultivo trajo consigo desventajas, como la expresión de muchas enfermedades, entre ellas la fusariosis, producido por el patógeno *Fusarium* sp que en consecuencia afecta la producción y rendimiento de la piña si no se es abordado oportunamente y por ello se requiere de investigación profunda para combatirlo de la mejor forma ante las condiciones climáticas cambiantes de Costa Rica. Por ello la presente investigación se hizo con el propósito de demostrar el efecto de dos gradientes de humedad en el suelo sobre el patosistema de la planta de piña y al mismo tiempo se evaluó el comportamiento del patógeno *Fusarium oxysporum* y el antagonista *Trichoderma* sp ante esos gradientes.

Parte de los resultados denotan lo siguiente: el tratamiento con mayor crecimiento de la hoja D fue el T4 (*Fusarium* 100CC%) con 70,69 cm, el de menor elongación de hoja D fue el T5 (*Trichoderma* 30CC%) con 60,47 cm. El mayor peso fresco total se halló en el tratamiento T6 (*Trichoderma* 100CC%) con 1143,05 g. El menor peso fresco total T7 (*Fusarium-Trichoderma* 30CC%) con 664,39 g. En el peso seco total el T3 (*Fusarium* 100CC%) fue el que acumuló mayor biomasa con 176,28 g, y T8 (*Fusarium-Trichoderma* 100CC%) el de menor acopio de masa con 98,24 g.

En el porcentaje de severidad las plantas de mayor infección fue el T4 (*Fusarium* 100CC%) y T3 (*Fusarium* 30CC%) con 5,20%-4,18% respectivamente. En la temperatura de las plantas de piña se observó que el T4 (*Fusarium* 100CC%) durante cuatro semanas

presentó mayores temperaturas destacando en la semana 2 y 5 con 35,79 °C y 31,50 °C. Se concluye que la falta de riego y otras variables como los cambios químicos del suelo y las temperaturas externas a la planta afectan la expresión del antagonista *Trichoderma harzianum*, además, se observa que el *Fusarium* es altamente competitivo logrando provocar efectos positivos en las plantas.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	3
AGRADECIMIENTOS	4
RESUMEN.....	5
ÍNDICE	7
INTRODUCCIÓN.....	14
OBJETIVOS.....	17
Objetivo general	17
Objetivos específicos.....	17
HIPÓTESIS	17
REVISIÓN DE LITERATURA	18
Importancia económica	18
Generalidades de la piña.....	18
Generalidades del patógeno	19
<i>Fusarium oxysporum</i>	19
<i>Proceso infeccioso y sobrevivencia del patógeno</i>	21
<i>Síntomas generales que se producen en las plantas</i>	22
<i>La fusariosis en piña es producida por Fusarium oxysporum</i>	22
Generalidades del hongo antagonista de <i>Fusarium</i> , <i>Trichoderma</i> sp.....	23
<i>Clasificación taxonómica del hongo antagonista Trichoderma sp.</i>	24
<i>Beneficios derivados del uso de Trichoderma en el combate de patógenos bajo distintas condiciones ambientales</i>	24
Investigaciones llevadas a cabo en Costa Rica sobre el efecto antagónico de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Fusarium</i> con respecto a la humedad de suelo.....	26
METODOLOGÍA.....	28
Ubicación de la investigación.....	28
Materiales y condiciones del experimento.....	28
Material vegetativo.....	28

Suelo.....	28
Fuente de inóculo.....	29
<i>Fusarium oxysporum</i>	29
<i>Trichoderma</i> sp.....	29
Fertilización.....	30
Diseño experimental.....	32
Tratamientos.....	33
Variables de respuesta.....	35
Mediciones de la hoja D.....	36
<i>Largo</i>	36
<i>Ancho</i>	36
<i>Área</i>	36
Raíces.....	37
Peso seco y fresco de los órganos vegetales.....	39
Severidad Interna del daño de <i>Fusarium</i> en el tallo.....	40
Temperatura de la planta.....	41
Análisis de datos.....	42
RESULTADOS.....	45
Crecimiento de la hoja D de las plantas de piña tratadas con <i>Trichoderma</i> o <i>Fusarium</i> a dos gradientes de humedad.....	45
<i>Largo de la hoja D (cm)</i>	45
<i>Ancho de la hoja D (cm)</i>	47
<i>Área (cm²) de la hoja D</i>	49
Peso fresco y seco de las plantas de piña inoculadas con <i>Fusarium</i> , <i>Trichoderma</i> o ambas a dos gradientes de humedad.....	51
Área de raíces de la piña provenientes de plantas inoculados con <i>Fusarium</i> , <i>Trichoderma</i> a dos gradientes de humedad.....	54
Severidad interna en el tallo de plantas de piña inoculados con <i>Fusarium</i> , <i>Trichoderma</i> cultivadas a diferentes gradientes de humedad.....	56
Temperatura (°C) de plantas de piña inoculadas con <i>Trichoderma</i> y <i>Fusarium</i> a dos gradientes de humedad.....	57
CONCLUSIONES.....	70
RECOMENDACIONES.....	71

REFERENCIAS	72
ANEXOS	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	21
<i>Ciclo de vida generalizado de Fusarium spp</i>	
Figura 2	23
<i>Síntoma de la fusariosis: haces vasculares necrosados.</i>	
Figura 3	35
<i>Representación gráfica de la distribución de las unidades experimentales y tratamientos, estructurados en diversas combinaciones factoriales en las mesas del invernadero de la UCR, Recinto Turrialba</i>	
Figura 4	37
<i>Toma de datos de la hoja D de plantas de piña, inoculadas con Trichoderma, Fusarium o ambas a dos gradientes de humedad evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba</i>	
Figura 5	38
<i>Raíces de plantas de piña debidamente separadas, listas para ser analizadas por medio del programa WINRHIZO, en el laboratorio de fitopatología d la UCR, Recinto Turrialba</i>	
Figura 6	39
<i>Separación de plantas de piñas por órganos, pesadas, colocadas y etiquetadas en bolsas de papel listos para ser secados en el horno de convección.</i>	
Figura 7	40

Fotografía del corte longitudinal de el tallo de una planta de piña, lista para ser procesada por Image J.

Figura 8..... 41

Toma de imágenes infrarrojas por medio de la cámara termográfica FLIR-E63900, analizadas en el invernadero de la UCR, Recinto Turrialba

Figura 9..... 46

Largo de la hoja D, de plantas de piña inoculadas con Trichoderma, Fusarium o ambas a dos gradientes de humedad evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba.

Figura 10..... 48

Ancho de la hoja D, de plantas de piña inoculadas con Trichoderma, Fusarium o ambas a dos gradientes de humedad evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba.

Figura 11..... 50

Área de la hoja D, de plantas de piña inoculadas con Trichoderma, Fusarium o ambas a dos gradientes de humedad evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba

Figura 12..... 58

Medición de la temperatura de las plantas de piña inoculadas con Fusarium, Trichoderma o ambas a dos gradientes de humedad, evaluados en el invernadero de la UCR, Recinto Turrialba.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	31
<i>Descripción de los fertilizantes empleados en las plantas de piña utilizados en la investigación, llevada a cabo en el invernadero de la UCR, recinto Turrialba.</i>	
Tabla 2	34
<i>Descripción de los tratamientos utilizados a partir de los diferentes gradientes de humedad y fuentes de inoculación del patógeno o antagonista utilizado en cada unidad experimental, a nivel de invernadero entre junio-octubre 2021.</i>	
Tabla 3	47
<i>Comparación de medias del largo de la hoja D de la semana 5,9 y 14 de evaluación, de plantas de piña inoculadas con Trichoderma, Fusarium o ambas a dos gradientes de humedad evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba</i>	
Tabla 4	51
<i>Comparación de medias del área de la hoja D de plantas de piña, de la semana 5,9 y 14 de evaluación, de plantas de piña inoculadas con Trichoderma, Fusarium o ambas a dos gradientes de humedad evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba</i>	
Tabla 5	54
<i>Peso fresco, seco de tallos, hojas, raíces y peso total de plantas de piña (Ananas comosus) con Trichoderma, Fusarium, con ambos o sin ningún inóculo a dos gradientes de humedad, evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba</i>	
Tabla 6	55
<i>Área de raíces de la piña provenientes de plantas inoculadas con Fusarium, Trichoderma a dos gradientes de humedad evaluadas en el invernadero de UCR, Recinto Turrialba.</i>	

Tabla 7	56
----------------------	----

Severidad interna en el tallo de plantas de piña inoculados con Fusarium, Trichoderma cultivadas a dos gradientes de humedad evaluadas la UCR, Recinto Turrialba.

Tabla 8	59
----------------------	----

Temperatura de plantas de piña inoculadas con Trichoderma y Fusarium a dos gradientes de humedad evaluadas en el invernadero de la UCR, Recinto Turrialba.

Anexos

Anexo 1	80
----------------------	----

Análisis químico foliar de plantas de piña, estudiadas en el invernadero de la UCR, Recinto Turrialba.

Anexo 2	81
----------------------	----

Análisis químico de suelo, estudiado en el invernadero de la UCR, Recinto Turrialba.

Anexo 3	81
----------------------	----

Etiqueta del bio estimulante radicular Triflora.

Anexo 4	82
----------------------	----

Análisis de varianza del “largo de la hoja D” de plantas de piña.

Anexo 5	82
----------------------	----

Análisis de varianza del “ancho de la hoja D” de plantas de piña.

Anexo 6	83
----------------------	----

Análisis de varianza del “área de la hoja D” de plantas de piña.

Anexo 7	83
----------------------	----

Análisis de varianza de las “temperaturas máximas” encontradas en plantas de piña.

Anexo 8	84
<i>Análisis de varianza del “peso fresco total” de las plantas piña.</i>	
Anexo 9	84
<i>Análisis de varianza del “peso seco total” de las plantas piña</i>	
Anexo 10	85
<i>Análisis de varianza del “peso fresco de la raíz” de las plantas piña.</i>	
Anexo 11	85
<i>Análisis de varianza del “peso seco de la raíz” de las plantas piña.</i>	
Anexo 12	86
<i>Análisis de varianza del “peso fresco del tallo” de las plantas piña.</i>	
Anexo 13	86
<i>Análisis de varianza del “peso seco del tallo” de las plantas piña.</i>	
Anexo 14	87
<i>Análisis de varianza del “peso fresco de las hojas” de las plantas piña.</i>	
Anexo 15	87
<i>Análisis de varianza del “peso seco de las hojas” de las plantas piña.</i>	
Anexo 16	88
<i>Análisis de varianza del “porcentaje de severidad” de las plantas de piña.</i>	
Anexo 17	88
<i>Análisis de varianza del “volumen de la raíz” de las plantas de piña.</i>	

INTRODUCCIÓN

La piña (*Ananas comosus*), ha sido durante mucho tiempo uno de los frutos más populares en el mundo, por lo que su producción es muy amplia, cubriendo 849 840,6 ha de la superficie terrestre de las cuales 1,28% (65 442,41 ha) se cultivan en Costa Rica (Monitoreo del Cambio del Uso y Cobertura del Suelo en Paisajes Productivos, 2022; Hossain, 2016). Actualmente, el país es el principal exportador de piña fresca a nivel mundial, superando a Brasil, Filipinas, Tailandia e Indonesia; además, es el tercer producto de mayor exportación costarricense, después de los dispositivos médicos y el banano (Promotora de Comercio Exterior, 2019).

El cultivo desempeña un rol clave, como empleador directo de 32 000 personas e indirecto de otras 120 000. La agroindustria piñera influencia directamente la liquidez de las cuentas nacionales mediante el posicionamiento de marca, valor agregado, prestaciones sociales y beneficios para otras industrias del país. La producción y comercialización de la piña tiene vínculos muy estrechos con la economía nacional, una disminución o aumento en la producción de piña equivalente a 100 millones de colones (tendría una consecuencia a la economía de 100 millones de colones al sector piñero y 70 millones en otras actividades operacionales). Según el Banco de Costa Rica, la producción de piña tiene un efecto del 2% en los impuestos (por ejemplo: bienes (muebles e inmuebles)) y 5% en las contribuciones sociales (vivienda, salud, entre otros) (Cámara Nacional de Productores y Exportadores de Piña, 2019).

Desafortunadamente, la expansión de las áreas de siembra del cultivo de piña en Costa Rica favoreció la dispersión de patógenos y el desarrollo de enfermedades como la fusariosis, cuyo agente causal es el patógeno *Fusarium* sp., el cual ha afectado económicamente la producción mundial, donde países como Brasil, disminuyeron su producción en gran escala (de 30-40% en el 2017) (Díaz Gutiérrez, 2018).

El *Fusarium oxysporum* es un patógeno facultativo, con alta capacidad de sobrevivir en materia orgánica, e infectar plantas de piña en cualquier etapa de su crecimiento en especial cuando esta sufre algún tipo de desbalance nutricional o cambia de estado fenológico. Por otro lado, presenta una alta diversidad de especies, identificándose más de 120 formas especiales, que pertenecen a una amplia gama de familias de plantas (Michielse & Rep, 2009). Este patógeno produce clamidosporas, macro y micro conidios lo que le confiere una gran adaptabilidad para sobrevivir en suelos por muchos años, en piña los estudios son incipientes y no se dispone de mayor información, pero en banano se conoce que las esporas pueden soportar hasta 30 años inactivas en el suelo (Raman et al., 2019).

Costa Rica se encuentra geográficamente en la zona tropical, en la franja planetaria comprendida entre los paralelos del Trópico de Cáncer y el del Trópico de Capricornio. Los bosques, red hidrográfica, suelos y clima; influyen sobre las condiciones climáticas locales ocasionando gran cantidad de precipitaciones anuales (Instituto Meteorológico Nacional de Costa Rica, 2020). En consecuencia, se favorece el ambiente idóneo para el desarrollo de hongos y la producción de micotoxinas (Gimeno, 2002).

La aparición de patógenos en el suelo ha hecho necesaria la implementación de tácticas de combate que permitan alcanzar a los patógenos en su nicho ecológico. En ese sentido el género *Trichoderma* sp. ha sido utilizado como parte de las estrategias de manejo. Eraso Insuasty et al. (2014), concluyeron que el *Trichoderma* tiene la capacidad de parasitar a otros hongos; por medio del hiperparasitismo o micoparasitismo, además de tener un modo de acción complejo (quimiotaxismo, antibiosis y parasitismo), características que lo hace ideal para el combate del *Fusarium*.

Por otro lado, existe poco conocimiento, acerca de la influencia relativa de los factores bióticos y abióticos sobre el patosistema de la piña-fusariosis en presencia de *Trichoderma* sp, uno de los organismos antagónicos usados para el control de la

enfermedad que muestra un efecto positivo muy alto contra el patógeno, aligerando las cargas químicas aplicadas (Umaña Castro et al., 2018).

Esta investigación, estudió el efecto que ejerce el *Trichoderma* sobre la piña MD-2, como supresor del *Fusarium oxysporum* frente a diversos gradientes de humedad, además, conocer los gradientes de humedad que no favorecen el crecimiento del patógeno y del hongo antagonista; de ahí la idea de someter ambos microorganismos a gradientes de humedad distintos.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar el efecto de gradientes de humedad del suelo sobre la capacidad antagonista de *Trichoderma* sp. en el patosistema *Ananas comosus*-*Fusarium oxysporum*.

Objetivos específicos

1. Evaluar los efectos sobre las características morfo fisiológicas de las plantas de piña, inoculadas con *Trichoderma harzianum*-*Fusarium oxysporum* bajo gradientes de humedad del suelo.
2. Evaluar la severidad de fusariosis en plantas de piña bajo un gradiente de humedad del suelo.
3. Utilizar imágenes termográficas de plantas de piña inoculadas con *Fusarium* y tratadas con *Trichoderma* como método de diagnóstico de la efectividad del antagonista.

HIPÓTESIS

H₀: La actividad antagonista de *Trichoderma*, no depende de gradientes de humedad en el suelo.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia económica

La piña es un generador de empleo en zonas deprimidas y generador de valor mediante diversos encadenamientos productivos, que en consecuencia favorecen el bienestar del país (CANAPEP, 2019).

Su importancia trasciende desde 1995 debido a la ampliación del área de siembra. Ese mismo año como consecuencia positiva, se generaron millones en divisas, miles de empleos directos e indirectos, además de contribuciones al sistema de seguridad social.

A partir del 2015, según estadísticas realizadas por la Promotora del Comercio Exterior de Costa Rica (PROCOMER), la piña se categorizó como la mejor del mundo; esto no solo por su calidad y sabor, si no por las diversas certificaciones adquiridas (más de 11) que regulan las buenas prácticas agrícolas (BPA), la calidad de los procesos, protección ambiental, inocuidad, calidad de los procesos, bienestar laboral y social, entre otros, confiriéndole versatilidad de ser preferida en muchos países europeos, del medio oriente, asiáticos y americanos (CANAPEP, 2019).

Generalidades de la piña

La piña es una planta perteneciente al reino *Plantae*, orden *Bromeliales* y familia de las *Bromeliaceae*. Dicha familia consiste aproximadamente de 2794 especies y de 56 géneros que se han adaptado a un amplio rango de hábitats alrededor del mundo, se encuentran desde climas muy húmedos de regiones tropicales hasta regiones frías del subtrópico (The Biology of *Ananas Comosus* var. *comosus* (Pineapple), 2008).

La planta de piña es monocotiledónea, herbácea, perenne, alógama y auto incompatible originaria de América del Sur de la región de Mattogroso, entre Uruguay y Brasil. Se caracterizan por ser altamente eficientes en el uso del agua debido a que la

mayoría son xerófitas epífitas, además de ser plantas de reproducción asexual principalmente, a través de hijos (Uribe Clavijo et al., 2012).

El sistema radical de esta planta es superficial (se localizan en los primeros 15 cm del suelo, aunque ocasionalmente pueden profundizar hasta 60 cm o más), su profundidad depende esencialmente de las características físicas del suelo, estructura, aireación y humedad (Sánchez Escalante, 2012). Su tallo es grueso y corto, mide de 20-40 cm de longitud y de 3.5-6.5 cm de ancho, presenta entrenudos cortos y yemas para el desarrollo de retoños y raíces. Alcanzando una altura de aproximadamente 0.6-1.2 m; el eje floral se forma entre la roseta de las hojas, con hojas en forma de espadas, dentadas de 10-20 cm de largo con una espina en el ápice, coriáceas de 2 a 3 cm de ancho y 1 m de largo (Jiménez, 1996).

La piña demora de 10-11 meses para la obtención del fruto, el desarrollo del primer fruto, su desarrollo se divide en cinco fases fenológicas, crecimiento vegetativo (fase 1, con una duración de 7 meses), inducción floral (fase 2, con una duración de 1 mes), floración (fase 3, con una duración de 15 días), desarrollo del fruto (fase 4, la duración de la etapa de desarrollo difiere de la variedad, de la época de siembra y de las condiciones climáticas de la zona.) y por último la etapa de maduración de la planta (fase 5, oscila entre los 15-30 días para alcanzar el grado de madurez necesario para ser cosechada) (Vargas Céspedes et al., 2018).

Generalidades del patógeno

Fusarium oxysporum

El género *Fusarium* es un patógeno facultativo del orden Hypocreales, perteneciente a la familia de Nectriaceae, con alta capacidad de sobrevivir en materia orgánica y en el suelo. Este hongo es el causante de la Marchitez de *Fusarium* o Fusariosis en un amplio

rango de plantas. El complejo de *F. oxysporum* posee diferentes formas especiales (f. sp.) que no pueden ser distinguidas usando criterios morfológicos, que colectivamente infectan hospederos como algodón, banano, clavel, fréjol, melón, tomate, piña, entre otros (Garcés Fiallos, 2015).

Las formas especiales a su vez se subdividen en razas, las cuales han sido descritas al basarse en la habilidad del patógeno para infectar diferentes haplotipos o variedades en una especie hospedante (Pires da Silva et al., 2014).

Los principales mecanismos de dispersión de *Fusarium* son los movimientos de suelo infestado, el agua de escorrentía y el uso de almácigo infectado. En cultivo *in vitro* se caracteriza por producir una colonia de rápido crecimiento con una tasa diaria de crecimiento cercana a un centímetro en medio PDA a 25°C (Retana et al., 2018).

El hongo es capaz de producir tres clases de estructuras de propagación y sobrevivencia conocidas como microconidios, macroconidios y clamidospora. La morfología del micelio puede ser uno de estos dos tipos:

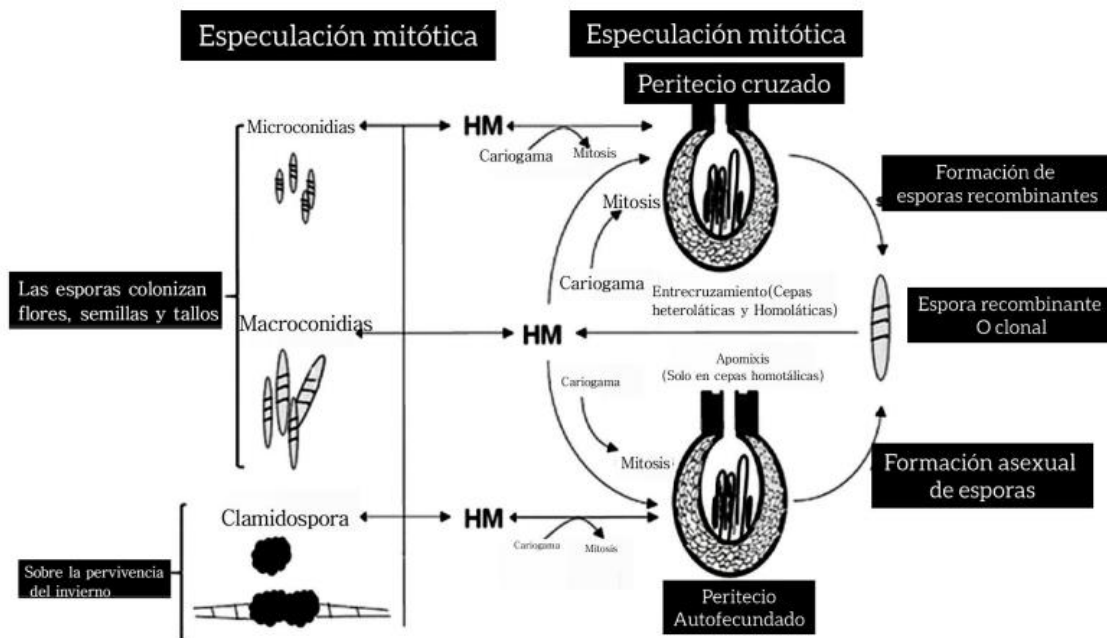
Tipo micelial: producción abundante de micelio aéreo, algodonoso, de coloración variable de blanco a rosado durazno, pero con una coloración en la superficie del agar púrpura o violeta y con pocos microconidios.

Tipo pionatal: con la formación de poco o ningún micelio aéreo y abundantes microconidios (Garcés de Granada et al., 2001).

En la figura 1 se muestra el ciclo del patógeno:

Figura 1

Ciclo de vida generalizado de *Fusarium spp*



Nota. Todos los microorganismos existentes tienen formas peculiares de reproducirse: Dweba, C.C., Figlan, S., Shimelis, H.A., Motaung, T.E., Sydenham, S., Mwadzingeni, L., Tsilo, T.J. (2017). *Fusarium head blight of wheat: Pathogenesis and control strategies*. Crop Protection, 91 (1), 114-122. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.10.002>.

Proceso infeccioso y sobrevivencia del patógeno

El proceso infeccioso del patógeno es estimulado por los exudados secretados por las raíces de las plantas. Al contrario de otros géneros fúngicos, este patógeno ingresa directamente en las raíces de plantas, con la ayuda de varias sustancias enzimáticas y toxinas. Después de ingresar a las células de la epidermis, el micelio del hongo atraviesa el córtex inter o intracelularmente hasta alcanzar los tejidos vasculares (xilema). Cuando alcanza estos tejidos, el patógeno rápidamente se transporta hacia arriba y coloniza verticalmente las células del xilema de estos segmentos superiores (Garcés Fiallos, 2015).

La supervivencia del patógeno se da debido a las estructuras denominadas clamidosporas que le confieren adaptabilidad para sobrevivir en estado de dormancia por muchos años en el suelo (Retana et al., 2018).

Síntomas generales que se producen en las plantas

Debido a que el patógeno crece internamente en los tejidos vasculares de la raíz y otros órganos, dificulta la movilización de agua y nutrientes desde la raíz al resto de la planta, lo cual provoca que el hospedero manifieste síntomas de deficiencias nutricionales de elementos móviles, déficit hídrico y otros daños asociados a la carencia de los compuestos que dejan de llegar hasta los órganos aéreos de la planta.

Algunos de los síntomas observados con mayor frecuencia son defoliaciones, marchitez, descoloraciones vasculares y la muerte de la planta. Esta respuesta (síntomas) puede ser influenciada por la raza fisiológica del patógeno y el genotipo o cultivar. Por ejemplo, un mismo cultivar de frijol puede ser resistente y susceptible a *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* razas 2 y 6, respectivamente, así como también, dos cultivares de la misma especie pueden ser resistente y susceptible a *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* raza 6 (Garcés Fiallos, 2015).

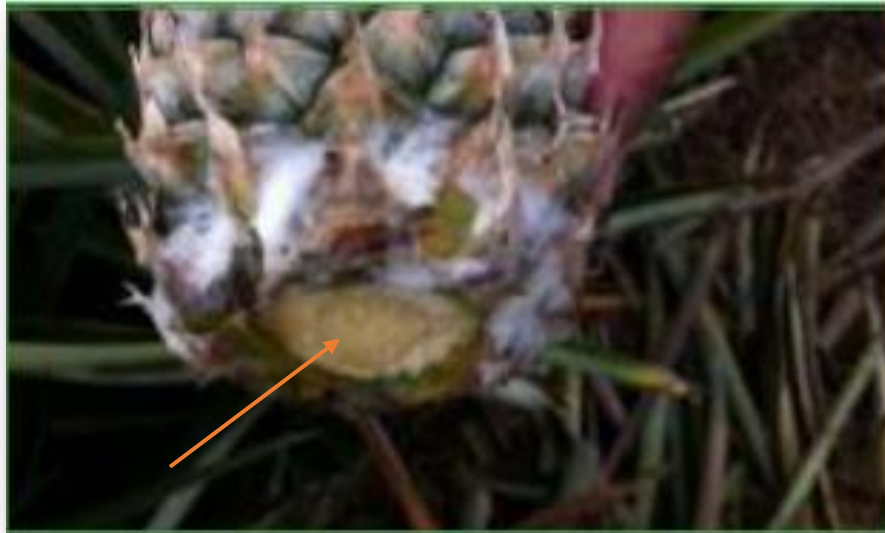
La fusariosis en piña es producida por *Fusarium oxysporum*

Esta enfermedad se caracteriza por una pérdida del color verde (clorosis) en el follaje, tallo, puede presentar necrosis (muerte). Al realizar un corte longitudinal, se visualizan células muertas en los haces vasculares. También pueden presentar síntomas de deshidratación como el “acucharamiento” del follaje. Menor desarrollo y el tamaño de los frutos, muerte radical y limitaciones en la absorción de nutrientes y el anclaje de la planta (Monge Muñoz, 2018).

En la figura 2, se visualizará sintomatologías que se presentan a nivel de fruto en piña a causa de la fusariosis.

Figura 2

Síntoma de la fusariosis: haces vasculares necrosados.



Nota. A nivel de fruto se observa una clorosis generalizada como consecuencia del desarrollo de la enfermedad de la fusariosis: Monge Muñoz, M. (2018). *Guía para la identificación de las principales plagas y enfermedades en el cultivo de piña*. CICA, 40 (1), 1-46. <https://acortar.link/8ZXNgV>

Generalidades del hongo antagonista de *Fusarium*, *Trichoderma* sp.

Los microorganismos antagonistas se caracterizan por predominar en los ecosistemas terrestres (suelos agrícolas, pastizales, bosques y desiertos) y acuáticos (Zhang et al., 2005). Algunas especies son de vida libre en el suelo, oportunistas, simbioses de plantas, y otras son mico parásitos. Tienen la capacidad de colonizar una gran diversidad de ambientes, debido a que se reproducen rápidamente, además no son nutricionalmente

exigentes. Su crecimiento se favorece por la materia orgánica, humedad y temperatura óptimas de crecimiento que se encuentran entre los 25-30 °C. Sin embargo, pueden adaptarse a condiciones extremas de temperatura, pH y salinidad (Argumedo Delira et al., 2009).

Trichoderma sp., poseen micelios inicialmente sumergidos y al final micelio aéreo hialino aracnoideo, lanoso o enmarañado de forma variable, según la cepa y el medio de cultivo (Kubicek & Harman, 2002).

Clasificación taxonómica del hongo antagonista *Trichoderma sp.*

El *Trichoderma* es un hongo del reino Mycetozoa, del orden Hypocreales y de la familia Hypocraceae, caracterizadas como del género *Trichoderma* e *Hypocrea* (Argumedo-Delira et al., 2009).

Beneficios derivados del uso de *Trichoderma* en el combate de patógenos bajo distintas condiciones ambientales

Trichoderma es capaz de activar los mecanismos de defensa de las plantas, anticipando el ataque de patógenos. La reacción de la planta al *Trichoderma* es similar al ISR (resistencia sistémica inducida) provocado por las rizobacterias. El mecanismo ISR activado de *Trichoderma* juega un papel muy significativo en la protección de cultivos en comparación con el antagonismo directo de los patógenos vegetales (Woo et al., 2014).

Santos et al. (2015), identificaron con éxito el *T. asperellum* cuando se cultivó junto con *F. guttiforme* en los brotes laterales de la piña. Wong et al. (2002), estudiaron la supervivencia de *Fusarium pseudograminearum* (Fp) en paja de trigo al ser tratadas con *Trichoderma koningii* (Tk), en un suelo ácido, a tres potenciales hídricos (-0.03MPa. -0.3 MPa y <-50 MPa) y a dos temperaturas (15 °C y 25 °C).

Los investigadores concluyeron que hay una mayor reducción del patógeno en el suelo a capacidad de campo ($-0,3$ MPa) en comparación con el suelo húmedo ($-0,03$ MPa) que en ambas temperaturas determinaron una mayor colonización por Tk, y que después de 6 meses a 25°C en el suelo húmedo, el patógeno fue completamente eliminado de los pedazos de paja donde fueron reemplazados por Tk. En suelo seco (<-50 MPa), Fp sobrevivió en el 100% de los pedazos de paja incluso después de 6 meses a cualquier temperatura.

Inam Ul-Haq et al. (2009) estudiaron en suelos franco-arcilloso-arenoso cultivado de garbanzo en Pakistán la capacidad de combate de *Trichoderma harzianum* (Th-2) sobre *Fusarium oxysporum ciceri* (Foc), en suelos secos (-50 MPa) capacidad de campo ($-0,3$ MPa) y mojados ($-0,03$ Mpa) a dos temperaturas (25°C y 35°C) por 6 meses.

Los investigadores concluyeron que el antagonista *T. harzianum* redujo el *Fusarium*, en especial en suelos a capacidad de campo en relación con la condición de suelos saturados con agua, esto debido a un mayor antagonismo por parte de las bacterias que florecieron en condiciones húmedas. En los suelos secos no se observó una disminución en el crecimiento del patógeno incluso después de 6 meses a ambas temperaturas. Se observó que había mayor presencia de antagonista a los 35°C que a los 25°C . Los investigadores concluyeron que tanto la humedad del suelo, la temperatura y la cepa van a determinar la eficiencia del control del patógeno.

Trocoli et al. (2017) realizaron aplicaciones de campo de *Trichoderma* para reducir la gravedad de la fusariosis de la piña causada por *Fusarium guttiforme*. El estudio del control biológico endofítico en condiciones de campo permitió concluir que el antagonista redujo la gravedad de la enfermedad en diferentes porcentajes (70%, 52,5% y 47%) dependiendo de la cepa utilizada. El control provocó el aumento del peso de la fruta, aunque los agentes de bio control fueron aislados como endófitos de plantas de la localidad Catinga,

no hubo evidencia de colonización endofítica de plantas de piña y, por lo tanto, aún se desconoce los mecanismos de acción.

La investigación de Martínez et al. (2013) con el objetivo de resumir aspectos teóricos y prácticos de mayor importancia sobre el *Trichoderma*. Determinó que el desarrollo del microorganismo se activa en presencia de humedad, siendo el valor óptimo un 60% de la capacidad de retención de humedad del suelo, mientras que a porcentajes de saturación mayores la colonización y la sobrevivencia disminuye, debido a la baja presencia de oxígeno.

Investigaciones llevadas a cabo en Costa Rica sobre el efecto antagónico de *Trichoderma* sobre *Fusarium* con respecto a la humedad de suelo

Vásquez Jiménez (2009), aisló y caracterizó molecularmente el agente que causa la enfermedad denominada muerte descendente del cultivo de la piña, como *Fusarium oxysporum*, enfermedad caracterizada por la pérdida de vigor de la planta y severas lesiones vasculares en el tallo. El investigador caracterizó 10 cepas nativas de *Trichoderma* spp sobre el agente causal aislado y se observó que todas las cepas nativas inhiben el crecimiento del *F. oxysporum*. Además, se observó que para combatir el patógeno se activaron mecanismo de acción tales como la lisis y antibiosis, entre muchos otros, siendo estas características deseables en un bio-controlador.

Umaña Castro (2018), realizó un estudio con el objetivo de determinar si las relaciones genéticas de 15 aislamientos de *Trichoderma* nativas de la Región Huetar Norte de Costa Rica se asociaban a 3 características deseables para ser utilizadas como productos para el control biológico. Para la valoración de estas características se estudió el efecto antagónico de las cepas nativas sobre el *Fusarium oxysporum* y *Pectobacterium carotovorum*. Al final del ensayo, el aislamiento 8 el cual correspondía al *T. reesei* mostró mayor efecto antagónico y características deseadas para ser utilizado como agente de

control biológico contra el *Fusarium oxysporum* (30%) y el *Pectobacterium carotovorum* (63%).

Los estudios descritos anteriormente fueron ensayos de laboratorio, además, no fueron estudios en los que se evaluaba el comportamiento del *Trichoderma* ante las fluctuaciones de las gradientes de humedad. Por lo que la investigación a nivel de invernadero resulta necesaria.

METODOLOGÍA

Ubicación de la investigación

El ensayo se llevó a cabo en la provincia de Cartago, cantón Turrialba, distrito Turrialba, en el invernadero de investigación de la Sede del Atlántico de la Universidad de Costa Rica (10 m x 9,25 m x 4,70 m) (9°90'27.16"N 83°67'14.34"OE).

Materiales y condiciones del experimento

Material vegetativo

Se utilizó semilla asexual de piñas (*Ananas comosus*) de la variedad MD-2, conocidas como hijos basales, colectados de un lote semillero manejado con las condiciones agronómicas para la obtención de material de siembra élite, proporcionados por Upala Agrícola S.A., localizada en la región de Upala, zona norte de Costa Rica.

Suelo

El suelo utilizado en el ensayo provino de Upala Agrícola con el propósito de dar condiciones similares a las de campo. Antes de utilizar el suelo como sustrato de siembra y en atención a lo sugerido por Dietrich et al. (2020), se realizó un tratamiento de doble auto clavado en el laboratorio de fitopatología, con el propósito de disminuir el riesgo de la colonización de otras plagas no deseadas.

Este procedimiento se realizó en la autoclave del laboratorio de fitopatología. Antes de iniciar el proceso se colocaba el agua necesario en una zona destinada y debidamente marcada en el esterilizador, continuamente se introducían de 3 a 4 sacos dependiendo del tamaño de estas, posteriormente se procedía al cierre de la puerta de la autoclave. Al estar ya listo para iniciar el proceso de desinfección se ajustaba la válvula de presión a 21 PSI y

la temperatura a 121°C, por último, se mantenían dentro del esterilizador bajo las condiciones mencionadas anteriormente por 60 minutos, al terminar se procedía a extraer los sacos, se dejaban enfriar y luego se almacenaban en un lugar seco hasta haber procesado todo el suelo a utilizar.

Lamentablemente, este tratamiento de auto clavado indujo una toxicidad de manganeso en las plantas que fue superada con la aplicación de ácidos húmicos ATP up (se mezclaron 10 ml PC/L H₂O y se aplicaron 3 ml de la mezcla por planta) y Nutrisorb L (se mezclaron 130 ml PC/ 870ml H₂O de este caldo se aplicaron 20 ml/plta) los cuales fueron aplicados una vez por semana, a partir de la novena semana de evaluación hasta la última semana de evaluación.

Fuente de inóculo

Fusarium oxysporum

El aislamiento monoconidial de *Fusarium oxysporum* utilizado como fuente de inóculo fue proporcionado por el Laboratorio del Centro de Investigación en Protección de Cultivos (CIPROC), de la Universidad de Costa Rica. El hongo fue propagado en placas de Petri con medio de cultivo PDA, enmendadas con el antibiótico cloranfenicol. Los cultivos se mantuvieron en una incubadora a 27 °C, durante 10 días para permitir el desarrollo de macro y microconidias, que fueron utilizadas como fuente de inóculo.

Trichoderma sp

El *Trichoderma* utilizado es distribuido por la empresa Horizon Bioagro S.A, bajo el nombre comercial TRIFLORA, a una dosis de 1L/ha de producto comercial en 2000 litros de agua (ensayo 1 ml de producto comercial en 2 litros de agua). En la formulación del producto se utilizó agua destilada estéril y se siguió las recomendaciones de la hoja técnica.

Fertilización

La fertilización del ensayo se realizó con base en el plan de fertilización de la empresa Upala Agrícola S.A, a los 14, 30, 42, 56, 70, 84 y 98 días después de la siembra con insumos propiamente de la empresa.

En la tabla 1 se muestra todos los fertilizantes empleados en cada fecha descrita anteriormente:

Tabla 1

Descripción de los fertilizantes empleados en las plantas de piña utilizados en la investigación, llevada a cabo en el invernadero de la UCR, recinto Turrialba.

Fertilizantes	Cantidad	Día DDS
Fertilización Foliar (Mezcla realizada) <ul style="list-style-type: none"> • Ácido bórico 17.5B (2g/2L) • Cloruro de Potasio 60% (15g/2L) • Nitrato de calcio 15,5% N + 26% CaO (15g/2L) • Nitrato de amonio 34,4% (30g/L) • Urea 46% (20g/L) • Megafol (2ml/L) • Fosfomax (2.5g/2L) 	2 L/65 plantas	14
Abono suelo 8-40-12	6 g/planta	30
Fertilización Foliar (Mezcla realizada) <ul style="list-style-type: none"> • Cloruro de Potasio 60% (35g/2L) • Nitrato de amonio 34,4% (60g/L) • Sulfato de Magnesio heptahidratado (60g/L) • sulfato de Hierro heptahidratado (15g/L) • sulfato de Zinc 21.5% (5g/L) • Urea 46% (30g/L) • Megafol (1ml/L) 		42
Abono suelo 18-.5.-15.-6-.0.2B.-7	6 g/planta	56
Fertilización Foliar (Mezcla realizada) <ul style="list-style-type: none"> • Ácido bórico 17.5B (4g/2L) • Cloruro de Potasio 60% (35g/2L) • Nitrato de amonio 34,4% (30g/L) • Urea 46% (30g/L) • Megafol (1ml/L) • Fosfomax (25g/2L) 	2 L/65 plantas	70
Fertilización Foliar (Mezcla realizada) <ul style="list-style-type: none"> • Cloruro de Potasio 60% (35g/2L) • Nitrato de amonio 34,4% (60g/L) • Sulfato de Magnesio heptahidratado (60g/L) • sulfato de Hierro heptahidratado (15g/L) • sulfato de Zinc 21.5% (5g/L) • Urea 46% (30g/L) • Megafol (1ml/L) 	2L/65 plantas	84
Fertilización Foliar (Mezcla realizada) <ul style="list-style-type: none"> • Ácido bórico 17.5B (4g/2L) • Cloruro de Potasio 60% (45g/2L) • Nitrato de calcio 15,5% N + 26% CaO (30g/2L) • Nitrato de amonio 34,4% (60g/L) • Urea 46% (30g/L) • Fosfomax (30g/2L) 	2L/65 plantas	98

Nota. Se evaluaron solamente 56 plantas, las 9 plantas de más se sembraron, pero no formaban parte del ensayo y tampoco se encontraban sobre la mesa.

Diseño experimental

El diseño experimental del ensayo fue completamente al azar. Se consideró como unidad experimental cada pote con una planta de piña. Se establecieron 56 potes (7 repeticiones por tratamiento) de 10 litros de capacidad rellenos con aproximadamente 6 kg de suelo esterilizado.

La distribución de los potes se realizó sobre 5 mesas del invernadero de forma aleatoria. Luego, a cada pote se le asignó un tratamiento de forma completamente aleatoriamente, seguidamente, se sembraron los hijos basales de la variedad MD-2 de piña, siendo organizadas en plantas con pesos similares que iban de 0,12 kg-0,40 kg. Posterior a ello se sometieron las plantas a un período de aclimatación (50 días) para permitir la reactivación de la semilla y el desarrollo del sistema radical.

Es importante recalcar que para el establecimiento del tratamiento al 30% de capacidad de campo (Déficit hídrico), al pasar los 50 días de aclimatación se redujo la dosis del riego a la mitad para estabilizar la humedad del suelo en la condición necesaria y al cumplirse los 65 días, se establecieron las condiciones de riego para cada tratamiento (siguiendo la *“Guía práctica para estudio introductorio de los suelos con un enfoque agrícola”*, elaborado por Henríquez & Cabalceta (2012)).

La inoculación con *Fusarium* se realizó 50 días después de la siembra de las plantas, con una suspensión de conidios calibrada de 1×10^6 conidios ml^{-1} aplicadas en zonas cercanas a la raíz de la planta, posteriormente se cubrió con suelo para protegerlo de la radiación solar. Al pasar 7 días se aplicó la suspensión de *Trichoderma* de acuerdo con la dosis sugerida por el fabricante, en las zonas cercanas a la base del tallo y la raíz (Inam UI Haq et al., 2009).

Algunas variables de medición fueron medidas a través del tiempo, en la misma planta por lo que esas mediciones no se consideraron independientes, por otro lado, como las plantas pueden desarrollar diferente número de hojas y eso puede afectar la respuesta, también se midió el número de hojas para luego utilizarlo como covariable.

Tratamientos

Se evaluaron 8 tratamientos en total, los cuales provienen de una estructura trifactorial completa (2x2x2), donde los factores son: presencia del patógeno, presencia del antagonista y humedad de suelo (Tabla 2). Este último factor se estableció según la capacidad de campo (CC) y este es el contenido de agua del suelo una vez drenado el exceso de agua (exceso=anegado) por la fuerza de gravedad.

Ese punto de saturación se consideró como el 100% de agua en el suelo. Por otro lado, al decir que el suelo está al 30% de la capacidad de campo, hace referencia al régimen de humedad del suelo que corresponde a un 30% del agua retenida por el suelo a capacidad de campo. En esta condición, es de esperar que la planta experimente un déficit hídrico (DH). Es importante recalcar que dichas humedades pueden ser expresadas en % y en fracciones que van de 0-1 (Borrajo et al., 2018; Simane et al., 1993).

Ambas humedades gravimétricas (DH y CC) fueron obtenidas siguiendo los procedimientos estipulados en la "*Guía práctica para estudio introductorio de los suelos con un enfoque agrícola*", elaborado por Henríquez y Cabalceta (2012). Por consiguiente, se ajustó el TDR (aparato preciso y de manejo fácil para detectar la humedad del suelo) y de esta forma ajustar la cantidad de agua necesaria para mantener las condiciones necesarias con base en las mediciones brindados por el TDR y las curvas de desorción.

En la tabla 2 se observa de una manera más representativa la estructura de los tratamientos utilizados en esta investigación:

Tabla 2

Descripción de los tratamientos utilizados a partir de los diferentes gradientes de humedad y fuentes de inoculación del patógeno o antagonista utilizado en cada unidad experimental, a nivel de invernadero entre junio-octubre 2021.

Tratamiento	Humedad en el suelo	Patógeno	Antagonista
T1	30% Capacidad de campo (DH)	<i>Sin inoculación</i>	<i>Sin inoculación</i>
T2	100% Capacidad de campo (CC)	<i>Sin inoculación</i>	<i>Sin inoculación</i>
T3	30% Capacidad de campo (DH)	<i>Con Fusarium</i>	<i>Sin inoculación</i>
T4	100% Capacidad de campo (CC)	<i>Con Fusarium</i>	<i>Sin inoculación</i>
T5	30% Capacidad de campo (DH)	<i>Sin inoculación</i>	<i>Con Trichoderma</i>
T6	100% Capacidad de campo (CC)	<i>Sin inoculación</i>	<i>Con Trichoderma</i>
T7	30% Capacidad de campo (DH)	<i>Con Fusarium</i>	<i>Con Trichoderma</i>
T8	100% Capacidad de campo (CC)	<i>Con Fusarium</i>	<i>Con Trichoderma</i>

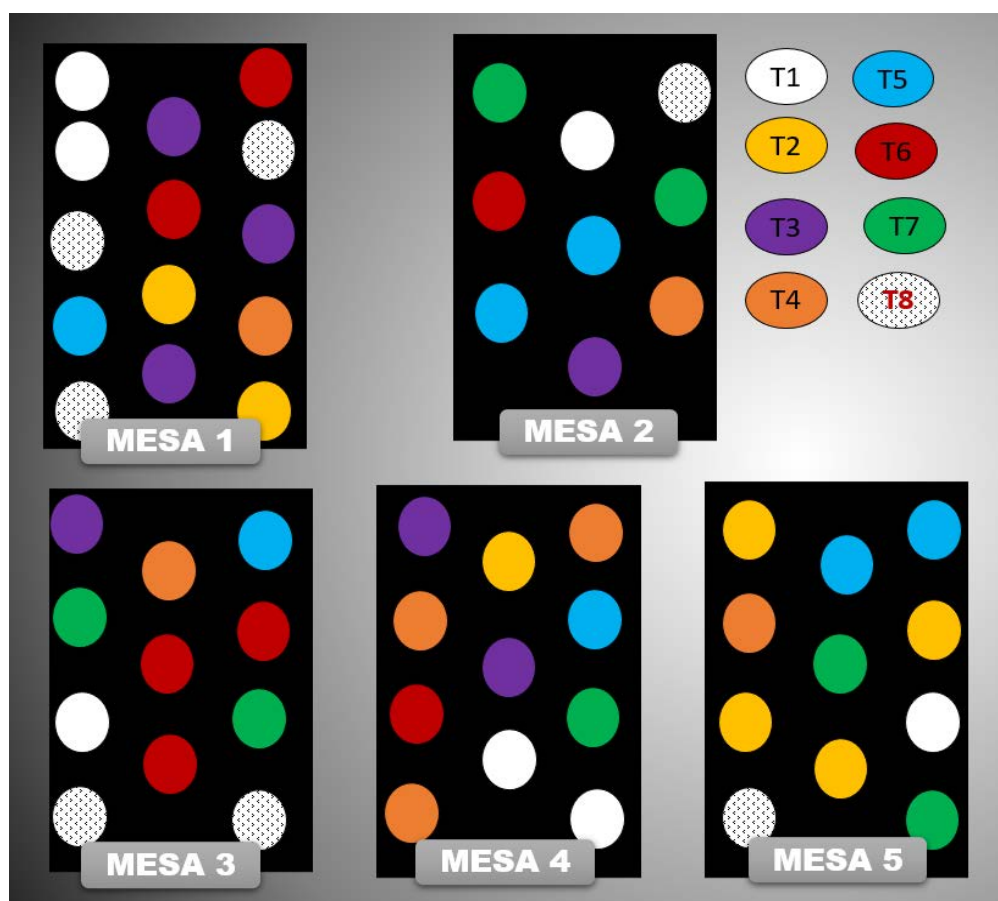
Nota. Distribución de los microorganismos con base a los tratamientos por representar:

Elaboración propia

Finalmente, como representación gráfica del experimento, se presenta la Figura 3:

Figura 3

Representación gráfica de la distribución de las unidades experimentales y tratamientos, estructurados en diversas combinaciones factoriales en las mesas del invernadero de la UCR, Recinto Turrialba.



Nota. Distribución aleatoriamente: *elaboración propia*

Variables de respuesta

En este experimento se evaluaron diferentes variables como se detalla a continuación. Las variables evaluadas fueron; largo, ancho de la hoja D, temperatura infrarroja sobre las hojas, área radical, severidad interna de *Fusarium* en el tallo, peso seco y fresco de hoja, raíz y tallo.

Al cumplirse los 57 días después de la siembra (DDS) se iniciaron las mediciones del largo y ancho de la hoja D. La determinación de la temperatura infrarroja de la planta se llevó a cabo por medio de las cámaras termográficas (FLIR-E63900, T198547) a partir de los 77 DDS.

Las variables severidad interna de *Fusarium* en el tallo, área radical, peso fresco y seco de los órganos fueron variables obtenidas por métodos destructivos tomadas a los 155 DDS.

Mediciones de la hoja D

Largo

Se midió el largo de la hoja D (hoja más larga) de las plantas una vez por semana durante 14 semanas. Todas las mediciones fueron hechas con una cinta métrica con una precisión centimétrica. Además, se midió desde el punto de salida de la hoja del tallo hasta la punta de la hoja.

Ancho

Para el ancho de la hoja D, se tomó como punto de evaluación el sitio desde la punta de la hoja hasta los 20 cm, a esa altura se medía de forma horizontal determinando el grosor de la hoja.

Área

El área de la hoja D se obtuvo Multiplicando el largo x ancho de cada planta.

En la figura 4 se observa la ejemplificación de dichas mediciones mencionadas anteriormente:

Figura 4

Toma de datos de la hoja D de plantas de piña, inoculadas con Trichoderma, Fusarium o ambas a dos gradientes de humedad evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba



Nota. En la imagen se observa la marcación a los 20cm de una hoja D de la planta de piña. Elaboración propia.

Raíces

A los 155 DDS se realizó una cuantificación de las raíces utilizando imágenes digitalizadas de las raíces recuperadas de cada planta y analizadas con programa WINRHIZO versión básica 2012 (utilizando un scanner EPSON EXPRESSION 10000XL; modelo: J181A). El cual es un software de análisis computacional de imágenes, diseñado para realizar mediciones de las raíces de las plantas en términos de su morfología, topología, arquitectura y color. El producto final despliega un histograma con la distribución de la longitud de las raíces e información cuantitativa sobre el área, volumen y número de

puntas como una función del diámetro de las raíces o de su color (Gutiérrez-Soto et al. 2014).

De la información proporcionada por el dispositivo, se usó los datos de los tipos de raíces, área superficial o mejor conocido como baby 3, igual al diámetro de la raíz (cm^2) y la longitud radical suponiendo que la raíz tiene una sección transversal redonda (Regent Instruments Canadá 2011). Además, los datos originales presentados en cm^2 se convirtieron a m^2 para visualizar las cantidades con mayor facilidad.

Por consiguiente, en la figura 5 se muestra el acomodo realizado antes de ser procesados por el programa WINRHIZO versión básica 2012.

Figura 5

Raíces de plantas de piña debidamente separadas, listas para ser analizadas por medio del programa WINRHIZO, en el laboratorio de fitopatología d la UCR, Recinto Turrialba.



Nota. Las raíces se lavaban y se colocan dentro de cubetas transparentes y no directamente sobre el scanner. Elaboración propia.

Peso seco y fresco de los órganos vegetales.

El peso fresco se tomó al final del ensayo (semana 14) al separar la planta en hojas, raíz y tallo. El peso seco se realizó ocho días después de colocar los órganos frescos de la piña en un horno de convección interna a una temperatura de 60 °C. Ambas medidas se realizaron mediante el término de ganancia de biomasa a nivel de planta, medidas con balanza granataria digital (ADAM, NBL 4602e), de 2 decimales de gramo.

En la figura 6 se observa, el horno de secado utilizado para obtener el peso seco de cada órgano de las plantas de piña estudiadas:

Figura 6

Separación de plantas de piñas por órganos, pesadas, colocadas y etiquetadas en bolsas de papel listas para ser secados en el horno de convección.



Nota. Se observan la separación de las raíces de las plantas de piña en bolsas de papel listos para ser secado en el horno de convección. Elaboración propia.

Severidad Interna del daño de *Fusarium* en el tallo

Las mediciones se realizaron después de los 155 DDS, ya cuando la planta se encontraba separada por órgano. A partir de imágenes fotográficas del corte longitudinal del tallo de las plantas se midió el área total y el área afectada del tallo con el software Image J 1.8.0_172 (64 bits, creado para procesar y analizar imágenes científicas (Enamo Academy 2018). En una hoja de cálculo se obtuvo el porcentaje de severidad en cada tallo como la razón del área afectada/área mm³ total*100.

En la figura 7 se observa el corte realizado a los tallos, para ser posteriormente procesado por el software Image J:

Figura 7

Fotografía del corte longitudinal del tallo de una planta de piña, lista para ser procesada por Image J.



Nota. En esta imagen se observa una leve afectación por el patógeno. Elaboración propia.

Temperatura de la planta

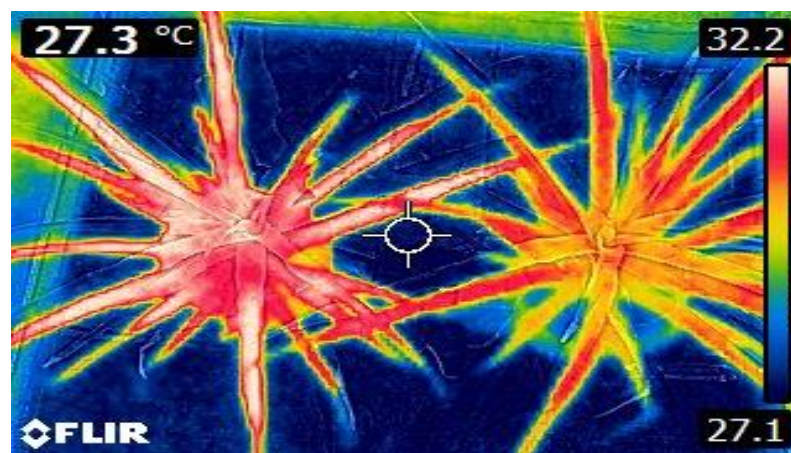
Se midió con la cámara termográfica modelo FLIR-E63900, T198547 (instrumento que produce una imagen infrarroja, mide la temperatura de las plantas) cada 15 días para un total de 5 evaluaciones.

Para estas mediciones se le colocó junto al tratamiento testigo (el testigo se rotaba cada cierto tiempo para evitar variaciones por temperatura debido a la capilla de fotografía y el testigo se cambió según el régimen hídrico evaluado), mientras que ambas plantas se encontraban en una pileta con agua (capilla de fotografía) sin contacto con el agua de la pileta. Este procedimiento fue necesario para diferenciar con claridad la temperatura de la piña, de la temperatura del piso sobre el cual se colocaron las plantas.

En la figura 8 se observa una imagen representativa sobre el proceso realizado para la obtención de la temperatura de las plantas de piña.

Figura 8

Toma de imágenes infrarrojas por medio de la cámara termográfica FLIR-E63900, analizadas en el invernadero de la UCR, Recinto Turrialba.



Nota. Visualización del T4 vs. T2 colocadas en una pileta de agua. Elaboración propia.

Análisis de datos

Se realizaron análisis de varianza (ANAVA) bajo el enfoque de modelos lineales (Variables no repetidas en el tiempo) y lineales mixtos (Variables repetidas en el tiempo). Este último enfoque permitió incluir en el modelo efectos fijos y aleatorios en variables en las que se hicieron repetidas en el tiempo; además, en general, en casos donde se sospechó el incumplimiento de algún supuesto distribucional de los errores se pudo ajustar mediante la modelación de la matriz de varianza – covarianza de los errores.

Se eligió el modelo lineal mixto debido a que en la actualidad es el modelo que permite analizar la interacción tratamiento × tiempo, algo que modelos como MANOVA, IABC, entre otros; no realizan.

Los autores mencionan que:

“Los modelos mixtos permiten incluir diferentes estructuras de correlación y de varianzas con el fin de encontrar el modelo más verosímil que explique de forma correcta y eficiente los datos de este tipo de experimentos. En el contexto de los modelos lineales mixtos se usan criterios de verosimilitud penalizada para comparar diferentes modelos ajustados a un mismo conjunto de datos. Uno de los criterios más utilizados es el criterio de Akaike (AIC, por sus siglas en inglés), este se basa en el negativo del logaritmo de la función de verosimilitud más una penalización según el número de parámetros estimados en el modelo. Otro criterio empleado es el criterio bayesiano (BIC, por sus siglas en inglés), al igual que el AIC se basa en el logaritmo de la verosimilitud, pero cobra una penalización mayor por número de parámetros estimados. Valores menores de AIC o BIC indican mejor ajuste del modelo estadístico (Esquivel et al., in press)”.

“El modelo lineal mixto al ser ajustada posibilita seleccionar el mejor tratamiento en función del tiempo de evaluación, debido a que permite analizar de forma correcta las tendencias temporales de los tratamientos. Por el contrario, tanto el MANOVA como el IABC, enmascararon el efecto del tiempo, y inducen a la selección de tratamientos que no fueron los mejores en todos los tiempos de evaluación. Tanto la inclusión de la estructura de correlación como la modelación de la heterocedasticidad mejoraron la bondad de ajuste del modelo lineal mixto (Esquivel et al., in press)”.

Para las variables no repetidas en el tiempo se ajustó el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

μ = media general.

τ_i = tratamientos

ε_{ij} = Error

Para las variables medidas en el tiempo, se ajustó un modelo de la siguiente forma:

•**Efectos fijos:** Tratamiento, Semana, Tratamiento*Semana (interacción) y la covariable número de hojas

•**Efectos aleatorios:** Mesa y Parcela Principal (PP) dentro de mesa. La PP surge de la combinación Tratamiento y Repetición, la cual es la unidad de observación que se mide a través del tiempo

Finalmente, para todas las variables en la que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) se realizó la prueba de comparaciones de medias DGC (Di Rienzo, Guzmán y Casanoves). Este método de comparación de media DGC, “presupone igual número de

repeticiones por tratamiento, en caso contrario el algoritmo implementado utiliza la media armónica del número de repeticiones.

Esta prueba controla bien la tasa de error tipo I por comparación manteniendo una potencia aceptable en experiencias bien conducidas (bajo CV para la diferencia de medias) y mejora su comportamiento general conforme aumenta el número de medias a comparar” (InfoStat, 2018). Dichas comparaciones restringen la igualdad a un solo grupo evitando que los tratamientos pertenezcan a más de un conjunto.

Además, para cada análisis se comprobaron los supuestos del ANAVA con gráficos diagnóstico (cuantiles de los términos de error, gráficos de residuos y gráficos de residuos vs. predichos) y se seleccionó el mejor modelo a partir de los criterios de verosimilitud penalizada Akaike (AIC) y de Schwarz (BIC). Todos los análisis se hicieron utilizando el software InfoStat 2018.

RESULTADOS

Crecimiento de la hoja D de las plantas de piña tratadas con *Trichoderma* o *Fusarium* a dos gradientes de humedad

Los análisis estadísticos, del coeficiente de evaluación, denotaron que el largo y área de las hojas D de las plantas fueron heterogéneas, contrario al ancho que mostró ser homogéneo. Para las dos variables heterogéneas mediante el análisis de ANAVA que las interacciones entre tratamientos ($p=0,0007$) y semanas ($p<0,0001$) fueron significativas, entre más avanzaban las semanas las diferencias eran más notables.

A continuación, se detallará todo lo anteriormente mencionado:

Largo de la hoja D (cm)

El ANAVA indicó que existió interacción significativa entre los tratamientos y el tiempo ($p<0,0001$). En la primera semana no se presentaron diferencias significativas, pero conforme avanzaron las semanas, se observó una separación de medias de los tratamientos. En la semana 14 de evaluación se observan diferencias significativas, agrupados en 3 conjuntos diferentes "A-C-D". El tratamiento T4 (*Fusarium* 100% CC) categorizado como grupo "A", fue el que tuvo mayor crecimiento registrando un largo de hoja D con un promedio de 70,69 cm, el siguiente grupo "C" fue el de los largos de hoja D intermedios y estuvo conformado por los siguientes tratamientos T2 (68,55 cm), T3 (67,88 cm), T1 (65,84 cm), T6 (65,35 cm) y T8 (65,27 cm). Finalmente, los tratamientos T5 y T7 formaron el grupo ("D") con menor crecimiento de la hoja D con 61,38 cm y 60,06 respectivamente (Figura 9).

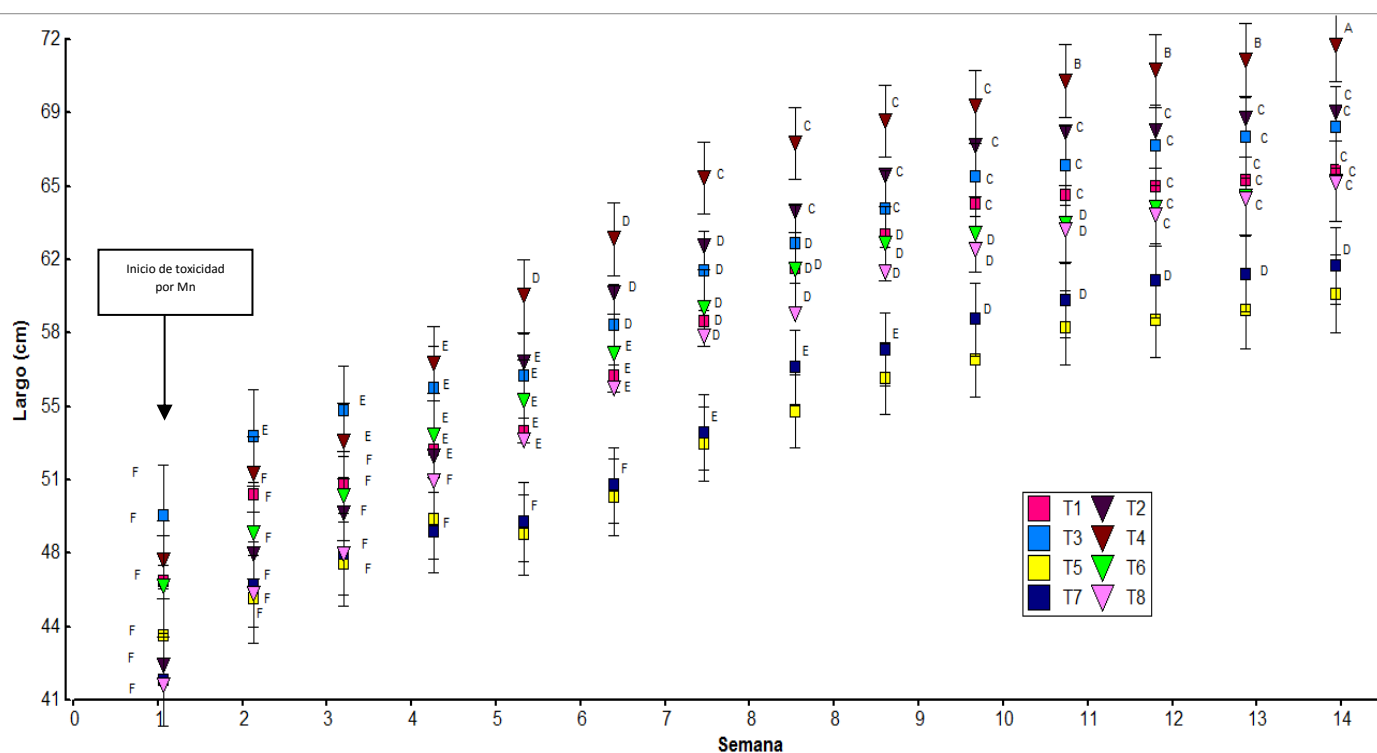
De la semana 4-14 de evaluación el T4 fue el tratamiento con mayor elongación, mostrándose estadísticamente distinto a los otros siete tratamientos. Se presentó una tendencia del mayor al menor crecimiento de plantas de piña de la semana 8 a la 14 (T4,

T2, T3, T1, T6, T8, T7 y T5). Por último, el T6 anterior a la semana 8 se encontraba por delante de las plantas T1 (Figura 9).

En la figura 9 se observa el crecimiento de las hojas D de la piña de forma ascendente durante la semana de evaluación.

Figura 9

Largo de la hoja D, de plantas de piña inoculadas con Trichoderma, Fusarium o ambas a dos gradientes de humedad evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba.



Nota. Los colores y las figuras representan diversos tratamientos, T1 (Sin inóculo 30%CC), T2 (Sin inóculo 100% CC), T3 (*Fusarium* 30% CC), T4 (*Fusarium* 100%CC), T5 (*Trichoderma* 30% CC), T6 (*Trichoderma* 100% CC), T7 (*Fusarium-Trichoderma* 30%CC) y T8 (*Fusarium-Trichoderma* 100% CC). Por otro lado, cada letra es una comparación entre todas las semanas por lo que al verse de forma vertical se comparan entre tratamientos y en forma horizontal entre semanas: elaboración propia.

Para visualizar de mejor forma la semana 14 se realiza una tabla de comparación de medias que se detalla a continuación, además se agregan 2 semanas más de evaluación para mostrar con detalle la tendencia observada:

Tabla 3

Comparación de medias del largo de la hoja D de la semana 5,9 y 14 de evaluación, de plantas de piña inoculadas con Trichoderma, Fusarium o ambas a dos gradientes de humedad evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba

Tratamientos	Semana 5	Semana 9	Semana 14
T4 (<i>Fusarium</i> 100% CC)	59,96 ^D	68,17 ^C	70,69 cm ^A
T2 (Sin inóculo 100% CC)	56,85 ^E	65,63 ^C	68,55 cm ^C
T3 (<i>Fusarium</i> 30% CC)	56,21 ^E	64,03 ^C	67,88 cm ^C
T1 (Sin inóculo 30% CC)	55,03 ^E	62,84 ^D	65,84 cm ^C
T6 (<i>Trichoderma</i> 100% CC)	53,58 ^E	62,42 ^D	65,35 cm ^C
T8 (<i>Fusarium-Trichoderma</i> 100% CC)	53,19 ^E	61,10 ^D	65, 27 cm ^C
T7 (<i>Fusarium-Trichoderma</i> 100% CC)	49,36 ^F	57,44 ^E	61,38 cm ^D
T5 (<i>Trichoderma</i> 30% CC)	48,76 ^F	56,10 ^E	60,06 cm ^D

Nota. Cada letra es una comparación entre todas las semanas por lo que al verse de forma vertical se comparan entre tratamientos y en forma horizontal entre semanas: elaboración propia.

Ancho de la hoja D (cm)

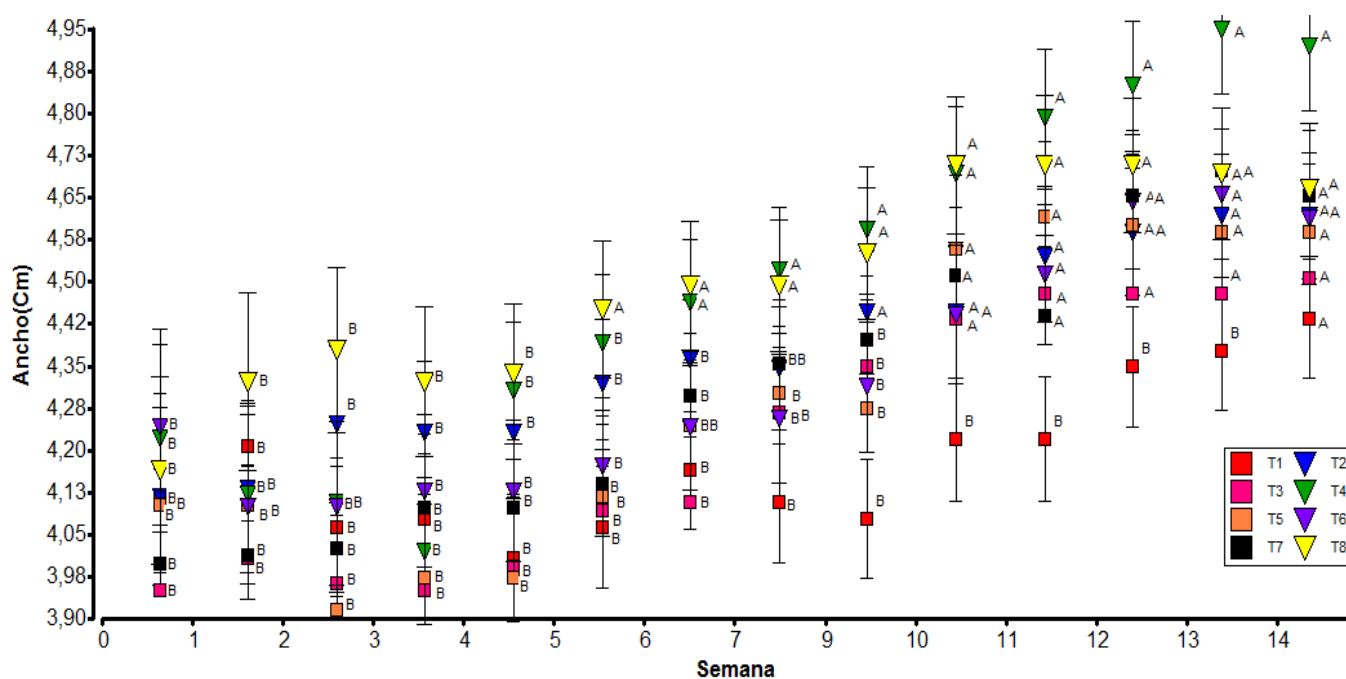
El ANAVA indicó que no existió diferencias significativa entre tratamientos ($p=0,3374$). Por ello en las primeras 5 semanas de evaluación, no se observaron diferencias significativas. Posteriormente, sí se observaron diferencias significativas ($p<0,0001$), clasificando los 8 tratamientos en 2 conjuntos diferentes entre sí. Para la última semana de evaluación las diferencias desaparecen nuevamente.

En la semana 14 a pesar de no haber diferencias significativas se observó que el tratamiento T4 (*Fusarium* 100% CC), presentó el mayor valor de ancho de hoja D con 4,92 cm y el de menor tamaño fue el T1 (sin inóculo al 100%) con 4,43 cm (Figura 10).

En la figura 10 se observará de forma gráfica lo expuesto anteriormente:

Figura 10

Ancho de la hoja D, de plantas de piña inoculadas con Trichoderma, Fusarium o ambas a dos gradientes de humedad evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba.



Nota. Comparación de medias de las hojas D de las plantas de piña mostradas en contraste y en diversos colores para distinguir diferencias. Los colores y las figuras representan diversos tratamientos, T1 (Sin inóculo 30%CC), T2 (Sin inóculo 100% CC), T3 (*Fusarium* 30% CC), T4 (*Fusarium* 100%CC), T5 (*Trichoderma* 30% CC), T6 (*Trichoderma* 100% CC), T7 (*Fusarium-Trichoderma* 30%CC) y T8 (*Fusarium-Trichoderma* 100% CC). Por otro lado, cada letra es una comparación entre todas las semanas por lo que al verse de forma vertical

se comparan entre tratamientos y en forma horizontal entre semanas: elaboración propia:
elaboración propia.

Área (cm²) de la hoja D

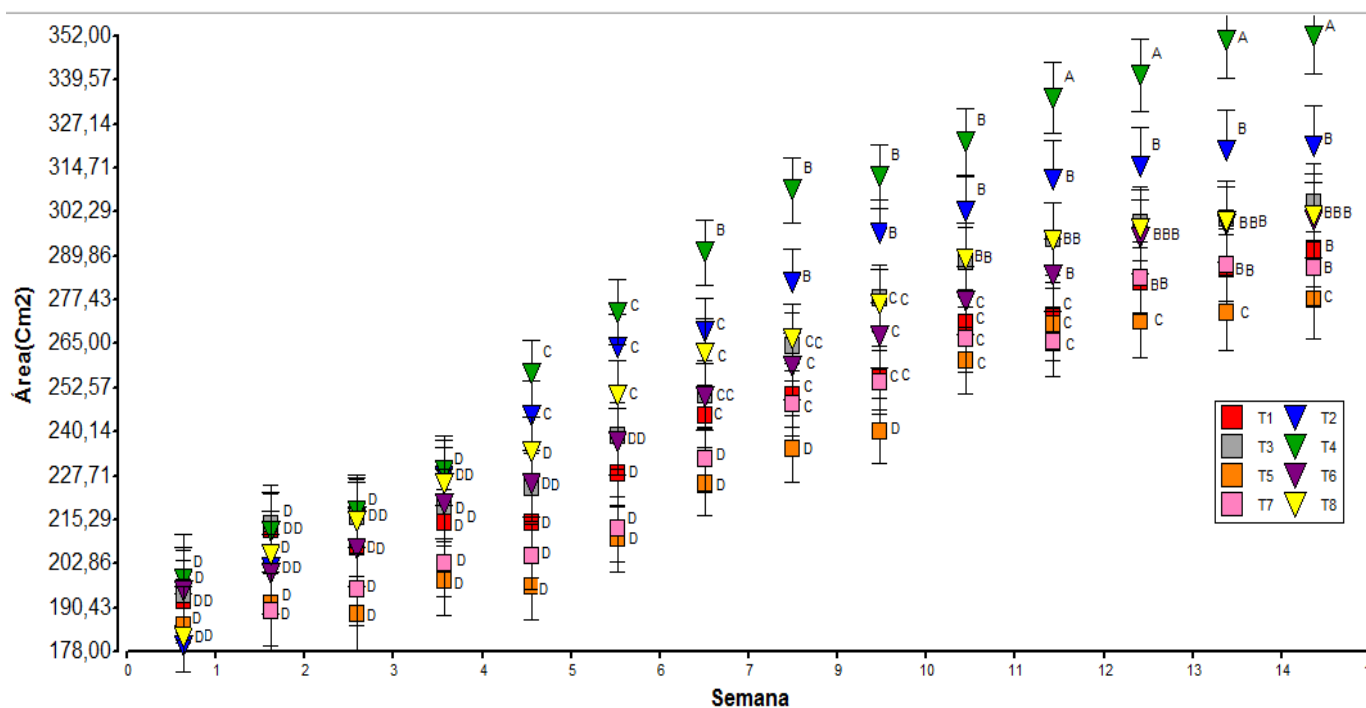
El ANAVA indicó que posterior a la semana 4 de evaluación se detectó diferencias significativas ($p=0,0010$) permitiendo agrupar los tratamientos en diversos conjuntos estadísticamente similares según el análisis de comparación de medias DGC. En la última semana de evaluación (semana 14) el tratamiento T4 (*Fusarium* 100% CC) presentó la mayor área foliar, categorizado estadísticamente en el grupo "A" con 351,95 cm², además, fue distinto al resto de los tratamientos.

El grupo "B" se conformaba por seis tratamientos considerados estadísticamente similares entre sí; estos fueron el T2 (320,79 cm²), T3 (305,01 cm²), T8 (301, 33 cm²), T6 (300,54 cm²), T1 (291,33 cm²) y T7 (286,30 cm²). El grupo "C" estuvo compuesto por el T5 (277, 46 cm²), este último fue el tratamiento con el menor área en la hoja D de las plantas de piña (Figura 11).

En la figura 11 se observa la evolución del área de las hojas D de las plantas de piña:

Figura 11

Área de la hoja D, de plantas de piña inoculadas con Trichoderma, Fusarium o ambas a dos gradientes de humedad evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba.



Nota. Se observan diferencias estadísticas entre algunos tratamientos. Los colores y las figuras representan diversos tratamientos, T1 (Sin inóculo 30%CC), T2 (Sin inóculo 100% CC), T3 (*Fusarium* 30% CC), T4 (*Fusarium* 100%CC), T5 (*Trichoderma* 30% CC), T6 (*Trichoderma* 100% CC), T7 (*Fusarium-Trichoderma* 30%CC) y T8 (*Fusarium-Trichoderma* 100% CC). Por otro lado, cada letra es una comparación entre todas las semanas por lo que al verse de forma vertical se comparan entre tratamientos y en forma horizontal entre semanas: elaboración propia: elaboración propia.

Para respaldar los datos brindados anteriormente se observa en la tabla 4, el área de las plantas de piña de mayor a menor área (cm²):

Tabla 4

Comparación de medias del área de la hoja D de plantas de piña, de la semana 5,9 y 14 de evaluación, de plantas de piña inoculadas con Trichoderma, Fusarium o ambas a dos gradientes de humedad evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba.

Tratamientos	Semana 5	Semana 9	Semana 14
T4 (<i>Fusarium</i> 100% CC)	256,71 ^C	312,28 ^B	351,95 ^A
T2 (Sin inóculo 100% CC)	244,91 ^C	296,42 ^B	32079 ^B
T3 (<i>Fusarium</i> 30% CC)	234,32 ^D	277,76 ^C	305,01 ^B
T8 (<i>Fusarium-Trichoderma</i> 100% CC)	225,46 ^D	276,41 ^C	301,33 ^B
T6 (<i>Trichoderma</i> 100% CC)	224,33 ^D	267,42 ^C	300,01 ^B
T1 (Sin inóculo 30% CC)	2144,44 ^D	255,29 ^C	291,33 ^B
T7 (<i>Fusarium-Trichoderma</i> 100% CC)	204,87 ^D	254,12 ^C	286,30 ^B
T5 (<i>Trichoderma</i> 30% CC)	196,27 ^D	240,35 ^D	277,46 ^C

Nota. Valores promedios representados en cm². Cada letra es una comparación entre todas las semanas por lo que al verse de forma vertical se comparan entre tratamientos y en forma horizontal entre semanas: elaboración propia: elaboración propia.

Peso fresco y seco de las plantas de piña inoculadas con *Fusarium*, *Trichoderma* o ambas a dos gradientes de humedad

En la variable del **peso fresco del tallo** de plantas de piñas, el ANAVA detectó diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,001$). Se agruparon en tres conjuntos, en el grupo “A” se ubicó el tratamiento T6 (111,69 g) y T3 (103,89 g) los cuales no difirieron entre sí, pero sí, del resto de los tratamientos.

El T6 (*Trichoderma* 100% CC) fue el tratamiento con mayor peso en tallo. En el grupo “B”, se localizó el tratamiento T4 (86,66 g) y T2 (85,14 g) considerados estadísticamente similares entre sí. Por último, en el grupo “C” se encontró los tratamientos

con menor peso fresco de tallo entre ellos los T1 (75,28 g), T8 (68,02 g), T5 (65,40 g) y T7 (65,14 g) (Tabla 5).

Con respecto al **peso seco del tallo** de las plantas de piña, el ANAVA detectó diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,0001$), agrupados en cinco conjuntos según la comparación de medias DGC. El grupo "A", tuvo al tratamiento con mayor acumulación de biomasa a nivel de tallo (T3 con 28,39 g). En el grupo "B" se hallaba el T6 con 22,02 g, en el grupo "C" el T1 con 18,63 g, en el "D" el T5 (16,49 g), T4 (15,50 g), T7 (14,95 g) y T2 (14,03 g).

El grupo "E" fue conformado por un único tratamiento, que al mismo tiempo fue el que tuvo menor acumulación de biomasa el T8 con 11,61 g (Tabla 5).

En el **peso fresco de las hojas** de las plantas de piña, el ANAVA detectó diferencias significativas entre las unidades experimentales ($p < 0,0001$), asociados en 3 grupos (A-B-C) según la comparación de medias DGC. El grupo "A" conformado por el T6 (895,66 g) y T4 (846,84 g), el grupo "B" por el T3 (762,24 g), T2 (727,27 g) y T8 (666,89 g). El grupo "C" agrupó a 3 tratamientos el T1 (578,46 g), T5 (578,46 g) y T7 (527,28 g) siendo esta última el tratamiento más limitante de los 8 evaluados (Tabla 5).

En el **peso seco de las hojas** de plantas de piña, el ANAVA reveló diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre los tratamientos, categorizados en 3 agrupaciones "A-B-C" distintos estadísticamente entre sí. En el conjunto "A" se ubicaron los tratamientos T3 (131,91 g) y T6 (125,724 g), en el grupo "B", se localizan únicamente el T4 (105,86 g), la asociación "C", constaba de 5 tratamientos, siendo estos los T2 (91,17g), T1 (89,76 g), T5 (83,67 g), T7 (80,64 g) y T8 (77,48 g) (Tabla 5).

En el **peso fresco de las raíces** de las plantas de piña, el ANAVA mostró diferencias significativas ($p < 0,0001$), categorizadas en 2 conjuntos (A-B) estadísticamente distintos

entre sí, según la prueba de comparación de medias DGC. El grupo "A," se conforma por 4 tratamientos T4 (147,07 g), T6 (135,70 g), T3 (118,87 g) y T2 (106,40 g). El grupo "B" igualmente se conformaba por 4 tratamientos T8 (90,07 g) y T1 (89,67 g), T5 (76,16 g) y T7 (70,32 g) (Tabla 5).

En el **peso seco de la raíz**, se encontraron 2 grupos estadísticos con diferencias estadísticas según las comparaciones DGC ($p < 0,0001$). El conjunto "A" se conformó por los tratamientos T6 (18,32 g), T4 (17,75 g) y T3 (15,98 g). El grupo "B" por los T5 (12,51 g), T2 (11,85 g), T1 (11,01 g), T7 (9,71 g) y T8 (9,15 g) (Tabla 5).

El ANAVA detectó diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0,0001$) en el **peso fresco total** de las plantas de piña, no obstante, según los análisis DGC fueron agrupados en 3 grupos distintos entre sí "A-B-C". En el grupo "A" se ubica los T6 (1143,05 g) y T4 (1080,57 g), en el "B" el T3 (985,00 g) y T2 (918,75 g), en el "C" el T8 (824,97 g), T1 (743,42 g), T5 (668,84 g) y T7 (654,39 g) (Tabla 5).

En cuanto a la variable del **peso seco total**, el ANAVA reveló diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,001$), agrupándose en 3 conjuntos (A-B-C) según los análisis DGC. En el agregado "A" se ubicaron los tratamientos T3 (176,28 g) y T6 (165,50 g), en el "B" el T4 (139,68 g), en el "C" los T1 (119,41 g), T2 (112,06 g), T5 (112,66 g), T7 (105,30 g) y T8 (98,24 g); siendo las plantas de piña inoculadas con *Fusarium* 30% CC (T3) los que tuvieron mayor peso seco.

Por otro lado, los tratamientos con el menor peso seco fueron los tratamientos inoculados con *Fusarium-Trichoderma* 100% (T8) (Tabla 5).

En resumen, de lo anteriormente descrito se puede decir que en las cuatro variables medidas en el peso fresco destacaban dos tratamientos el T6 y T4, mientras que los de menor peso fresco eran por lo general los T5 y T7. En el peso seco de las plantas de piña,

los tratamientos T3 y T6 fueron los que tuvieron mayor acumulación de biomasa, mientras que el menor peso en las cuatro variables fue el tratamiento T8.

En la tabla 5 se muestra la representación numérica de los datos recopilado por tratamientos y no por unidad experimental:

Tabla 5

Peso fresco y seco de tallos, hojas, raíces y peso total de plantas de piña (Ananas comosus) con Trichoderma, Fusarium, con ambos o sin ningún inóculo a dos gradientes de humedad, evaluadas en la UCR, Recinto Turrialba

Tratamiento	P-F (g)	P-S (g)	P-F (g)	P-S (g)	P-F (g)	P-S (g)	P-F (g)	P-S (g)
	Tallo		Hoja		Raíz		Total	
Sin inóculo-30%CC (T1)	75,28 (C)	18,63 (C)	578,46 (C)	89,76 (C)	89,67 (B)	11,01 (B)	743,42 (C)	119,41 (C)
Sin inóculo-100%CC (T2)	85,14 (B)	14,03 (D)	727,21 (B)	91,17 (C)	106,40 (A)	11,85 (B)	918,75 (B)	117,06 (C)
Con Fus-30% CC (T3)	103,89 (A)	28,39 (A)	762,24 (B)	131,91 (A)	118,87 (A)	15,98 (A)	985,00 (B)	176,28 (A)
Con Fus-100% CC (T4)	86,66 (B)	15,50 (D)	846,84 (A)	105,86 (B)	147,07 (A)	18,32 (A)	1080,57 (A)	139,68 (B)
Con Tricho-30% CC (T5)	65,40 (C)	16,49 (D)	527,28 (C)	83,67 (C)	76,16 (B)	12,51 (B)	668,84 (C)	112,66 (C)
Con Tricho-100% CC (T6)	111,69 (A)	22,02 (B)	895,66 (A)	125,72 (A)	135,70 (A)	17,75 (A)	1143,05 (A)	165,50 (A)
Fus-Tricho-30% CC (T7)	65,14 (C)	14,95 (D)	518,94 (C)	80,64 (C)	70,32 (B)	9,71 (B)	654,39 (C)	105,30 (C)
Fus-Tricho-100% CC (T8)	68,02 (C)	11,61 (E)	666,89 (B)	77,48 (C)	90,07 (B)	9,15 (B)	824,97 (C)	98,24 (C)

Nota. (X^2) Medias con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba de DGC: elaboración propia.

Área de raíces de la piña provenientes de plantas inoculados con *Fusarium*, *Trichoderma* a dos gradientes de humedad

El ANAVA manifestó diferencias significativas entre tratamientos para la variable área de la raíz ($p < 0.0001$), por lo que se realizó la prueba de comparación de medias DGC.

Esta prueba agrupó a los ocho tratamientos en dos conjuntos. En el grupo "A" se encontraron los tratamientos con la mayor área de raíces considerados estadísticamente similares entre sí, los tratamientos de este grupo fueron los T4 (5955,43 m²), T6 (5905,93 m²) y T3 (5391,50 m²).

El grupo "B" se conformó por el resto de los tratamientos siendo considerados como los que menor cantidad de raíz desarrollaron, en este grupo se hallaron los T2 (4130,49 m²), T1 (3210,35 m²), T5 (3132,40 m²), T8 (3108,73 m²) y la menor cantidad de raíz desarrollada en general a pesar de ser estadísticamente similar fue el T7 (2744,06 m²) (Tabla 6).

En la Tabla 6 se visualizará de manera gráfica los datos de las raíces de las plantas de piña:

Tabla 6

Área de raíces de la piña provenientes de plantas inoculadas con Fusarium, Trichoderma a dos gradientes de humedad evaluadas en el invernadero de UCR, Recinto Turrialba.

Tratamientos	Volumen (m ²)	Diferencias
T4 (<i>Fusarium</i> 100% CC)	5955,43	A
T6 (<i>Trichoderma</i> 100% CC)	5905,93	A
T3 (<i>Fusarium</i> 30% CC)	5391,50	A
T2 (Sin inóculo 100% CC)	4130,49	B
T1 (Sin inóculo 30% CC)	3210,36	B
T5 (<i>Trichoderma</i> 30% CC)	3132,40	B
T8 (<i>Fusarium-Trichoderma</i> 100% CC)	3108,73	B
T7 (<i>Fusarium-Trichoderma</i> 30% CC)	2744,06	B

Nota. La mayor cantidad de raíces se observaron en los T6 y T4: elaboración propia.

Severidad interna en el tallo de plantas de piña inoculadas con *Fusarium*, *Trichoderma* cultivadas a diferentes gradientes de humedad

Con respecto a la variable severidad interna de las plantas de piñas se observó que existen diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,0001$), según el análisis de varianza y según la comparación de medias por medio de la prueba DGC los tratamientos se agruparon en 2 grupos "A-B".

El grupo "A" se conformó por 4 tratamientos siendo estos los T4 (5,20 %), T3 (4,18 %), T7 (3,78 %) y T8 (3,21 %).

En el conjunto "B" se hallaban también 4 tratamientos siendo estos los T5 (0,32 %), T6 (0,17%), T1 (0,16 %) y T2 (0,16 %). Se observa que el grupo "B" estaba conformado de aquellas plantas que no estuvieron inoculadas con *Fusarium* siendo las que presentaron menor severidad (Tabla 7).

En la tabla 7 se observa la severidad del *Fusarium* en el tallo de plantas de piña:

Tabla 7

Severidad interna en el tallo de plantas de piña inoculadas con Fusarium, Trichoderma cultivadas a dos gradientes de humedad evaluadas la UCR, Recinto Turrialba.

Factores	% de Severidad	Diferencias
T4 (<i>Fusarium</i> 100% CC)	5,20	A
T3 (<i>Fusarium</i> 30% CC)	4,18	A
T7 (<i>Fusarium-Trichoderma</i> 100% CC)	3,78	A
T8 (<i>Fusarium-Trichoderma</i> 100% CC)	3,21	A
T5 (<i>Trichoderma</i> 30% CC)	0,32	B
T6 (<i>Trichoderma</i> 100% CC)	0,17	B
T1 (Sin inóculo 30% CC)	0,16	B
T2 (Sin inóculo 100% CC)	0,16	B

Nota. Los tratamientos con *Fusarium* fueron los de mayor severidad: elaboración propia.

Temperatura (°C) de plantas de piña inoculadas con *Trichoderma* y *Fusarium* a dos gradientes de humedad

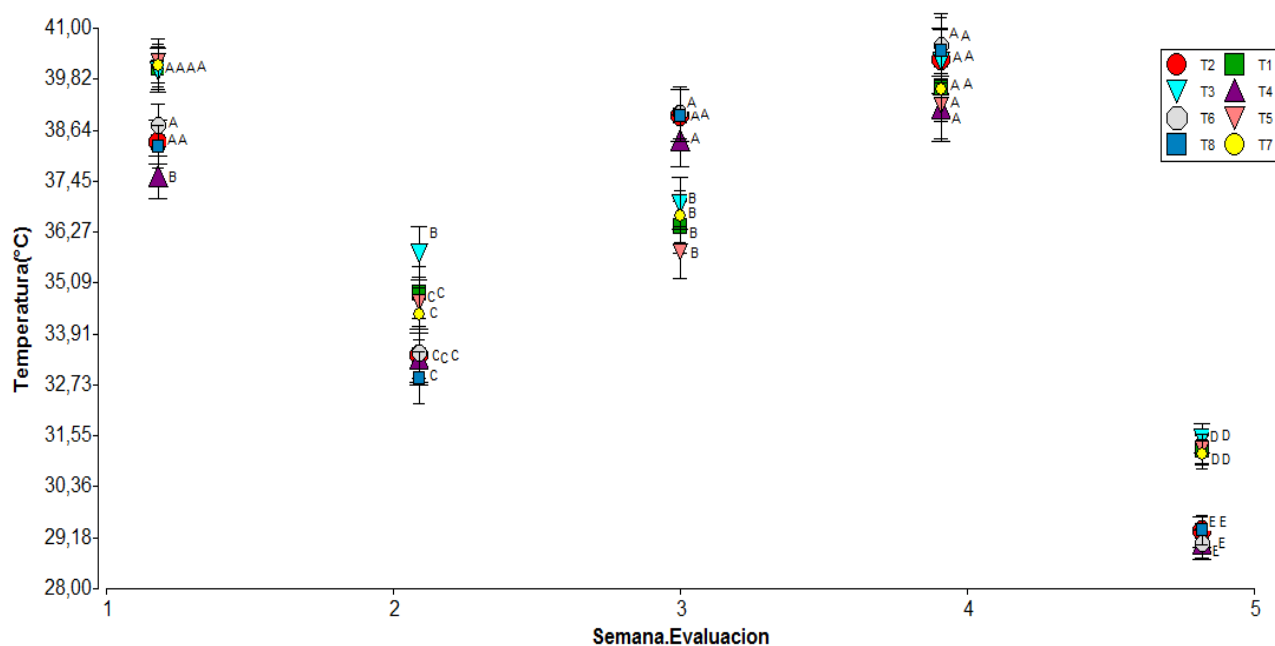
Según los datos del análisis de varianza se presentó diferencias significativas ($<0,0001$). A lo largo de las 5 evaluaciones (10 semanas totales) se observó que la temperatura de las plantas de piña se mantuvo entre los 30°C y 40°C, en la mayor parte del periodo de evaluación.

En la cuarta semana de evaluación se detectó la mayor temperatura de follaje con 40,59°C, mientras que en la quinta semana se registró el menor valor de la temperatura en las hojas con 29,01° C. La súbita caída de temperaturas en la quinta y última semana de evaluación se dio debido a que dicho día, presentaba nubosidad y la temperatura promedio del día era de 23,4°C (8/10/21 datos IMN) (Figura 12).

En la figura 12 se observa las temperaturas registradas en plantas de piña:

Figura 12

Medición de la temperatura de las plantas de piña inoculadas con *Fusarium*, *Trichoderma* o ambas a dos gradientes de humedad, evaluados en el invernadero de la UCR, Recinto Turrialba.



Nota. Uso de Tic's para la detención de enfermedades con base en el cambio de la temperatura por semanas. Los colores y las figuras representan diversos tratamientos, T1 (Sin inóculo 30%CC), T2 (Sin inóculo 100% CC), T3 (*Fusarium* 30% CC), T4 (*Fusarium* 100%CC), T5 (*Trichoderma* 30% CC), T6 (*Trichoderma* 100% CC), T7 (*Fusarium-Trichoderma* 30%CC) y T8 (*Fusarium-Trichoderma* 100% CC). Por otro lado, cada letra es una comparación entre todas las semanas por lo que al verse de forma vertical se comparan entre tratamientos y en forma horizontal entre semanas: elaboración propia: elaboración propia.

Para una mejor interpretación, se detalla las diferencias significativas halladas a lo largo del experimento entre tratamientos en la Tabla 8:

Tabla 8

Temperatura de plantas de piña inoculadas con Trichoderma y Fusarium a dos gradientes de humedad evaluadas en el invernadero de la UCR, Recinto Turrialba.

Tratamiento	Semana, Temperaturas (°C)				
	1	2	3	4	5
T1 (Sin inóculo 30% CC)	40,14 ^A	34,93 ^C	36,46 ^B	39,67 ^A	31,29 ^D
T2 (Sin inóculo 100% CC)	38,28 ^A	33,33 ^C	38,90 ^A	40,17 ^A	29,24 ^E
T3 (<i>Fusarium</i> 30% CC)	40,27 ^A	36,03 ^B	37,18 ^B	40,46 ^A	31,74 ^D
T4 (<i>Fusarium</i> 100% CC)	37,45 ^B	33,24 ^C	38,30 ^A	39,05 ^A	28,92 ^E
T5 (<i>Trichoderma</i> 30% CC)	40,19 ^A	34,57 ^C	35,75 ^B	39,14 ^A	31,19 ^D
T6 (<i>Trichoderma</i> 100% CC)	38,89 ^A	33,61 ^C	39,18 ^A	40,73 ^A	29,20 ^E
T7 (<i>Fusarium-Trichoderma</i> 30% CC)	39,96 ^A	34,19 ^C	36,46 ^B	39,40 ^A	30,94 ^D
T8 (<i>Fusarium-Trichoderma</i> 30% CC)	38,49 ^A	33,13 ^C	39,22 ^A	40,73 ^A	29,59 ^E

Nota. (X^2) Medias con letras distintas indican diferencia significativa según la prueba DGC.

Cada letra es una comparación entre todas las semanas por lo que al verse de forma vertical se comparan entre tratamientos y en forma horizontal entre semanas: elaboración propia: elaboración propia.

Se denota que la cuarta evaluación fue la única en la cual no hubo diferencias significativas. En las otras evaluaciones se encontraron diferencias, dividiéndose en 2 grupos estadísticamente distintos como máximo según análisis DGC.

De acuerdo con los resultados de la primera evaluación de la variable temperatura de planta, los tratamientos se pueden concentrar en dos grupos: en el primero se encuentra el tratamiento T5 que presentó el valor máximo con 40,24 °C, seguido por T7 (40,13 °C), T1 (40,07 °C), T3 (40,03 °C), T6 (38,75 °C), T2 (38,36 °C) y T8 (38,35 °C), es importante aclarar que estos tratamientos no difirieron estadísticamente entre sí para este período, pero si con el T4 (37,53 °C) perteneciente al segundo grupo.

En la segunda evaluación el tratamiento 3 (*Fusarium* 30% CC) presentó el mayor valor en la temperatura del follaje (35,79 °C), además fue significativamente diferente a los

restantes tratamientos, T8 (32,89 °C), T1 (34,86 °C), T5 (34,63 °C), T7 (34,37 °C), T6 (33,47 °C), T2 (33,40 °C), T4 (33,32 °C), T8 (32,89 °C).

En la tercera evaluación también existió 2 grupos estadísticamente distintos entre sí, en el primer conjunto se hallaron los T6 (*Trichoderma* 100% CC con 39,04 °C), T8 (38,98 °C), T2 (38,98 °C) y T4 (38,38 °C) todos similares entre sí pero distinto al segundo grupo, el cual presento menores temperaturas; en esta agrupación se conformaba por los T3 (36,94 °C), T7 (39,64 °C), T1 (36,39 °C), T5 (35,80 °C).

En la cuarta evaluación no se presentaron diferencias significativas entre los 8 tratamientos, pero se conoce que el que tuvo la mayor temperatura fue el tratamiento T6 con 40,59 °C, seguido por T8 (40,48 °C), T2 (40,25 °C), T3 (40,22 °C), T1 (39,60 °C), T7 (39,58 °C), T5 (39,20 °C) y T4 (39,13 °C).

En la quinta evaluación los tratamientos se concentraron en dos grupos estadísticamente distintos entre sí: en el primero se encontraron 4 tratamientos liderado por el T3 (*Fusarium* 30% CC) con 31,50 °C, seguido por el T5 (31,24 °C), T1 (31,22 °C) y T7 (31,12 °C). El segundo grupo (E) constó de 4 tratamientos, siendo estos los T8 (29,35°C), T2 (29,32°C), T6 (29,03°C) y T4 (29,01°C).

Al observar el comportamiento de los inóculos durante las 5 evaluaciones se puede observar que el T3 (*Fusarium* 30% CC) fue estadísticamente distinto a su contraparte al 100% de la CC en cuatro evaluaciones de las cinco realizadas (evaluación 1: T3 40,03 °C → T4 37,53 °C; evaluación 2: T3 35,79 °C → T4 33,32 °C; evaluación 3: T3 38,38 °C → T4 36,94 °C y evaluación 5: T3 31,50 °C → T4 29,01 °C), siendo la cuarta semana de evaluación (T3 40,22 °C → T4 39,13 °C) la única evaluación en donde no se encontraron diferencias significativas entre ellas.

En las evaluaciones 1, 2 y 5 las plantas inoculadas con *Trichoderma* al 100% CC (T6) presentaron valores promedio menores en temperaturas del follaje con respecto a su contraparte al 30% CC (T5) (evaluación 1: T5=40,24 °C → T6=38,75 °C; evaluación 2: T5=34,63 °C → T6= 33,47 °C; evaluación 5: T5=31,24 °C → T6=29,06 °C) encontrándose temperaturas del T6 a la T5 1,38-1,01-1,67 °C para la evaluación 1, 2 y 5 respectivamente, solo en la quinta evaluación hubo diferencias del 5%.

Por otro lado, en la tercera y cuarta evaluación las plantas de *Trichoderma* al 30% CC (T5) fueron las que tuvieron un descenso en sus temperaturas con respecto a las del 100% (T6) (evaluación 3: T5= 35,80 → T6=39,04 °C; evaluación 4: T5 39,20 °C → T6 40,59 °C) con diferencia de 3,09°C y 1,45 °C para la evaluación 3 y 4, encontrándose diferencia significativa en la 3 evaluación (Tabla 8).

DISCUSIÓN

La metodología aplicada en la presente investigación resultó efectiva para el establecimiento de las condiciones de humedad en el suelo requeridas para la evaluación de la respuesta tanto de los microorganismos seleccionados como de las plantas de piña, a nivel de invernadero.

En relación con el largo y área de la hoja D, las plantas inoculadas con *F. oxysporum*, cultivadas en suelo a capacidad de campo presentaron una longitud promedio de 70,69 cm al final de la investigación (Figura 9 y Tabla 3), valor que fue significativamente diferente con respecto a otros tratamientos.

En un estudio realizado por Bitas et al. (2015), en plantas de tabaco y de *A. thaliana*, observaron que 39 aislamientos de 46 cepas de *F. oxysporum* escogidas para la investigación mejoraron significativamente el crecimiento de las plantas ya que se dice que en las primeras etapas de la infección el patógeno induce la producción de reguladores de crecimiento como las auxinas, las cuales participan en la señalización y en la mediación por parte de los volátiles de *F. oxysporum* que ocurren en los principales nichos ecológicos del hongo (rizosfera y planta); que en consecuencia pueden mejorar el desarrollo de algunos órganos de las plantas.

Lo anteriormente mencionado podría explicar el crecimiento observado en la hoja D, de plantas de piña, principalmente si se toma en cuenta que el lento desarrollo de la fusariosis durante las primeras etapas de colonización en plantas de piña, si bien el hongo coloniza los tejidos de la raíz y eventualmente del tallo, la posible liberación de reguladores de crecimiento podría tener un efecto positivo en la elongación de la hoja en las primeras etapas.

Por otra parte, se observa que las plantas inoculadas con *Trichoderma* 100% CC se ubicaron en la quinta posición con respecto al largo de la hoja D (65,35 cm) (Figura 9 y Tabla 3) en el segundo grupo (no distintos entre sí), uno de los efectos esperados al inocular con este microorganismo era la estimulación del sistema radical y las partes áreas de la planta, sin embargo, en esta ocasión no se observó el efecto en el tamaño de la hoja evaluada; es importante considerar que los microorganismos requieren condiciones de suelo específicas y un tiempo considerable para su debido establecimiento.

En el ensayo se realizó un doble auto clavado al suelo con el propósito de eliminar la fuente de inóculo de patógenos provenientes de campo, el proceso de desinfección habría alterado las condiciones químicas del suelo, que como consecuencia indujo una severa toxicidad con manganeso. Lo que posiblemente afectó la capacidad de desarrollo de forma adecuada del antagonista.

Se ha comprobado que la diversidad de microbios se puede ver afectada debido a la esterilización de suelos por medio del vapor, por ejemplo, en un estudio realizado por Sota-Tanaka et al. (2003), evaluaron las propiedades y la diversidad metabólica de los microbios en el suelo frente a esterilizaciones de vapor y probaron que efectivamente la actividad de los microorganismos de bio control son afectados negativamente, afectando su eficiencia de entre un 30-60%.

Continuamente, se conoce que la esterilización acaba con muchos microbios, además, se conoce que el hongo *Trichoderma*, se alimenta de otros hongos y al eliminarse las fuentes de recursos biológicos, es posible que no expresara de la forma esperada, reduciendo su acción como promotor de crecimiento, su aporte de nutrientes en formas disponibles, entre otras (Herrera Parra 2019; Cubillos Hinojosa et al., 2009).

En el crecimiento del largo (Tabla 3) y área de la hoja D (Tabla 4), se observa que los tratamientos sin inóculo al 100% CC (T2) y al 30% CC (T1) fueron afectados en su crecimiento, en algunas ocasiones su afectación fue igual que las plantas inoculadas con el patógeno o el antagonista por ejemplo el T2 (68,55 cm) fue mayor al T3 (67,88 cm), lo observado pudo ser a causa de los efectos negativos observados al realizar esterilización con vapor siendo esta la reducción del crecimiento de las plantas debido a la toxicidad ocasionado por la liberación de Mn (manganeso), de la fracción orgánica del suelo y debido a la eliminación de microbios que transforman el manganeso disponible en óxidos superiores (Mahmood et al., 2014).

Serrano (2021), menciona que por naturaleza los suelos de Upala poseen contenidos considerables de Mn por lo que al ser expuestos a una mayor temperatura se induce a intoxicaciones como la antes mencionada y la que se observa en las tablas 8 y 9 (ubicados en anexos).

Con respecto a la variable ancho de hoja D (Figura 10), no se detectó diferencias entre las medias de los tratamientos, esto se debe a que al hablar de la hoja D se hace referencia a la hoja adulta más larga de la planta, utilizada para evaluar el crecimiento o el estado nutricional de la planta (Iván Ebe et al., 2015).

Bajo las condiciones establecidas en este ensayo la variable no resultó sensible para detectar diferencias entre los tratamientos y por lo tanto no se considera que aporte más información para la comprensión de la hipótesis de estudio.

En cuanto a las variables de peso fresco (Tabla 5) de las plantas de piña se observó que los T6 y T4 fueron los de mayor peso, mientras que en el peso seco los de mayor peso fueron los T3 y T6. En una investigación realizado por Ruiz-Cisneros et al. (2018), para determinar el efecto de tres especies de *Trichoderma* al aplicarlas solas y confrontación con

tres fitopatógenos, sobre el crecimiento y calidad del fruto de jitomate; concluyeron que en algunas variables morfofisiológicas como el crecimiento, peso, entre otras, el antagonista fue mejor, atribuyendo dicho resultado a la capacidad del *Trichoderma* para solubilizar fosfatos, micronutrientes, cationes minerales útiles para el metabolismo de las plantas que en consecuencia hacen que las plantas tengan un mayor crecimiento y biomasa radicular, como lo ocurrido en el peso de las plantas de piña.

De igual forma que en el presente ensayo dichos autores obtuvieron efectos no esperados, justificando dicho resultado a las densidades del antagonista utilizadas, ya que, según su hipótesis la efectividad de los antagonistas depende de la cantidad del inóculo utilizado. Sugiriendo que la dosis aplicada en el presente estudio no fue suficiente para obtener el efecto esperado en plantas de piña.

Por otro lado, se observa que el menor promedio de peso fresco total (Tabla 5) se registró en los tratamientos T1 y T7, mientras que los menores pesos secos se presentaron en T5, T7 y T8; es importante recalcar que tanto en peso seco como fresco no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos mencionados.

En ambos casos se observa que los tratamientos de confrontación fueron los de menor peso. En el estudio de Ruiz-Cisneros et al. (2018), concluyeron que una deficiente asimilación de nutrientes, como consecuencia de la enfermedad inducida por los patógenos o por el gasto energético que crea la planta para salvaguardar al antagonista impide el crecimiento adecuado.

Otra posibilidad puede deberse a que las plantas inoculadas con ambos organismos requieran de la inversión de energía u otros metabolitos ya sea para combatir al patógeno o para estimular la simbiosis con el antagonista, incidiendo en que dichas plantas hayan tenidos una menor reserva de biomasa durante el periodo evaluado.

Aunado a esto se observa que las plantas inoculadas con *Trichoderma* 30% CC (T5) y los tratamientos T7-T8 (Tabla 5), en la mayoría de los órganos evaluados fueron las plantas con menor peso fresco y seco.

Lo anteriormente mencionado podría justificarse con la susceptibilidad del antagonista y patógeno a bajos gradientes de humedad. Donati (2011), menciona que el género *Trichoderma* presenta diversos comportamientos en lo referente al contenido de humedad en el medio en el que se desarrollan, exhibiendo comportamientos desde mesófilo (humedad intermedia o moderadas) a hidrófilo (ambientes muy húmedos).

También, dice que las especies de *Trichoderma* pueden pasar de estado la latente a uno activo, a medida que aumenta el contenido de humedad del suelo, desarrollándose óptimamente hasta un 60% de la capacidad de campo.

Además, Cabrera & Tejera (2002) encontraron que el *Trichoderma harzianum* es relativamente intolerante a los bajos gradientes de humedad, además, mencionan que las mejores tasas de crecimiento del antagonista ocurren a un pH de 5.5. El valor de pH del suelo utilizado en esta investigación fue de 5,3 (Anexo 2). Por lo que se cree, que al someter las plantas y microorganismos a un ambiente ligeramente más ácido incidió en la reducción de la actividad biológica o metabólica del antagonista.

A nivel de raíces, los tratamientos T4, T6 y T3 (Tabla 6), fueron superiores al resto de las unidades experimentales en cuanto al área de raíces obtenidas. Bitas et al. (2015) concluye que en algunas ocasiones el crecimiento de distintos órganos de las plantas inoculadas con *Fusarium* puede darse de forma elevada contrario a lo esperado debido a que el patógeno es altamente competitivo, en consecuencia aumenta la disponibilidad de nutrientes y mejora la raíz que en efecto aumenta el crecimiento de las plantas, por el incremento de exudados derivados de las plantas, así como el tejido de la raíz para una

posible colonización. Por otro lado, se observa que probablemente la disminución de las raíces en los tratamientos T5 (Tabla 6), pueda ser debido al estrés hídrico, además, se comprueba la estimulación radical de la cepa utilizada de *Trichoderma* siempre y cuando se presenten las condiciones de humedad de suelo ideales para su desarrollo.

Con respecto a la variable severidad de la fusariosis en el interior del tallo, los tratamientos que presentaron el mayor promedio de área afectada fue en plantas inoculadas con *Fusarium oxysporum* (T3-T4-T7-T8) (Tabla 7) no obstante el grado de severidad presentada no sobrepasó el 6%, esto quiere decir que el método de inoculación utilizado si funcionó como método de infección, pero debido a que el hongo desarrolla una enfermedad monocíclica (de lento avance en el tejido del hospedero durante las primeras etapas de la infección), su infección haya sido retrasada o necesitara más tiempo para mostrar mayor afectación (Watt, 2015).

Aquellas plantas que tuvieron algún grado de severidad y no estaban inoculadas en un principio con *Fusarium*, se cree que las plantas venían con un nivel de infección imperceptible desde campo, por medio de un posible “escape” de algunas unidades de producto utilizado que no resultaron efectivos en la desinfección de la semilla.

En cuanto a la variable temperatura de planta (Tabla 8 y Figura 12) la comparación de medias entre tratamientos presentó un resultado inespecífico. En plantas inoculadas con *Trichoderma* 100% CC se detectaron temperaturas elevadas, inclusive fueron las mayores en dos evaluaciones (evaluación 3 y 4), mientras que las plantas inoculadas con *Fusarium* 100% CC en 3 ocasiones (evaluación 1, 4, 5) registraron la menor temperatura.

En una investigación realizada en trigo, se compararon y combinaron imágenes térmicas, fluorescentes e hiperespectrales para monitorear el tizón de la cabeza producida por el patógeno *Fusarium*; en esta investigación se observó que la temperatura de las

espiguillas no inoculadas con *Fusarium* fue más alta que las espiguillas inoculadas inclusive 30 días después de la infección, la diferencia máxima de temperatura se dio a 12 días en las plantas inoculadas con el patógeno, mostrando una heterogeneidad de temperatura más baja, dicho comportamiento fue atribuido a la reducción del contenido de agua ya que se altera la transpiración debido a la interrupción del suministro de agua (Mahlein et al., 2019).

Lo anteriormente mencionado, puede ser una posible causa a lo sucedido en la investigación debido a que existe la posibilidad de que haya existido un error experimental involuntario ya que el suministro de agua se reguló cada 4 días de acuerdo con el valor obtenido con el TDR, sin embargo es posible que la reposición de agua realizada no fue adecuada, Mahlein et al. (2019) dice que muchas veces se dificulta mantener el agua constante, si no se tienen todo un programa de riego y todo el montaje tecnológico requerido para las distintas situaciones.

Por otro lado, la infección del patógeno fue reducida en el periodo evaluado y probablemente insuficiente para generar alteraciones en la temperatura de la planta como se esperaba.

En el caso de las temperaturas presentadas en los T6 (*Trichoderma* 100% CC) (Tabla 8 y Figura 12), pueda ser por el antagonista, ya que se conoce de muy pocas especies de *Trichoderma* que toleran temperaturas mayores a los 30°C, especies como *Trichoderma harzianum* tienen un rango de temperatura cálido que oscila entre los 22 a 33°C tolerando hasta los 38°C, con una temperatura óptima para realizar todas sus funciones como antagonista de entre 25 °C-30°C (Martínez et al. 2013- Romero et al., 2016).

En un estudio realizado se determinó que a 30°C la actividad antagónica del *Trichoderma* fue casi nula a nivel de invernadero, por lo que concluyeron que la temperatura

óptima para el crecimiento no necesariamente coincide con la de su actividad antagónica, y que existe estrecha relación entre aislamiento, antagonismo y temperatura (Rodríguez & Arcia 1993).

El invernadero utilizado para el ensayo se mantenían temperaturas de 30-35°C por lo que es posible que dichas temperaturas presentadas hayan alterado los efectos antagónicos del *Trichoderma* por lo que las temperaturas eran mayores en varias ocasiones.

La hipótesis; la actividad antagónica del *Trichoderma*, no depende de gradientes de humedad en el suelo, es rechazada ya que se demostró que el antagonista si es afectado por las gradientes de humedad, en variables como largo, área, peso fresco, peso seco y longitud de raíces y también se observa que al actuar junto al *Fusarium* fueron uno de los tratamientos que tuvieron menor crecimiento.

CONCLUSIONES

- El riego limitado, los cambios químicos del suelo y las temperaturas externas a la planta afectan la expresión del *Trichoderma* sobre las variables morfofisiológicas (largo, área, peso fresco, peso seco, longitud de raíz y temperatura de las plantas de piña).
- El método de inoculación influye en cómo se desarrolla las enfermedades. En la investigación se pudo denotar que la inoculación directamente al sustrato puede afectar la velocidad de infección y su expresión en las plantas.
- El uso de equipos de detección de la temperatura como sistema de detección de infecciones de patógenos en plantas de piña no fue efectiva en esta investigación.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda estudiar más afondo la dosis de *Trichoderma* necesaria para el combate de *Fusarium oxysporum* de manera efectiva. Debido a que probablemente las dosis añadidas en la investigación no haya sido lo suficiente para proteger a las plantas del *Fusarium*.
- No aplicar en épocas secas el hongo antagonista si no se cuenta con el riego necesario. Ya que se constató que el *Trichoderma* es afectado por el déficit hídrico.
- Al inocular plantas para el estudio, se cree necesario probar distintos métodos, para ver cuál es la que tiene la tasa de infección más alta.
- Si el ensayo llegase a repetirse, se recomienda, no doble auto clavar el suelo para evitar intoxicaciones y reacciones no conocidas en las plantas.
- El uso de equipos de detección de la temperatura como sistema de detección de infecciones de patógenos en plantas de piña es posible, sin embargo, se requiere afinar los sistemas utilizados y realizar pruebas a nivel de campo que permitan valorar las variables expuestas a condiciones ambientales

REFERENCIAS

- Argumedo Delira, R., Alarcón, A., Ferrera Cerrato, R., & Peña Cabriaes, J.J. (2009). El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Int. Contam. Ambient*, 25 (4), 257-269. <https://acortar.link/w93y55>
- Attri, K., Sharma, M., Gupta, S.K. (2018). Influence of edaphic factors on *Fusarium* wilt of bell pepper. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 9 (5), 606-610. <https://doi.org/10.23910/IJBSM/2018.9.5.1904>.
- Bitas, V., McCartney, N., Li, N., Demers, J., Kim, J.E., Kim, H.S., Brown, K.M., Kang, S. (2015). *Fusarium oxysporum* volatiles enhance plant growth via affecting auxin transport and signaling. *Frontiers in Microbiology*, 6 (1), 4-12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01248>.
- Borrajo, C.I., Sánchez Moreiras, A.M., Reigosa, M.J. (2018). Morpho-physiological responses of tall wheatgrass populations to different levels of water stress. *PLOS ONE*, 13 (12), 5-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209281>
- Burgos, C., Perdomo, R., Cayón, G. (2007). Effects of the soil water levels on growth and development of nursery palms effects of the soil water levels on growth and development of nursery palms. *PALMAS*, 28 (1), 70-72. <https://publicaciones.fedepalma.org>
- Cabrera, R., Tejera, R. (2002). Evaluación de diferentes dosis de fertilización en la producción de plantines de *Eucalyptus grandis* w. Hill ex Maiden creciendo en sustrato colonizado por *Trichoderma harzianum* [Tesis de Licenciatura Facultad agronomía]. Universidad de la República de Uruguay. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/25848>

- Cámara Nacional de Productores y Exportadores de Piña (CANAPEP). (2019). Impacto del sector piñero en Costa Rica. CANAPEP. <https://acortar.link/Sss265>
- Cámara Nacional de Productores y Exportadores de Piña (CANAPEP). 2018. La industria de la piña: motor económico y social de Costa Rica. CANAPEP. <https://canapep.com/pina-economico-social-costa-rica/>
- Craig, E., Penon, E., Giachino, V., De Falco, P., Sobero, P., Rojo P., Garau, A., Guarnaschelli, A., García, M., De los, A., Ramos, S., Ewens, M., Scarselletta, A., Eggs, A., Medina, A. (2015). Respuesta al uso de *Trichoderma harzianum* Rifai en distintos géneros y especies, dosis de uso, número de aplicaciones, momento de aplicación, interacciones con fertilización, estrés hídrico, y sobrevivencia del promotor. *PIA*, 10083, 1-6. <https://acortar.link/9P1fiG>
- Díaz Gutiérrez., M.G. (2018). Patogenicidad de diferentes aislamientos de *Fusarium* spp, y su efecto sobre la calidad en piña (*Ananas comosus*) en poscosecha. [Tesis de Licenciatura, Escuela de agronomía]. Universidad de Costa Rica. <https://hdl.handle.net/10669/76984>
- Dietrich, P., Cesarz, S., Eisenhauer, N., Roscher, C. (2020). Effects of steam sterilization on soil abiotic and biotic properties. *Soil organism*, 92 (2), 99-108. 10.25674/so92iss2pp99
- Donati, S. (2011). Efecto de *Trichoderma Harzianum* Cepa L1 Sobre la Calidad de Plantines en *Pinus Taeda*. [Tesis de Licenciatura Facultad agronomía]. Universidad de la República. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/9715>
- Dweba, C.C., Figlan, S., Shimelis, H.A., Motaung, TE., Sydenham, S., Mwadzingeni, L., Tsilo, T.J. (2017). *Fusarium* head blight of wheat: Pathogenesis and control strategies. *Crop Protection*, 91 (1), 114-122. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.10.002>.

Enamo Academy. (22 de julio 2021). Analyze and process your images in seconds with imagej!. <https://acortar.link/jjE1LQ>

Eraso Insuasty, C., Acosta Rodríguez, J., Salazar González, C., Betancourth García, C. (2014). Evaluación de cepas de *Trichoderma* spp. para el manejo del amarillamiento de arveja causado por *Fusarium oxysporum*. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 15 (2), 237-249. <https://acortar.link/QpKzKP>

Esquivel, J. M., Bae, B., Park, G., Casanoves, F., Delgado, D., Finegan, B. Altitude effects on decomposition rates of tree species leaf litter on 2800 m altitudinal gradient in Costa Rican rain forests. Submitted.

Rodríguez Escriba, R.C., Ibraín, D., Rodríguez Cartaya., Lorente, G.Y., López; D., Izquierdo, R.E; Borroto, L.S; Bonet, C., Garza-García, Y., Aragón, C.E; Podestá, F.E., Rodríguez, R., González Olmedo, J.L. (2016). Water effect deficit on morpho-physiological and biochemical changes in «MD-2» micro-propagated pineapple plants at the end of acclimatization stage. *Cultivos Tropicales*, 37 (1), 64-73. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3028.4406>.

Francisco Francisco, N., Ortega Ortiz, H., Benavides Mendoza, A; Ramírez, H; Fuentes Lara, L.O., Robledo Torres, V. (2012). Inmovilización de *Trichoderma harzianum* en hidrogeles de quitosano y su uso en tomate (*Solanum lycopersicum*). *Terra Latinoamericana*, 30 (1), 47-57. <https://acortar.link/E7jVXE>

Garcés De Granada, E., Orozco De Amézquita, M., Bautista, G.R., Valencia, H. (2001). *Fusarium oxysporum*: El hongo que Nos falta Conocer. *Acta biológica Colombia*, 6 (1), 8. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095919>

- Garcés Fiallos, F.R. (2015). Cómo *Fusarium oxysporum* infecta y coloniza los tejidos de las plantas. VII Congreso Latinoamericano de Agronomía en Guayaquil, Guayas, Ecuador. <https://acortar.link/F0jDgY>
- Gimeno, A. (6 de octubre 2020). Principales factores condicionantes para el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas (2-5). Micotoxinas. Recuperado de <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/principales-factores-condicionantes-desarrollo-t26065.htm>
- Henríquez, C., Cabalceta, G. (2012). *Guía práctica para estudio introductorio de los suelos con un enfoque agrícola* (2ª ed.). Editorial Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo.
- Herrera Parra, E., Cristóbal Alejo, J., Ramos Zapata, J. (2017). *Trichoderma* strains as growth promoters in *Capsicum annuum* and as biocontrol agents in *Meloidogyne incognita*. *Chilean journal of agricultural research*, 77 (4), 318-324. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392017000400318>
- Hossain, F. (2016). World pineapple production: An overview. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 16 (4), 11443-11456. <https://doi.org/10.18697/ajfand.76.15620>.
- InfoStat. (2008). InfoStat, versión 2008. Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba (1ª ed.). Editorial Brujas Argentina.
- Inam U.I., Haq, M., Javed, N., Khan, M., Jaskani, M., Khan, M., Khan, H., Irshad, G; Gowen, A. (2009). Role of temperature, moisture and *Trichoderma* species on the survival of *Fusarium oxysporum* ciceri in the rainfed areas of Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 41 (1), 1965-1974. <https://acortar.link/kp1sRz>
- Instituto Meteorológico Nacional de Costa Rica (IMN). (6 de octubre del 2020). Clima de Costa Rica y Variabilidad Climática: El Clima y las Regiones Climáticas de Costa Rica. <https://www.imn.ac.cr/clima-en-costa-rica>

- Iván Ebel, A., Itati Giménez, L., González, A.M., Alayón Luaces, P. (2015). Evaluación morfoanatómica de hojas "D" de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr. var. *comosus*) en respuesta a la implantación de dos sistemas de cultivo en Corrientes, Argentina. *Acta Agronómica*, 65 (4). 390-397. <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v65n4.5056>
- Jiménez, D.J. 1996. El Cultivo de la Piña de Exportación. Instituto del Trópico Húmedo de Tabasco. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29 (1), 55-62. <https://revistafitotecniamexicana.org/documentos/29-1/8a.pdf>
- Kubicek, C., Harman, G. (2002). *Trichoderma & Gliocladium: Basic biology, taxonomy and genetics* (1ª ed). Editorial CRC Press. 1-12.
- Mahlein, A.K., Alisaac, E., Masri, A., Behmann, J., Dehne, H.W., Oerke, E.C. (2019). Comparison and Combination of Thermal, Fluorescence, and Hyperspectral Imaging for Monitoring *Fusarium* Head Blight of Wheat on Spikelet Scale. *Sensors*, 19 (10), 2281. <https://doi.org/10.3390/s19102281>.
- Martínez, B., Infante, D., Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28 (1), 1-11. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>
- Michielse, C.B; Rep, M. (2009). Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology*, 10 (1), 311-324. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00538.x>
- Mahmood, T., Mehnaz, S., Fleischmann, F., Ali, R., Hashmi, Z.H., Iqbal, Z. (2014). Soil sterilization effects on root growth and formation of rhizosheaths in wheat seedlings. *Pedobiologia*, 57 (3), 123-130. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2013.12.005>.

- Monitoreo del Cambio del Uso y Cobertura del Suelo en Paisajes Productivos (MOCUPP). (2022). Cultivo de piña en Costa Rica, actualizaciones al 2019 tras análisis en el 2022. <https://acortar.link/hkc9nV>
- Monge Muñoz, M. (2018). Guía para la identificación de las principales plagas y enfermedades en el cultivo de piña. CICA, 40. <https://acortar.link/8ZXNgV>
- Tanaka, S., Kobayashi, T., Iwasaki, K., Yamane, S., Maeda, K., Sakurai, K. (2003). Properties and metabolic diversity of microbial communities in soils treated with steam sterilization compared with methyl bromide and chloropicrin fumigations. *Soil Science and Plant Nutrition*, 49 (4), 603-610. 10.1080/00380768.2003.10410050
- S.a. (2008). The biology of *Ananas comosus* var. *comosus* (Pineapple). 3-43. <https://acortar.link/Ruu8yo>
- Pires da Silva, F., Vechiato, M., Harakava, R. (2014). EF-1 α gene and IGS rDNA sequencing of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectrum* and *F. oxysporum* f. sp. *Phaseoli* reveals polyphyletic origin of strains. *Tropical Plant Pathology*, 39 (1), 64-73. <https://acortar.link/eJt3jH>
- Promotora de Comercio Exterior (PROCOMER). (22 de septiembre del 2020). Anuario estadístico 2019. <https://acortar.link/me5qJ8>
- Raman, T., Mostert, D., Gopi, M., Ganga, D., Balakrishnan, P., Molina, A., Viljoen, A. (2019). First detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 (TR4) on Cavendish bananas in India. Revista: *European Journal of Plant Pathology*, 154 (1), 777–786. 10.1007/s10658-019-01701-6.
- Regent Instruments Canadá Inc. (2011). WinRHIZO 2012b Basic, Reg, Pro & Arabidopsis for Root Measurement. 56-62.
- Retana, K., Ramírez-Coché, J.A., Castro, O., Blanco Meneses, M. (2017). Caracterización Morfológica y Molecular de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Apii*

- Asociado a la Marchitez del Apio en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 42 (1). 115-126. <http://dx.doi.org/10.15517/rac.v42i1.32199>
- Rodríguez, I., Arcia, A. (1993). Efecto de doce aislamientos de *Trichoderma* spp., sobre el número, tiempo de formación y porcentaje de parasitismo de esclerocios de *Sclerotium rolfsii*, en cuatro temperaturas diferentes. *Fitopatología Venezolana*, 6 (2), 54.
- Rodríguez, R.C., Rodríguez, R., González, JL; Guerrero Posada, P., Bonet Pérez., C. (2018). Efecto del estrés hídrico sobre plántulas de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) 'MD-2' in vitro. *Revista Ingeniería Agrícola*, 8 (2). 21-27. <https://revistas.unah.edu.cu/index.php/IAgric/article/view/933/1303>
- Romero, G., Olivera Costa, V., Rodríguez, D. (18 de julio 2022). *Trichoderma harzianum* como agente de control biológico. <https://acortar.link/rKJEAi>
- Simane, B., Peacock, J.M., Struik, P.C. (1993). Differences in developmental plasticity and growth rate among drought-resistant and susceptible cultivars of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). *Plant and Soil*. 157 (2). 155-166. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00011044>
- Sistema de Información de Organismos Vivos Modificados (SIOVM). (s.f). Piña: *Ananas comosus*. <https://acortar.link/nNEPjH>
- Uribe Clavijo, M., Álvarez Gómez, A., Arango, V., Cortes Mancera, F., Cadavid Jaramillo, A., Cardona Maya, W. (2012). Efecto In Vitro del Extracto Vegetal de *Ananas comosus* sobre Espermatozoides Humanos. *Tecnológicas*, 28 (1). 55-70. <https://acortar.link/hkrAiv>
- Vásquez Jiménez, J. (2009). Evaluación de la eficacia in vitro de sustancias químicas y microorganismos antagónicos del género *Trichoderma* spp., como herramienta para la toma de decisiones en el control de enfermedades “caso: muerte descendente del cultivo de piña *Ananas comosus* (L)

- Merr"[Tesis de licenciatura]. Instituto Tecnológico de Costa Rica.
<https://hdl.handle.net/2238/4004>
- Villa Martínez, A., Pérez Leal, R., Morales Morales, H., Basurto Sotelo, M., Soto Parra, JM., Martínez Escudero, E. (2014). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64 (2), 194-205. 10.15446/acag.v64n2.43358
- Watt, B. (2015). Ficha técnica: *Fusarium* spp. (Hypocreales: Nectriaceae), Podredumbre de raíces. <https://acortar.link/cqZMsi>
- Woo, S., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Lanzuise, S., Manganiello, G., Lorito, M. (2014). *Trichoderma*-based Products and their Widespread Use in Agriculture. *The Open Mycology Journal*, 8 (1), 71-126. 10.2174/1874437001408010071
- Xue, R., Shen, S., Marschner, P. (2017). Soil water content during and after plant growth influence nutrient availability and microbial biomass. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17 (3),702-715. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162017000300012>
- Zhang, C; Druzhinina, I; Kubick, C.P., Xu, T. (2005). *Trichoderma* biodiversity in China: evidence for a north to southern distribution of species in East Asia. *FEMS Microbiol. Lett*, 251-257. 10.1016/j.femsle.2005.08.034.

ANEXOS

En la semana 8 de evaluación se realizó un análisis foliar a las plantas de piña, se tomaron de forma al azar 20 hojas D se rotularon correctamente y se enviaron al laboratorio del CIA. Los resultados fueron comparados con los valores críticos del cultivo, se observó un exceso de manganeso con 2442 mg/kg y las bases (Ca, Mg, K) estaban por debajo del nivel crítico con 0,30% de calcio, 0,20% de magnesio y 3,07% de potasio (Anexo 1).

En el anexo 1 se observan los resultados del análisis foliar realizado:

Anexo 1

Análisis químico foliar de plantas de piña, estudiadas en el invernadero de la UCR, Recinto Turrialba.

Análisis químico foliar										
% Masa						Mg/kg				
N	P	Ca	Mg	K	S	Fe	Cu	Zn	Mn	B
2,53	0,15	0,30	0,20	3,07	0,11	127	10	17	2442	24

Nota. El manganeso es un microelemento esencial para la planta, CIA 2021.

En el análisis químico del suelo se observó que el pH del suelo estudiado estaba en 0,2 por debajo del nivel crítico, mientras que la acidez intercambiable estaba por encima del nivel crítico en 0,6 cmol (+) /L, los minerales por debajo del nivel crítico fueron el fosforo (1 mg/L) y el Zn (2,3mg/L), por otro lado, el cobre (13 mg/L), hierro (74 mg/L) y manganeso (74mg/L) estaban por encima del nivel crítico (Anexo 2).

En el anexo 2 se observan los resultados del análisis foliar realizado:

Anexo 2

Análisis químico de suelo, estudiado en el invernadero de la UCR, Recinto Turrialba.

ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELOS											
pH	Cmol (+)/L					%	mg/L				
H ₂ O	ACIDEZ	Ca	Mg	K	CICE	SA	P	Zn	Cu	Fe	Mn
5,5	0,5	4	1	0,2	5		10	3	1	10	5
5,3	0,11	5,32	1,69	0,42	7,54	2	1	2,3	13	74	74

Nota. Se observa excesos de macro y microelementos, CIA 2021.

Anexo 3

Etiqueta del bio estimulante radicular Triflora.

¡ALTO! LEA ESTA ETIQUETA ANTES DE MANIPULAR EL PRODUCTO

MEDIDAS PARA LA PROTECCIÓN DEL AMBIENTE:

No contamine ríos, lagos, estanques o fuentes de agua con este producto con envases o empaques vacíos.

AVISO DE GARANTÍA:

El fabricante y el registrante garantizan la calidad del producto en su envase original cerrado herméticamente. También garantizan la eficacia del producto, siempre y cuando se le dé el uso estipulado en el panfleto. Debido a que está fuera de nuestro alcance el control sobre el almacenamiento, manipuleo de este producto, nos es imposible asumir responsabilidades por posibles daños que puedan ocasionarse debido a estos factores. Se garantiza asimismo la composición química del producto tal y como se indica en la etiqueta, siempre y cuando el envase se encuentre sellado.

ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE:

Este producto no es inflamable ni corrosivo. No transporte este producto con alimentos, semillas, forrajes, medicamentos, ropa y utensilios de uso doméstico. Almacene bajo llave en un lugar fresco, seco, y aireado y lejos del alcance de los niños, personas discapacitadas, y animales domésticos. No almacenar a temperaturas mayores de 30 °C. Conserve el producto en su envase original, etiquetado y cerrado herméticamente.



Triflora Bioestimulante Radicular

Composición p/v
Trichoderma harzianum y T. viride 3.4 x 10¹² UFC

Contenido Neto
() 500cc () 1 litro () 3.785 lts () 20 litros

FABRICADO Y FORMULADO POR:

Horizon Bioagro S.A.
Llano Grande de Cartago, Costa Rica
Tel: (506) 2271-3665, 8814-5597,
e-mail: info@horizonbioagro.com

DISTRIBUIDO POR:

NO USE EL PRODUCTO EN FORMA DIFERENTE A LO INDICADO EN ESTA ETIQUETA INSTRUCCIONES DE USO

Agro Bacillus es un complejo de bacterias benéficas que puede ser utilizado en todas las etapas del cultivo para mejorar las condiciones de la planta.

PREPARACIÓN DE LA MEZCLA:

Para preparar el caldo de aplicación, vierta el contenido del producto en el tanque de aplicación lleno hasta la mitad con agua limpia, posteriormente con el sistema de agitación en funcionamiento termine de llenar el tanque con agua limpia.

METODO DE APLICACIÓN: Aspersión al suelo

RECOMENDACIONES DE USO: Para Costa Rica
Cultivos: Aglonema. Aguacate. Ajo. Algodón. Apio. Arroz. Arveja. Ayote. Banano. Berenjena. Brócoli. Cacao. Café. Cala. Calabaza. Camote. Caña de azúcar. Caña India. Carambola. Cebolla. Cerezos. Césped. Chayote. Chile dulce. Chile picante. China. Chiverre. Ciruela. Clavel. Clavelón. Coco. Col de Bruselas. Coliflor. Cordilline. Crisantemo. Crotos. Culantro. Culantro Coyote. Cúrcuma. Espárrago. Espinaca. Frijol. Gerbera. Girasol. Granadilla. Guanábana. Guayaba. Helecho Hoja de Cuero. Heliconia. Jengibre. Lechuga. Legumbres. Limón. Lirios. Macadamia. Maíz. Malanga coco. Malanga isleña. Mandarina. Mango. Maní. Manzana. Maracuyá. Marginatas. Melocotón. Melón. Mora. Mostaza. Name. Námpe. Naranja. Orquídeas. Palma africana. Palmito. Papa. Papaya. Pepino. Pera. Pimienta. Piña. Plátano. Rábano. Remolacha. Repollo. Rosa. Sandía. Sorgo. Soya. Tabaco. Tiquisque blanco. Tiquisque lila. Tomate. Toronja. Uva. Vainica. Yampi. Yuca. Zanahoria. Zapallo. Zuchini.

Dosis: 1 a 4 litros de producto por hectarea. Aplicación dirigida al suelo o foliar, ya sea via drench, con bomba de espalda, spray boom o riego por goteo. 1 litro por estafion

FITOTOXICIDAD Y COMPATIBILIDAD: Este producto no es Fitotóxico. No debe ser mezclado con fungicidas, productos químicos o coadyuvantes que alteren el rango de pH entre 5-6.

Lote:
Fecha Vencimiento:
Fecha Producción:

Numero de Registro: 7547
Fecha Registro: 23/Oct/2013
Pais: Costa Rica

Nota. Se observa los detalles del antagonista *Trichoderma* utilizadas, comercializada por HORIZON BIOGRO.

Anexo 4

Análisis de varianza del “largo de la hoja D” de plantas de piña.

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2 0	R2 1	R2 2
782	3233,47	3850,76	-1479,73	1998,45	0,78	0,80	0,93

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	622	46,59	<0,0001
Tratamiento	7	43	4,57	0,0007
Semana	13	622	459,61	<0,0001
Cantidad.de.hojas	1	43	10,50	0,0023
Tratamiento:Semana	91	622	2,82	<0,0001

Pruebas de hipótesis tipo III - prueba

	Source	numDF	denDF	F-value	p-value
1	Tratamiento	7	43	4,57	0,0007
2	Semana	13	622	459,61	<0,0001
3	Tratamiento:Semana	91	622	2,82	<0,0001
4	Cantidad.de.hojas	1	43	10,50	0,0023

Nota. Variable repetida en el tiempo.

Anexo 5

Análisis de varianza del “ancho de la hoja D” de plantas de piña.

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2 0	R2 1	R2 2
784	327,97	941,16	-27,98	0,25	0,44	0,44	0,75

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	624	78,33	<0,0001
Tratamiento	7	43	1,17	0,3374
Semana	13	624	64,49	<0,0001
Cantidad.de.hojas	1	43	9,71	0,0033
Tratamiento:Semana	91	624	1,40	0,0116

Pruebas de hipótesis tipo III - prueba

	Source	numDF	denDF	F-value	p-value
1	Tratamiento	7	43	1,17	0,3374
2	Semana	13	624	64,49	<0,0001
3	Tratamiento:Semana	91	624	1,40	0,0116
4	Cantidad.de.hojas	1	43	9,71	0,0033

Nota. Variable repetida en el tiempo.

Anexo 6

Análisis de varianza del “área de la hoja D” de plantas de piña.

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2 0	R2 1	R2 2
784	6120,92	6738,62	-2923,46	140,28	0,77	0,77	0,92

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	624	11,87	0,0006
Tratamiento	7	43	4,35	0,0010
Semana	13	624	332,69	<0,0001
Cantidad.de.hojas	1	43	23,64	<0,0001
Tratamiento:Semana	91	624	1,96	<0,0001

Pruebas de hipótesis tipo III - prueba

	Source	numDF	denDF	F-value	p-value
1	Tratamiento	7	43	4,35	0,0010
2	Semana	13	624	332,69	<0,0001
3	Tratamiento:Semana	91	624	1,96	<0,0001
4	Cantidad.de.hojas	1	43	23,64	<0,0001

Nota. Variable repetida en el tiempo.

Anexo 7

Análisis de varianza de las “temperaturas máximas” encontradas en plantas de piña.

Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Sigma	R2 0	R2 1	R2 2
280	957,04	1120,63	-431,52	1,05	0,88	0,89	0,91

AIC y BIC menores implica mejor

Pruebas de hipótesis marginales (SC tipo III)

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	192	21045,86	<0,0001
Tratamiento	7	44	1,91	0,0902
Semana.Evaluacion	4	192	1412,03	<0,0001
Tratamiento:Semana.Evaluac..	28	192	6,02	<0,0001

Pruebas de hipótesis tipo III - prueba

	Source	numDF	denDF	F-value	p-value
1	Tratamiento	7	44	1,91	0,0902
2	Semana.Evaluacion	4	192	1412,03	<0,0001
3	Tratamiento:Semana.Evaluac..	28	192	6,02	<0,0001

Nota. Variable repetida en el tiempo.

Anexo 8

Análisis de varianza del “peso fresco total” de las plantas piña.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso(g)	56	0,70	0,61	15,08

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1728592,50	13	132968,65	7,60	<0,0001
Repeticiones	55138,37	6	9189,73	0,52	0,7861
Tratamiento	1673454,13	7	239064,88	13,66	<0,0001
Error	735194,11	42	17504,62		
Total	2463786,61	55			

Nota. Variable no repetida en el tiempo.

Anexo 9

Análisis de varianza del “peso seco total” de las plantas piña.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso(g)	56	0,78	0,71	12,87

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	40511,75	13	3116,29	11,25	<0,0001
Repeticiones	680,88	6	113,48	0,41	0,8683
Tratamiento	39830,87	7	5690,12	20,55	<0,0001
Error	11629,88	42	276,90		
Total	52141,63	55			

Nota. Variable no repetida en el tiempo.

Anexo 10

Análisis de varianza del “peso fresco de la raíz” de las plantas piña.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso (g)	56	0,55	0,41	28,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	44104,83	13	3392,68	3,98	0,0003
Repeticiones	6335,83	6	1055,97	1,24	0,3062
Tratamiento	37769,00	7	5395,57	6,33	<0,0001
Error	35798,85	42	852,35		
Total	79903,68	55			

Nota. Variable no repetida en el tiempo.

Anexo 11

Análisis de varianza del “peso seco de la raíz” de las plantas piña.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso (g)	56	0,55	0,40	27,76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	685,85	13	52,76	3,88	0,0004
Tratamiento	632,10	7	90,30	6,64	<0,0001
Repeticiones	53,75	6	8,96	0,66	0,6833
Error	571,51	42	13,61		
Total	1257,35	55			

Nota. Variable no repetida en el tiempo.

Anexo 12

Análisis de varianza del “peso fresco del tallo” de las plantas piña.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso (g)	56	0,75	0,67	13,62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	15665,34	13	1205,03	9,51	<0,0001
Tratamiento	15322,61	7	2188,94	17,28	<0,0001
Repeticiones	342,73	6	57,12	0,45	0,8401
Error	5319,21	42	126,65		
Total	20984,55	55			

Nota. Variable no repetida en el tiempo.

Anexo 13

Análisis de varianza del “peso seco del tallo” de las plantas piña.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso (g)	56	0,79	0,72	17,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1398,62	13	107,59	11,88	<0,0001
Tratamiento	1387,41	7	198,20	21,89	<0,0001
Repeticiones	11,22	6	1,87	0,21	0,9729
Error	380,33	42	9,06		
Total	1778,95	55			

Nota. Variable no repetida en el tiempo.

Anexo 14

Análisis de varianza del “peso fresco de las hojas” de las plantas piña.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso(g)	56	0,69	0,59	15,19

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1024204,42	13	78784,96	7,17	<0,0001
Tratamiento	995474,60	7	142210,66	12,93	<0,0001
Repeticiones	28729,82	6	4788,30	0,44	0,8509
Error	461787,96	42	10994,95		
Total	1485992,38	55			

Nota. Variable no repetida en el tiempo.

Anexo 15

Análisis de varianza del “peso seco de las hojas” de las plantas piña.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso(g)	56	0,78	0,71	12,19

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	21519,97	13	1655,38	11,54	<0,0001
Tratamiento	21150,30	7	3021,47	21,06	<0,0001
Repeticiones	369,66	6	61,61	0,43	0,8552
Error	6026,56	42	143,49		
Total	27546,52	55			

Nota. Variable no repetida en el tiempo.

Anexo 16

Análisis de varianza del “porcentaje de severidad” de las plantas de piña.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Severidad	56	0,67	0,57	80,97

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	257,83	13	19,83	6,57	<0,0001
Tratamientos	226,78	7	32,40	10,74	<0,0001
Repeticiones	31,05	6	5,17	1,71	0,1413
Error	126,74	42	3,02		
Total	384,56	55			

Nota. Variable no repetida en el tiempo.

Anexo 17

Análisis de varianza del “volumen de la raíz” de las plantas de piña.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Volumen(m2)	56	0,66	0,55	26,49

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	100123833,96	13	7701833,38	6,23	<0,0001
Repeticiones	10202000,99	6	1700333,50	1,38	0,2468
Tratamiento	89921832,97	7	12845976,14	10,39	<0,0001
Error	51914532,80	42	1236060,30		
Total	152038366,76	55			

Nota. Variable no repetida en el tiempo.