

Validación de *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams en el manejo agronómico de vitroplantas de *Musa paradisiaca* L. en fase de adaptación *ex vitro*



<https://eqrcode.co/a/s0pyQZ>

Validation of *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams in the agronomic management of *Musa paradisiaca* L. vitroplants at the *ex vitro* adaptation phase

Jersys Arévalo Ortega^{1*}, Miguel A. Hernández Socorro¹, Rolisbel Alfonso de la Cruz¹, Nivian Montes de Oca Martínez¹, Leopoldo Hidalgo-Díaz²

¹Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Carretera de Jamaica y Autopista Nacional. Apartado 10. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

²Biotor Labs, S.A. Km 108 carretera Panamericana, San Isidro, Nicaragua.

RESUMEN: El objetivo de este estudio fue validar la aplicación de *P. chlamydosporia* cepa IMI SD 187 (i.a. del bionemático KlamiC[®]) en la estrategia de manejo agronómico de vitroplantas de plátano (*Musa paradisiaca* L.) durante la fase de adaptación *ex vitro*. En un primer ensayo, se evaluó la compatibilidad *in vitro* de *P. chlamydosporia* con los productos FitoMas, Urea, Cuproflow, Bayfolan y Dimetoato, incorporados al medio de cultivo, teniendo en cuenta el crecimiento micelial radial y la esporulación del hongo. En un segundo ensayo, se evaluó el efecto de la aplicación de estos productos combinados con *P. chlamydosporia*, durante la etapa de aclimatización de vitroplantas. *P. chlamydosporia* se aplicó mediante aspersión a los 3 y 20 días después del trasplante, a una concentración de $5,6 \times 10^5$ clamidosporas.vitroplanta⁻¹, de forma independiente o combinado con agroquímicos y bioestimulante, sobre vitroplantas cv. ‘CEMSA – ¾’, de diferentes calibres. Las vitroplantas se sembraron en bandejas de polipropileno de 70 alvéolos que contenían como sustrato suelo ferralítico rojo lixiviado y cachaza (1:3 v/v) y se distribuyeron en el área de aclimatización en bloques al azar. Se evaluó el crecimiento vegetativo y la colonización de *P. chlamydosporia* en el sustrato y las raíces. El Cuproflow se consideró muy tóxico y el resto de los productos evaluados resultaron compatibles con el hongo. *P. chlamydosporia* colonizó la rizosfera de las vitroplantas y logró incrementos en la longitud de la planta, el diámetro del pseudotallo, las masas frescas foliar y radical. La mayor estimulación del crecimiento se obtuvo sobre vitroplantas de calibre pequeño.

Palabras clave: hongo nematófago, Manejo Integrado de Plagas, promoción del crecimiento vegetal.

ABSTRACT: The objective of this study was to validate the application of *P. chlamydosporia* strain IMI SD 187 (a.i. of bionematicide KlamiC[®]) in the agronomic management strategy for plantain vitroplants (*Musa paradisiaca* L.) during the *ex vitro* adaptation phase. In a first assay, the *in vitro* compatibility of *P. chlamydosporia*, with the products FitoMas, Urea, Cuproflow, Bayfolan, and Dimethoate added to the culture medium, was evaluated, taking into account the fungal radial mycelial growth and sporulation. In a second assay, these products were combined with the strain IMI SD 187, during the acclimatization phase of vitroplants. *P. chlamydosporia* was applied at $5,6 \times 10^5$ clamidospore.vitroplant⁻¹ by sprinkling the vitroplants at 3 and 20 days after transplanting, alone or in combination with agrochemicals and bioestimulant, on vitroplants of different size, cultivar ‘CEMSA – ¾’. The vitroplants were transplanted into polypropylene trays of 70 alveolus containing substrate: ferralitic red lixiviade soil and organic amendment (1:3 v/v); and they were distributed in the acclimatization area under randomize block design. The plant growth and fungal colonization on the substrate and roots were evaluated. Cuproflow was considered high toxic and the rest of the products evaluated were compatibles with the fungus. *P. chlamydosporia* colonized the vitroplants rhizosphere, and plant growth parameters were increased: plant length, pseudo- stem diameter and foliate and root fresh masses. The major growth stimulation was achieved on smaller size vitroplants.

Key words: nematophagous fungus, Integrate Pest Management, plant growth promotion.

*Autor para correspondencia: Jersys Arévalo Ortega. E-mail: jersys@censa.edu.cu

Recibido: 14/12/2019

Aceptado: 04/05/2020

INTRODUCCIÓN

Los plátanos y bananos (*Musa* spp.) tienen una elevada importancia a nivel mundial. Estos cultivos se encuentran entre los de mayor demanda y constituyen fuentes de alimento, empleos e ingresos económicos (1). En Cuba, constituyen un reglón de elevada prioridad dentro de los programas alimentarios, debido a su capacidad de producir todos los meses del año, su elevado potencial productivo, los hábitos de consumo y la diversidad de usos (2). Sin embargo, sus producciones se afectan por plagas que dañan el follaje, el corno y las raíces (3), en particular los hongos fitopatógenos y los nematodos fitoparásitos, agentes causales de enfermedades complejas (4). La propagación vegetativa a partir de rizomas o hijuelos infectados por estos, constituye una fuente para su diseminación en el campo (5).

Actualmente, el uso de vitroplantas como material de plantación constituye una alternativa de protección al cultivo en plantaciones comerciales. Este método de propagación consta de cuatro fases y termina con la aclimatación de las vitroplantas provenientes del ambiente *in vitro*, a condiciones donde se desarrollarán para su cultivo, con el propósito de proporcionarle a la planta mejor adaptación al medioambiente externo antes de ser llevadas al campo (6). Resulta fundamental en esta etapa que las plantas formen un buen sistema radical, debido a que su desarrollo vegetativo y rendimiento en campo está determinada en gran medida por el crecimiento de raíces sanas y vigorosas (7).

Sin embargo, estas vitroplantas se encuentran libres de microorganismos antagonistas asociados a su rizosfera, lo que las hace vulnerables al ataque de plagas. La incorporación de hongos endófitos que tengan actividad antagónica contra agentes nocivos, constituye una herramienta importante para la protección biológica de vitroplantas de plátanos y bananos utilizadas como material de plantación (4).

En este sentido, *P. chlamydosporia* se considera entre los microorganismos más promisorios por sus potencialidades como agente de control microbiano de nematodos y endófito promotor del crecimiento en cultivos de interés económico (8, 9). Este hongo se destaca por su

habilidad colonizadora de suelos, sustratos y rizosfera (10). Posee un efecto inductor sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas, mediante la modulación de respuestas bioquímicas y estructurales de la planta o la regulación de la expresión de genes implicados en la biosíntesis de fitohormonas (11). En algunos casos esta promoción de crecimiento resulta como consecuencia de la reducción de patógenos radicales y nematodos (12). Asimismo, la habilidad de colonización endofítica que posee *P. chlamydosporia* puede conferirle a la planta una vía de escape frente a situaciones de estrés biótico o abiótico presentes en su hábitat natural (13). Recientemente, este hongo se informó de forma natural en la rizosfera de banano (14) y su capacidad para producir compuestos orgánicos volátiles con efecto repelente al picudo negro (*Cosmopolites sordidus*) (15).

Estudios precedentes en Cuba demostraron la capacidad endofítica y la promoción del crecimiento de la cepa IMI SD 187 de *P. chlamydosporia* en vitroplantas de diferentes cultivares de plátanos y bananos, pues la aplicación de este hongo provocó un incremento significativo de los parámetros vegetativos del crecimiento de las vitroplantas, como consecuencia de la producción de mayor biomasa del sistema radical y foliar (16).

La actividad de este hongo en la rizosfera se potencia cuando se combina con otros productos compatibles (17). Sin embargo, se desconoce el efecto de plaguicidas, que comúnmente se utilizan en cada sistema productivo con este agente de control biológico. Por estas razones, el estudio de la compatibilidad es uno de los factores más importantes a tener en cuenta antes de realizar propuestas que impliquen su aplicación combinada dentro de una estrategia de Manejo Integrado de Plagas (MIP), ya que estos insumos pueden afectar negativamente el establecimiento y la actividad del hongo.

Los resultados obtenidos por Ceiro *et al.* (18), *in vitro*, mostraron que el bioestimulante vegetal Biobras-16, el acaricida Rogor L 40 y los fungicidas Mancozeb PH 80, Domark 100 CE 10 y Galben PH 8 resultaron muy tóxicos para *P. chlamydosporia* (cepa IMI SD 187). Estos resultados sugieren que son necesarios otros estudios de compatibilidad con esta cepa, donde

se evalúen plaguicidas y otros productos de uso frecuente en diversos sistemas agrícolas.

El objetivo del presente trabajo fue validar la aplicación de *P. chlamydosporia* cepa IMI SD 187 (i.a. del bionemático KlamiC®) en la estrategia de manejo agronómico de vitroplantas de plátano (*Musa paradisiaca* L.) durante la fase de adaptación *ex vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Compatibilidad *in vitro*

Para evaluar la compatibilidad *in vitro* de los productos seleccionados con el hongo *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) (i.a. del bionemático KlamiC®), se utilizó el método de Clark *et al.* (19), mediante la incorporación de cada producto al medio de cultivo agarizado. Se utilizaron cinco productos usados para el manejo de plagas y la nutrición de las vitroplantas de plátano (en la fase IV) en Cuba (20). (Tabla 1)

Se utilizó el medio de cultivo Agar Papa y Dextrosa (PDA, BioCen). El medio se esterilizó en una autoclave durante 20 minutos a 121°C. Posteriormente, se dejó enfriar hasta 37°C y se le añadió cada producto de forma independiente, en cabina de flujo laminar, con ayuda de una pipeta automática, teniendo en cuenta las dosis recomendadas para su aplicación y autorizados en Cuba (20). A continuación, se añadieron a los medios de cultivos los antibióticos Tetraciclina, Cloranfenicol y Sulfato de estreptomicina, 50 mg.L⁻¹ de cada uno. En cada placa Petri (Ø= 80 mm) se vertieron aproximadamente 20 ml. Cada producto constituyó un tratamiento y se realizó un control de PDA más los antibióticos, con cinco réplicas.

En el centro de cada placa se inoculó un disco de micelio (Ø= 5 mm) de la cepa IMI SD 187 de *P. chlamydosporia* a partir de la periferia de una colonia pura, de 15 días de crecida. Las placas se sellaron con Parafilm® y se incubaron durante 14 días a 25±1°C en una incubadora (marca Friocell), momento en que se realizaron las evaluaciones.

Para conocer el efecto de los productos sobre el crecimiento de *P. chlamydosporia* se midió el diámetro de las colonias con una regla milimetrada. Con los valores obtenidos se calculó el área de las colonias a través de la fórmula $A=\pi.r^2$, donde $\pi=3,14$ y r el radio de la colonia.

Para cuantificar la producción de clamidosporas se vertieron 5 ml de una solución de Tween-80 (0,05 %) encima del micelio y se arrastró cuidadosamente con la ayuda de una espátula de Drigalski esterilizada, hasta separar totalmente el micelio del agar. La suspensión obtenida se colectó en tubos de ensayo de 20 ml. Por último, se extrajo una alícuota (10 µl) de la suspensión para contabilizar las clamidosporas por colonia en una cámara de Neubauer, con el uso de un microscopio óptico (Zeiss) en 20X. Con los valores del conteo de clamidosporas se calculó la esporulación por colonia y se comparó con el tratamiento control.

La compatibilidad de los productos con el hongo se determinó a partir del cálculo de la toxicidad, mediante la fórmula propuesta por Alves *et al.* (21):

$$T = [20 (CV) + 80 (ESP)] / 100$$

Donde: T (toxicidad); CV (crecimiento del micelio en el tratamiento en relación al control, en %); ESP (producción de clamidosporas en relación al control, en %). Cada producto se clasificó de acuerdo a los valores siguientes: 0 - 30 = muy tóxico; 31 - 45 = tóxico; 46 - 60 = moderadamente tóxico; > 60 compatible.

Tabla 1. Productos y dosis utilizados para la evaluación de la compatibilidad con la cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydosporia* / Products and doses used to evaluate the compatibility with the strain IMI SD 187 of *Pochonia chlamydosporia*.

Producto	Nombre comercial	Ingrediente activo	Acción	Dosis
Cuproflow	Cuproflow SC 37,75	Oxicloruro de cobre	Fungicida	5,3 g.L ⁻¹
Dimetoato	Dimetoato 40 CE	Dimetoato	Insecticida	1,0 ml.L ⁻¹
Bayfolan	Bayfolan Forte SL	NPK (11-8-6)	Fertilizante	3,0 ml.L ⁻¹
Urea	Urea 46 % N	Nitrógeno	Fertilizante	5,0 g.L ⁻¹
FitoMas E	FitoMas E	Sustancias naturales (aminoácidos y sacáridos)	Estimulante	5,3 ml.L ⁻¹

Los datos del crecimiento micelial y producción de clamidosporas se procesaron mediante un análisis de varianza simple. Los valores promedios se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$), a través del paquete estadístico InfoStat versión 2017e (22).

Fase de adaptación de vitroplantas

El material vegetal consistió en vitroplantas del cultivar ‘CEMSA – ¾’ al concluir la fase III de enraizamiento *in vitro*, las cuales se clasificaron por calibre (grande, mediano o pequeño) en el momento en que pasaron a la fase IV de aclimatización o adaptación *ex vitro*. Los parámetros vegetativos iniciales de las vitroplantas de calibre grande fueron de 5,51 cm en la altura de la planta y 2,8 mm de diámetro del pseudotallo; en el calibre mediano, 3,90 cm en la altura de la planta y 2,5 mm de diámetro del pseudotallo; en el calibre pequeño 2,34 cm en la altura de la planta y 2,4 mm de diámetro del pseudotallo. Todas las plantas tenían entre 2 y 3 hojas activas y más de tres raíces.

El experimento se realizó (tres réplicas por tratamiento) en bandejas de polipropileno endurecido de 47 x 69 cm con 70 alvéolos pequeños de 5 x 5 x 5 cm. En cada alvéolo contentivo de 65 g de sustrato conformado por suelo Ferralítico Rojo lixiviado (Nitisol Ródico Eútrico) y cachaza, en una relación 1:3 v/v, se trasplantó una planta. La cachaza provino del Complejo Agroindustrial “Boris Luis Santa Coloma”, municipio Madruga.

Las vitroplantas se trasplantaron a las bandejas de polipropileno endurecido, de acuerdo al calibre. Se establecieron cuatro tratamientos por cada calibre y un control absoluto, con tres repeticiones (tres bandejas de 70 alvéolos cada una) por tratamiento (Tabla 2). Las bandejas se

colocaron en el área de aclimatización según un diseño experimental de bloques al azar.

Para la obtención de la suspensión de esporas de *P. chlamydosporia* (IMI SD 187), se pesaron 15,6 g de KlamiC® por litro de agua y se agitó manualmente durante un minuto para desprender las clamidosporas del sustrato. Posteriormente, se filtró y se vertió dentro de una mochila asperjadora de 16 L. Se realizaron aplicaciones de la suspensión de clamidosporas, al *drench*, a los 3 y 20 días después del trasplante (DDT), donde a cada vitroplanta se le aplicó 6 ml, equivalentes a $5,6 \times 10^5$ clamidosporas vitroplanta⁻¹ (16).

La estrategia de manejo agronómico aplicada a las vitroplantas durante la fase IV de aclimatización consistió en la aplicación de: Urea, Fitomas E, Cuproflow, Bayfolan y Dimetoato en las dosis descritas en el ensayo anterior y recomendadas en el país (20), con aplicaciones semanales. De forma que se aplicaron en semanas alternas: los plaguicidas Cuproflow y Dimetoato (2 aplicaciones) mediante aspersion al follaje; los fertilizantes Urea y Bayfolan (1 sola aplicación) y dos aplicaciones de FitoMas E. Durante el tiempo del experimento, se realizaron las atenciones culturales y se observó el estado fitosanitario de las plantas.

La adaptación de las vitroplantas para alcanzar la fase IV de aclimatización o adaptación *ex vitro* se realizó en condiciones de producción en la Biofábrica de la Unidad Empresarial de Semillas Mayabeque, en umbráculo semiprotegido en la cubierta y paredes, con mallas de sombreado de color negro con 70 % de la intensidad luminosa. En su mantenimiento, se aplicaron dos riegos aéreos por día, a través de un sistema de microaspersores para mantener 80 % de la capacidad de campo en el sustrato y humedad relativa ambiental entre 85-95 %.

Tabla 2. Tratamientos evaluados en el experimento durante la Fase IV de aclimatización *ex vitro* de las vitroplantas de plátano cultivar ‘CEMSA – ¾’ / *Experimental treatments in the Phase IV for the ex vitro acclimatization of plantain vitroplants, cultivar ‘CEMSA – ¾’.*

Tratamientos	Descripción
T1	Control absoluto
T2	KlamiC® 2 aplicaciones (3 y 20 DDT)
T3	KlamiC® 2 aplicaciones (3 y 20 DDT) + Estrategia de manejo agronómico
T4	Estrategia de manejo agronómico (sin KlamiC®)

DDT: Días después del trasplante

A los 30 días (DDT) se evaluó la colonización de *P. chlamydosporia* en el sustrato y las raíces (UFC.g⁻¹), mediante el método de diluciones seriadas y siembra en medio semiselectivo y el conteo del número de UFC a partir de un gramo de cada muestra (23).

Se evaluaron los parámetros del crecimiento vegetativo de 30 vitroplantas al azar, de cada bandeja correspondiente a cada tratamiento, en cada uno de los calibres diferenciados inicialmente, teniendo en cuenta la longitud de la planta (cm) con una regla milimetrada, diámetro del pseudotallo (mm) con pie de rey, número de hojas activas, masa fresca foliar (g) y masa fresca radical (g) en una balanza analítica (Sartorius), según describieron Hernández *et al.* (16). Adicionalmente se calculó el incremento con relación al testigo de cada uno de los tratamientos en todas las variables (excepto en el número de hojas activas), mediante la fórmula:

$$\text{Incremento} = ((Mt / Mo) - 1) \times 100$$

Donde,

Mt - medida del tratamiento en la variable

Mo - medida del testigo absoluto

Se utilizó un diseño experimental de Bloques al azar. Los datos de cada variable se trataron mediante un análisis de varianza simple. El nivel de significación usado fue $P \leq 0,05$. Se realizó la comparación de medias mediante la prueba DUNCAN, con el uso del paquete estadístico InfoStat versión 2017 (22).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Compatibilidad *in vitro*

Se produjeron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos. El crecimiento fúngico se incrementó 101 % con Bayfolan forte comparado con el Control; solo el Cuproflow ocasionó desarrollo micelial inferior al 50 %. La producción de clamidosporas se estimuló con Bayfolan, Urea y FitoMas E en comparación con el Control; Cuproflow produjo clamidosporas en cantidad inferior al 4 %. Según los criterios de Alves *et al.* (21), Bayfolan, FitoMas E, Urea, Dimetoato resultaron compatibles con el hongo, y Cuproflow muy tóxico. (Tabla 3)

El Cuproflow se consideró muy tóxico para la cepa IMI SD 187, lo que sugiere cambiarlo por otros fungicidas compatibles con *P. chlamydosporia* como Benomilo y Zineb (18), según los agentes nocivos presentes, o la aplicación de otras medidas menos agresivas, como el uso de productos biológicos, entre ellos plaguicidas de origen botánico y el hongo antagonista *Trichoderma asperellum* cepa Ta. 13 (producto comercial SevetriC) (24). El resto de los productos pueden utilizarse de forma segura en el manejo integrado de plagas donde se aplique este hongo.

Tabla 3. Compatibilidad de los agroquímicos y del bioestimulante del crecimiento vegetal FitoMas con *P. chlamydosporia* cepa IMI SD 187 / *Compatibility of agrochemicals and the plant growth stimulant FitoMas with P. chlamydosporia strain IMI SD 187.*

Tratamiento	Ø de la colonia	CV %	Esp (x10 ³ clam.col ⁻¹)	Esp %	T	Compt
PDA (control)	54,0 a	100,0	72,9 bc	100,0	-	-
Cuproflow	20,0 b	37,0	2,4 d	3,3	10,0	MTx
Dimetoato	32,0 b	59,3	57,3 c	78,6	74,7	C
Bayfolan forte	54,7 a	101,2	3111,5 a	4267,1	3434,0	C
Urea	51,3 a	95,1	1414,6 a b	1940,0	1571,0	C
FitoMas E	50,0 a	92,6	2035,0 a	2790,9	2251,2	C

Ø: diámetro, CV: crecimiento micelial, Esp: esporulación, T: valor calculado de toxicidad, Compt: compatibilidad, Mtx: muy tóxico, C: compatible. Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Fase de adaptación de vitroplantas

La colonización de *P. chlamydosporia* en las raíces de las vitroplantas en el cultivar ‘CEMSA – ¾’ no mostró diferencias significativas entre los tratamientos de un mismo calibre, cuando se aplicó independiente o combinado con los productos. El hongo fue capaz de colonizar las raíces en presencia de los productos aplicados a las vitroplantas (T3) con valores entre 1,76 - 5,37x10³ UFC.g⁻¹ de raíz. Cabe señalar que, la mayor colonización se expresó en las vitroplantas de calibre pequeño. (Figura 1)

A los 30 días, se apreció entre 92 y 94 % de supervivencia de las plantas, sin diferencias de los tratamientos con respecto al control, lo cual se considera adecuado según lo planteado por Scaranari (6), que tuvo más de un 90 % de supervivencia en vitroplantas de banano del cultivar ‘Gran Enano’.

El número de hojas activas estuvo entre 3-5 hojas en las vitroplantas de diferente calibre, sin diferencias significativas entre los tratamientos donde se aplicó el hongo y los productos, de forma independiente o combinados, dentro de la estrategia de manejo agronómico.

En las variables del crecimiento de las vitroplantas a los 30 días en fase de aclimatización, los mayores valores se observaron en el tratamiento T2, con la

aplicación del hongo de forma independiente (a los 3 y 20 DDT), donde hubo una estimulación significativa, en comparación con las vitroplantas del control absoluto, del diámetro del pseudotallo en las vitroplantas de los tres tipos de calibre y de la longitud foliar de las vitroplantas de calibre mediano y grande. Se destaca, además, que la aplicación de KlamiC® a las plantas combinado con la estrategia de manejo agronómico (T3), de manera general, logró valores superiores a los tratamientos a los que se les aplicó la estrategia de manejo agronómico sin KlamiC® (T4), aunque sin diferencias significativas. (Tabla 4)

En los porcentajes de incremento de estos parámetros en relación a las vitroplantas del control absoluto, independientemente de los tratamientos, los mayores incrementos se obtuvieron en las vitroplantas de calibre pequeño, con un aumento significativo en la longitud foliar en los tratamientos donde se aplicó KlamiC® solo (T2) y combinado con la estrategia de manejo agronómico (T3), en 24 y 39 % respectivamente. La longitud de la raíz de las vitroplantas de todos los calibres, tuvo un incremento en todos los tratamientos entre 12 a 28 % respecto al control absoluto. Se destaca el tratamiento T2, con KlamiC®, que incrementó el diámetro del pseudotallo (5-19 %), la longitud de raíz (15-28 %) y la longitud foliar (10-24 %) en las vitroplantas de los tres calibres. (Figura 2)

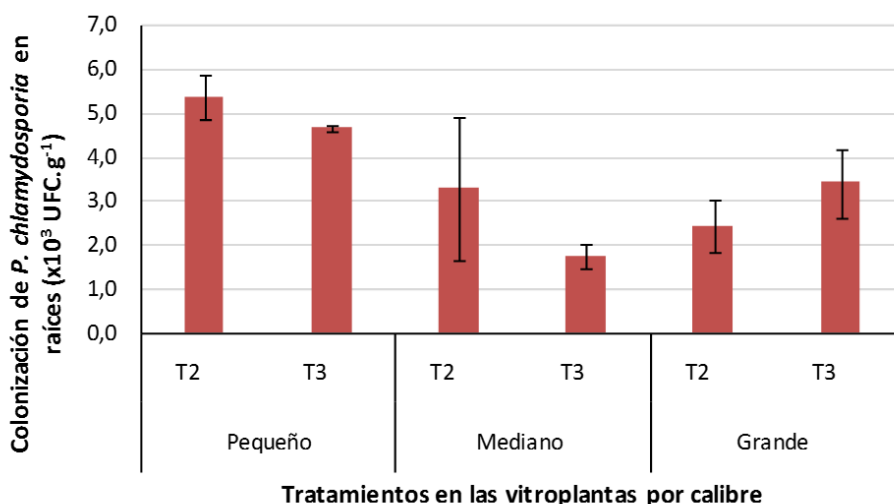


Figura 1. Colonización de *P. chlamydosporia* en las raíces de vitroplantas de plátano cultivar ‘CEMSA – ¾’ de diferentes calibres transcurridos 30 días en fase de aclimatización / *Colonization of P. chlamydosporia* in roots on plantain vitroplants of different size, cultivar ‘CEMSA – ¾’, at 30 days in the acclimatization phase.

Tabla 4. Parámetros del crecimiento de vitroplantas de plátano cultivar ‘CEMSA – ¾’ de diferentes calibres a los 30 días en fase de aclimatización / *Growth parameters of different size plantain vitroplants, cultivar ‘CEMSA – ¾’, after 30 days at the acclimatization phase.*

Tratam	Calibre Pequeño			Calibre Mediano			Calibre Grande		
	DPt (mm)	LF (cm)	LR (cm)	DPt (mm)	LF (cm)	LR (cm)	DPt (mm)	LF (cm)	LR (cm)
T1	6,67 b	7,72 b	17,23b	8,32 b	10,37ab	16,26 a	8,15b	8,50b	16,82b
T2	7,92a	9,58ab	19,97ab	8,81 a	11,47a	19,08 a	8,88a	10,22a	21,47a
T3	7,85a	10,73a	20,75a	8,11bc	10,58ab	18,89 a	8,27b	8,71b	18,99ab
T4	6,82b	8,9ab	19,57ab	7,77c	9,65b	19,30 a	8,25b	7,83b	18,88ab
ES	0,26	0,48	0,66	0,19	0,35	0,61	0,17	0,43	0,78
CV	19,25	37,73	30,73	10,07	29,94	33,19	13,74	19,31	32,18

Tratam: Tratamientos; DPt: diámetro del pseudotallo; LF: longitud foliar (altura de la planta); LR: longitud de la raíz; ES: error estándar; CV: coeficiente de variación. Medias con letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

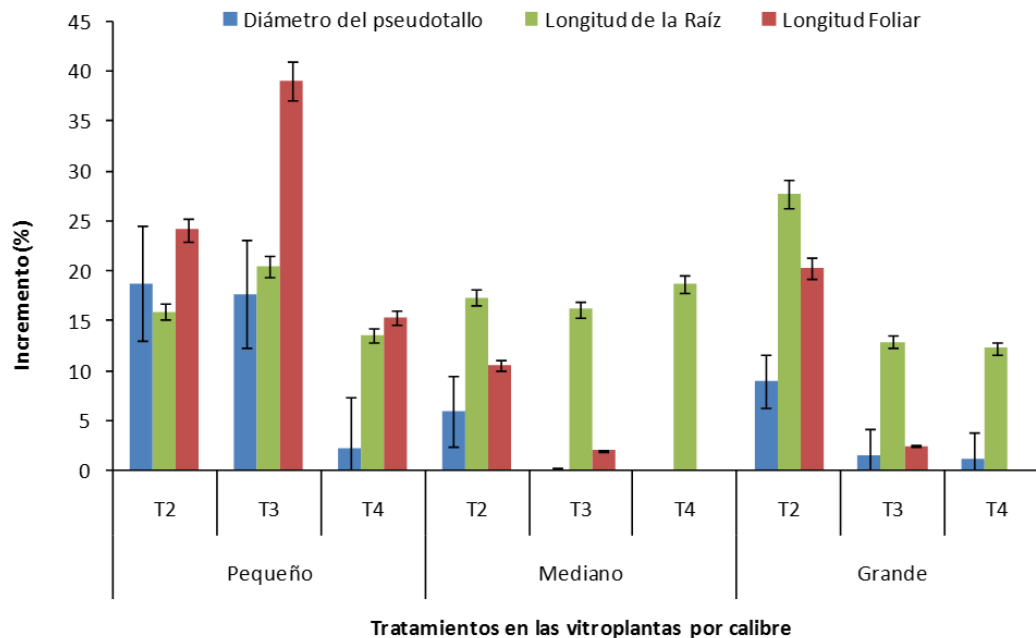


Figura 2. Porcentajes de incremento en el diámetro del pseudotallo, longitud de raíz y longitud foliar de vitroplantas de plátano cultivar ‘CEMSA – ¾’ de diferentes calibres a los 30 días en fase de aclimatización / *Percent of increment in the pseudo-stem diameter, root length and plant length of different size plantain vitroplants, cultivar ‘CEMSA – ¾’, after 30 days at the acclimatization phase.*

Respecto a las masas fresca foliar y radical de las vitroplantas de plátano ‘CEMSA – ¾’ de calibre pequeño a los 30 días, se observó que el tratamiento con KlamiC® y la estrategia de manejo agronómico (T3) logró los mayores valores, con diferencias significativas al resto de los tratamientos. Mientras que, en las vitroplantas de calibre mediano, los mayores valores se obtuvieron en el tratamiento T2 con dos aplicaciones KlamiC®, aunque sin diferencias significativas en la masa fresca foliar respecto a

los tratamientos T1 (control) y T3. En las vitroplantas de calibre grande, los mayores valores de la masa fresca foliar se correspondieron con el tratamiento de KlamiC® con dos aplicaciones (T2); no hubo diferencias significativas entre los tratamientos respecto a la masa fresca radical. (Tabla 5)

El porcentaje de incremento de estos parámetros logró los mayores valores para las vitroplantas de plátano de calibre pequeño donde se destacaron los tratamientos T2 y T3 (KlamiC®

independiente y KlamiC® + la estrategia de manejo agronómico), correspondiéndose con los resultados anteriores. El tratamiento T2 con dos aplicaciones de KlamiC® (3 y 20 DDT) logró incrementos en la masa fresca foliar y radical respecto al control absoluto, en vitroplantas de los tres tipos de calibre, a diferencia de los otros tratamientos que tuvieron una respuesta variable en vitroplantas de calibre mediano y grande. (Figura 3)

Los resultados obtenidos en la estimulación de diferentes parámetros del crecimiento de las vitroplantas de plátano cultivar ‘CEMSA – ¾’, inoculadas con la cepa IMI SD 187, coinciden con resultados anteriores informados por Hernández *et al.* (16) en vitroplantas de diferentes cultivares de plátanos y bananos. Otros autores informaron la acción bioestimulante de esta cepa en plantas de tomate y banano, lo que puede estar relacionado con su habilidad de

Tabla 5. Parámetros del crecimiento masa fresca foliar y radical de vitroplantas de plátano cultivar ‘CEMSA – ¾’ de diferentes calibres a los 30 días en fase de aclimatización. / *Growth parameters, plant fresh weight and root fresh weight of different size plantain vitroplants, cultivar ‘CEMSA – ¾’, after 30 days at the acclimatization phase.*

Tratamientos	Calibre Pequeño		Calibre Mediano		Calibre Grande	
	MFF (g)	MFR (g)	MFF (g)	MFR (g)	MFF (g)	MFR (g)
T1	2,37 c	1,27 d	3,42 a	1,72 b	3,69 b	2,15 a
T2	2,93 b	1,81 b	3,59 a	2,09 a	4,72 a	2,46 a
T3	3,61 a	2,11 a	3,51 a	1,65 b	3,55 b	2,31 a
T4	2,90 b	1,55 c	3,03 b	1,75 b	3,37 b	2,15 a
ES	0,16	0,13	0,16	0,13	0,25	0,06
CV	28,49	27,7	19,83	28,03	33,2	33,04

MFF: masa fresca foliar; MFR: masa fresca de la raíz más el cormo; ES: error estándar; CV: coeficiente de variación. Medias con letras distintas en la misma columna, indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

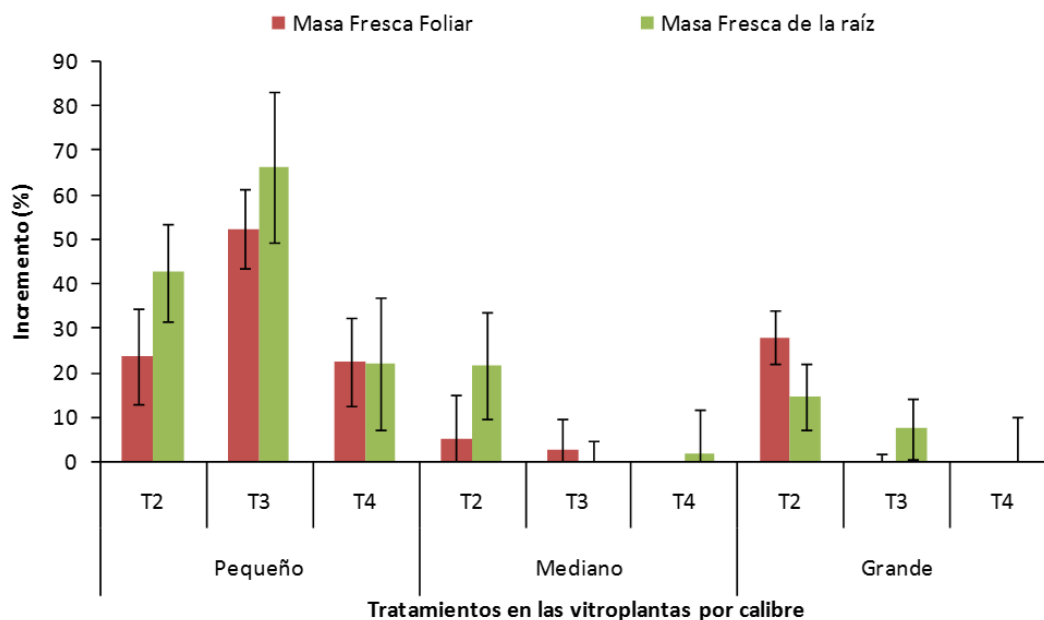


Figura 3. Porcentajes de incremento en la masa fresca foliar y radical de vitroplantas de plátano cultivar ‘CEMSA – ¾’ de diferentes calibres a los 30 días en fase de aclimatización/ *Percent of increment in the plant fresh weight and root fresh weight of different size plantain vitroplants, cultivar ‘CEMSA – ¾’, after 30 days at the acclimatization phase.*

colonización endofítica y la capacidad para inducir la biosíntesis de fitohormonas como el ácido indolacético (AIA) o incrementar la captación de nutrientes mediante la producción de fosfatasas y ácidos orgánicos (8, 25).

El tratamiento fitosanitario a las vitroplantas con los agroquímicos evaluados no afectó significativamente la colonización de *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) en las raíces de las vitroplantas de plátano cultivar 'CEMSA - 3/4' durante la etapa de aclimatización. La aplicación de KlamiC® a los 3 y 20 DDT, logró una adecuada colonización, similar a los resultados de Hernández *et al.* (16). Es importante tener en cuenta los resultados de la compatibilidad *in vitro*, donde Cuproflow resultó muy tóxico a *P. chlamydosporia*, cuando se expuso directamente a este producto, lo que sugiere que ambos productos no deberían estar en contacto directo; sin embargo, cuando se aplicó por aspersión al follaje de las vitroplantas dentro del programa de aplicaciones realizado en el segundo ensayo, el hongo no fue afectado significativamente.

La aplicación de *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) y productos agroquímicos, como parte de la estrategia de manejo agronómico durante la aclimatización de las vitroplantas de plátano, puede incrementar la eficiencia al combinarlos. Esto coincide con lo indicado por Hidalgo-Díaz y Kerry (17). De esta forma, la incorporación de hongos agentes de control biológico endófitos al sistema radical de las vitroplantas pudiera disminuir las dosis de partículas de síntesis química, lo que favorece la preservación de los enemigos naturales de las plagas y minimizan el impacto en el medio ambiente (26) y, a la vez, puede contribuir a la protección temprana del material de siembra (27).

De forma general, los resultados demuestran la capacidad de la cepa IMI SD 187 de *P. chlamydosporia* para desarrollarse bajo el efecto de ciertos productos de origen natural y químico durante la adaptación de vitroplantas de plátano. La habilidad de esta cepa de asociarse a las raíces de las vitroplantas y beneficiar su desarrollo, fundamentalmente en las vitroplantas de calibre pequeño, tiene una ventaja práctica al posibilitar una mayor calidad y uniformidad del material de plantación y, por otra parte, facilita la protección de las plantas frente a nematodos. Estas

condiciones hacen a este hongo un buen candidato para el biomanejo de nematodos en cultivos de plátanos.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. C. Ileana Miranda Cabrera, por su contribución en la revisión de los diseños de los experimentos y la realización de los análisis estadísticos. A la técnico de laboratorio Nerdy Acosta Izquierdo por su valiosa participación en las evaluaciones. Los autores agradecen al Proyecto "Microbial uptakes for sustainable management of major banana pest and diseases" (MUSA), financiado por el Programa de Investigación e Innovación de la Unión Europea Horizonte 2020, en virtud del acuerdo de subvención 727624, por la posibilidad de reunir el material necesario y realizar los análisis correspondientes para la escritura de este artículo.

REFERENCIAS

1. Ramírez-Villalobos M, García E, Lindorf L. Análisis de patrones morfológicos y anatómicos en la embriogénesis somática del banano Williams (AAA). Rev. Colomb. Biotecnol. 2012; XIV (2): 41-52.
2. Martínez E, González M. Instructivo técnico del cultivo del plátano. Asociación Cubana de Técnicos Agrícolas y Forestales, Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales. Biblioteca ACTAF. 2da edición. 2008; 23 pp.
3. Salazar J, Arroyave NA, Aristizábal M. Evaluación de métodos de manejo de nematodos fitoparásitos en plátano (*Musa AAB*) Dominico Hartón. Agronomía. 2012; 20(1): 51-63, ISSN 0568-3076.
4. Pocasangre L, Schuster P, Sikora RA, Vilich V. Survey of banana endophytic fungi from Central America and screening for biological control of *Radopholus similis*. En: Blanke M., Pohlman J. (eds). ISHS Conference on Fruit Production in the Tropics and Subtropics. DE. Bonn. 2000; 283-289.
5. Marín D, Sutton T, Barker K. Diseminación del banano en Latinoamérica y el Caribe y su relación con la presencia de *Radopholus similis*. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. 2002; 66: 62-75.

6. Scaranari C, Martins PA, Mazzafera P. Shading and periods of acclimatization of micropropagated banana plantlets cv. Grande Naine. *Sci. Agric.* 2009; 66: 331-337.
7. Blomme G, Swennen R, Tenkouano A, Turyagyenda FL, Soka G, Ortiz R. Comparative study of shoot and root development in micropropagated and sucker-derived banana and plantain (*Musa* spp.) plants. *J. App Biosci.* 2008; 8: 334-342.
8. Zavala-Gonzalez EA, Escudero N, Lopez-Moya F, Aranda-Martinez A, Exposito A, Ricaño-Rodríguez J, Naranjo-Ortiz MA, Ramírez-Lepe M, Lopez-Llorca LV. Some isolates of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* promote root growth and reduce flowering time of tomato. *Annals of Applied Biology.* 2015; 166:472-483.
9. Dallemole-Giaretta R, Freitas LG, Lopes EA, Silva MCSM, Kasuya CM, Ferraz S. *Pochonia chlamydosporia* promotes the growth of tomato and lettuce plants. *Acta Scientiarum Agronomy.* 2015; 37:417-423.
10. Manzanilla-López RH, Esteves I, Finetti SMM, Hirsch PR, Ward E, Devonshire J, et al. *Pochonia chlamydosporia*: Advances and Challenges to Improve its Performance as a Biological Control Agent of Sedentary Endoparasitic Nematodes. *Jour. Nematol.* 2013; 45(1): 1-7
11. Larriba E, Jaime MDLA, Nislow C, Martín NJ, López-Llorca LV. Endophytic colonization of barley (*Hordeum vulgare*) roots by the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* reveals plant growth promotion and a general defense and stress transcriptomic response. *Journal of Plant Research.* 2015; 128(4): 665-678, ISSN 0918-9440, 1618-0860, DOI: 10.1007/s10265-015-0731-x.
12. Maciá-Vicente JG, Jansson HB, Mendgen K, López-Llorca LV. Colonization of barley roots by endophytic fungi and their reduction of take-all caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Canadian Journal of Microbiology.* 2008; 54(8): 600-609, ISSN 0008-4166, 1480-3275, DOI: 10.1139/W08-047.
13. Ceiro WG. Aportes a las bases científico-técnicas para el establecimiento de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* (Kamyschko ex Barron y Onions) Zare y Gams en el manejo de *Meloidogyne* spp. en Sistemas de Producción Protegidos de Hortaliza. [Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas]. Universidad Central de Las Villas Marta Abreu, Cuba. 2015; pp.98.
14. Ciancio A, Colagiero M, Rosso Pentimone LC, López-Cepero J. A metagenomic study of banana nematode antagonists in Canary Islands. Symposium of chemical and integrated management of nematodes. 51th ONTA annual meeting, Costa Rica. *Nematropica.* 2019: 330-331.
15. Lozano-Soria A, Picciotti U, López-Moya F, López-Cepero J, Porcelli F, Lopez-Llorca LV. Volatile Organic Compounds from Entomopathogenic and Nematophagous Fungi, Repel Banana Black Weevil (*Cosmopolites sordidus*). *Insects.* 2020; 11(509), DOI: 10.3390/insects11080509.
16. Hernández MA, Arévalo J, Marrero D, Hidalgo-Díaz L. Efecto de KlamiC® en la estimulación del crecimiento de vitroplantas de plátanos y bananos. *Cultivos Tropicales.* 2016; 37(4): 168-172, ISSN 1819-4087, 0258-5936, DOI: 10.13140/RG.2.2.25696.69120.
17. Hidalgo-Díaz L, Kerry BR. Integration of biological control with other methods of nematode management. En: Ciancio A. y Mukerji K.G. (Eds). *Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematode.* 2008: 29-49.
18. Ceiro WG, Arévalo J, Hidalgo-Díaz L. Efectos de plaguicidas y bioestimulantes vegetales sobre la germinación de clamidosporas y el desarrollo *in vitro* del hongo nematófago *Pochonia chlamydosporia*. *Revista Iberoamericana de Micología.* 2015; 32(4): 277-280.
19. Clark RA, Casagrande RA, Wallace DB. Influence of pesticides on *Beauveria bassiana*, a pathogen of the Colorado potato beetle. *Environ. Entomol.* 1982; 11: 67-70.
20. Ministerio de la Agricultura (MINAG). Registro Central de Plaguicidas. Lista Oficial de Plaguicidas autorizados 2011-2012. República de Cuba. 2012: 421.

21. Alves SB, Moino JA, Almeida JEM. Productos fitosanitarios e entomopatógenos. Alves S.B. (ed.). Controle microbiano de insectos. 2 ed. Piracicaba: FEALQ. 1998: 217-238.
22. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar/>
23. Kerry BR, Bourne JM. A Manual for Research on *Verticillium chlamydosporium*: A Potential Biological Control Agent for Root-Knot Nematodes Ed. International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants, West Palaeartic Regional Section. 2002; 84 p. ISBN 92-9067-138-2, OCLC: 52572472.
24. Puertas AL, de la Noval B, Martínez B, Miranda I, Fernández F, Hidalgo-Díaz L. Interacción de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* con *Rhizobium* sp., *Trichoderma harzianum* y *Glomus clarum* en el control de *Meloidogyne incognita*. Rev. Protección Veg. 2006; 21(2): 80-89.
25. Gouveia AS, Monteiro TSA, Valadares SV, Sufiated BL, de Freitas LG, Ramosa HJO, et al. Understanding How *Pochonia chlamydosporia* Increases Phosphorus Availability. Geomicrobiology Journal. 2019; 36(8): 747-751, DOI: 10.1080/01490451.2019.1616857.
26. Ambethgar V. Potential of entomopathogenic fungi in insecticide resistance management (IRM): A review. Journal of Biopesticides. 2009; 2: 177-193.
27. Barbosa RT, Monteiro TSA, Coutinho RR, Silva JG, Freitas LG. *Pochonia chlamydosporia* no controle do nematoide de galhas em bananeira. Nematropica. 2019; 49: 99-106.

Declaración de conflicto de intereses: Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribución de los autores: **Jersys Arévalo Ortega.** Contribuyó al diseño y ejecución de los experimentos, participó en el desarrollo de las evaluaciones. Realizó contribuciones en el análisis e interpretación de los datos. Participó en el análisis, la revisión y redacción del artículo. **Miguel Ángel Hernández Socorro.** Contribuyó con la búsqueda de información para el diseño de la investigación. Participó en la planificación, ejecución y evaluación de experimentos y la escritura del artículo. **Rolisbel Alfonso de la Cruz.** Colaboró en la investigación, contribuyó al desarrollo de los ensayos y evaluación para la obtención de los resultados. Estructuró las bases de datos en Excel y la búsqueda de Referencias Bibliográficas relacionadas con el tema para la discusión de los resultados. **Nivian Montes de Oca Martínez.** Contribuyó en la redacción del borrador del trabajo e interpretación de resultados y la revisión crítica de su contenido. **Leopoldo Hidalgo Díaz.** Participó en el diseño de la investigación, en la búsqueda de información. Contribuyó en el análisis, interpretación y discusión de resultados, la actualización de Referencias Bibliográficas y la escritura final de la publicación.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)