Artículo Original

Efecto de la aplicación conjunta de *Pochonia* chlamydosporia (Goddard) Zare y Gams y *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg en vitroplantas de banano (*Musa* sp.)



https://eqrcode.co/a/n6Vzoi

Effect of the combined application of *Pochonia*chlamydosporia (Goddard) Zare & Gams AND
Trichoderma asperellum Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg
on banana vitroplants (*Musa* sp.)

[®]Jersys Arévalo Ortega^{1*}, [®]Benedicto Martínez Coca¹, [®]Miguel A. Hernández Socorro¹, [®]Rolisbel Alfonso de la Cruz¹, [®]Danay Ynfante 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 trabajo fue evaluar la combinación *in vitro* y *ex vitro* de *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) y *Trichoderma asperellum* (*Ta*. 13) en la aclimatización de vitroplantas del banano de cocción del tipo Bluggoe (AABB) 'FHIA-03'. Primeramente, se determinó la compatibilidad *in vitro*, mediante la competencia por espacio (crecimiento radial) y el porcentaje de inhibición del crecimiento a las 24, 48 y 120 h en Cultivo Dual. Posteriormente, se evaluó la aplicación de estos hongos de manera independiente o en combinación, durante la fase de adaptación *ex vitro* de vitroplantas, y un control sin aplicación; en total 12 tratamientos. Las vitroplantas se plantaron en bandejas de polipropileno de 70 alvéolos con sustrato: suelo ferralítico rojo lixiviado y cachaza (1:3 *v/v*). *P. chlamydosporia* cepa IMI SD 187 (Bionematicida KlamiC®) se aplicó con *T. asperellum* cepa *Ta*.13 (Biofungicida SevetriC) mediante inmersión de raíces previo al trasplante, o por aspersión a los 3 y 20 días posteriores al trasplante. Las bandejas se distribuyeron al azar en el área de aclimatización. A los 30 días, se evaluó el crecimiento de las vitroplantas y la colonización de *P. chlamydosporia* en el sustrato y las raíces. *In vitro*, *T. asperellum* creció más rápido que *P. chlamydosporia*, pero no hubo contacto hifal directo entre ambos hongos. *P. chlamydosporia* colonizó el sistema radical y la rizosfera de las vitroplantas cuando se aplicó de forma independiente y en combinación con *T. asperellum* y ambos hongos promovieron el crecimiento vegetal. Los resultados indican que *P. chlamydosporia* y *T. asperellum* son buenos candidatos para estrategias de biomanejo en banano.

Palabras clave: biomanejo, control biológico, hongos endófitos, promoción del crecimiento vegetal.

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the *in vitro* and *ex vitro* combination of *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) and *Trichoderma asperellum* (*Ta.* 13) in the acclimatization of banana vitroplants Bluggoe type (AABB) 'FHIA-03'. Firstly, the *in vitro* compatibility, through space competence (radial growth) and growth inhibition percentage at 24, 48, and 120 h, was assessed by the dual culture technique. In second place, it was evaluated the application of these fungi separately or in combination during the *ex vitro* adaptation phase of the vitroplants. In total, 12 treatments were included, the treaments with each fungus and the control without fungus. The vitroplants were transplanted into polypropylene trays of 70 alveolus containing red ferralitic lixiviated soil and organic amendment (1:3 *v/v*) as substrate. *P. chlamydosporia* strain IMI SD 187 (KlamiC® Bionematicide) was applied with *T. asperellum* strain *Ta.*13 (SevetriC Biofungicide) by submerging the root before transplanting or by spraying the plant at 3 and 20 days post planting. The trays were randomly arranged in the adaptation area. At 30 days, the plant vegetative growth and the substrate and root colonization by *P. chlamydosporia* were assessed. *In vitro*, *T. asperellum* grew faster than *P. chlamydosporia*, but there was no direct hyphal contact between them. *P. chlamydosporia* colonized the root system and the rhizosphere of banana vitroplants when this fungus was applied separately or in combination with *T. asperellum*; both fungi promoted vitroplant growth. The results show that *P. chlamydosporia* and *T. asperellum* are good candidates for banana biomanagement strategies.

Key words: biomanagement, biological control, endophytic fungi, plant growth promotion.

INTRODUCCIÓN

Los plátanos y bananos constituyen plantas monocotiledóneas pertenecientes a la familia *Musaceae*. Estos cultivos son primordiales para la seguridad alimentaria en el mundo, ya que están considerados dentro de las principales fuentes de alimento (1). En Cuba, representan un componente importante de la dieta y tienen una elevada prioridad dentro del programa alimentario nacional (2).

Recibido: 08/12/2020 Aceptado: 28/01/2021

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

Entre las plagas más importantes que afectan las producciones se encuentran el picudo negro (*Cosmopolites sordidus*), los hongos patógenos de plantas (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* y *Mycosphaerella* spp.) y los nematodos fitoparásitos, capaces de ocasionar enfermedades complejas y pérdidas económicas significativas en el cultivo (3).

Tradicionalmente, el control químico es el método de control más usado; sin embargo, se conocen los efectos adversos de estos productos al ambiente y la salud humana (4). El uso de vitroplantas, como material de plantación, constituye una alternativa de protección al cultivo en plantaciones comerciales y se investiga el uso de agentes de control biológico endófitos y los microorganismos presentes en la rizosfera de plantas de plátanos y bananos (*Musa* spp.), como parte de las posibles estrategias de manejo sostenible, por su potencial impacto beneficioso (5, 6). Esto se justifica por la amplia diversidad de hongos endófitos que colonizan las plantas de banano en ambientes naturales (7).

Según investigaciones sobre poblaciones de hongos endófitos presentes en raíces de plátanos y bananos, *Trichoderma* es uno de los géneros más abundantes (8, 9). Este hongo habita comúnmente los suelos y la rizosfera de las plantas. Se utiliza como biofungicida de amplio espectro, ya que puede limitar el crecimiento de otros hongos del suelo y estimula el crecimiento vegetal, debido a la formación de sideróforos quelatantes de hierro, y la presencia de hormonas reguladoras del crecimiento, así como por la acción antagónica frente a microorganismos patógenos. Además, estimula los mecanismos de defensa de las plantas (10, 11) y, algunas cepas, mostraron efecto frente a nematodos fitoparásitos (12).

El hongo nematófago *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams se considera, por sus potencialidades, como agente de control microbiano de nematodos (13). Estudios recientes informaron que *P. chlamydosporia* es un componente natural de la rizosfera de banano (14), y se destaca por su habilidad colonizadora de suelos, sustratos y la rizosfera (13, 15). Este hongo es capaz de colonizar endofiticamente una gran variedad de cultivos como tomate, cebada y frijol (16, 17, 18), de forma tal que mejora el desarrollo y las defensas de las plantas (19).

La colonización endofítica de *P. chlamydosporia* en las raíces confiere ventajas adicionales a la planta hospedante, como la estimulación del crecimiento y desarrollo, debido a la producción de metabolitos secundarios que intervienen en el crecimiento de las plantas (20) o por la potenciación en la captación de nutrientes (21). En algunos casos esta promoción de crecimiento resulta como consecuencia de la reducción de patógenos radicales y nematodos fitoparásitos (6, 17).

Hernández et al. (22) 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. La aplicación de este hongo provocó un incremento significativo de los indicadores vegetativos del crecimiento de las vitroplantas, como consecuencia de una mayor biomasa del sistema radical y foliar.

La acción de este hongo se potencia cuando se combina con otros productos compatibles para el manejo de nematodos (23). Sin embrago, su establecimiento y actividad en la rizosfera están influenciadas por factores abióticos y bióticos (15, 24). No obstante, según Kerry y Hirsch (25), la relación filogenética existente entre hongos nativos del suelo y *P. chlamydosporia*, por ocupar un mismo nicho ecológico, interactuar por el hábitat, las formas de alimentación y los hospedantes, puede provocar estrés en la planta.

El Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) en Cuba, dispone de bioproductos desarrollados comercialmente, a partir de cepas nativas seleccionadas de P. chlamydosporia y T. asperellum. KlamiC®, bionematicida formulado con la cepa IMI SD 187 de P. chlamydosporia y SevetriC, bioplaguicida a base de T. asperellum cepa Ta.13, ambos productos con demostrada efectividad en el manejo de plagas en sistemas de producción agrícola (26, 27). Sin embargo, existen pocos trabajos sobre las potencialidades como agentes de control biológico endófitos en cultivos perennes como plátanos y bananos. Por las ventajas de su uso, existe un marcado interés en la incorporación de estos bioproductos, de forma conjunta, en el manejo integrado de plagas, en diversos cultivos de importancia económica, entre ellos el banano.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la combinación *in vitro* y *ex vitro* de *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) y *Trichoderma asperellum* (*Ta.* 13) en la aclimatización de vitroplantas del banano de cocción del tipo Bluggoe (AABB) 'FHIA-03'.

MATERIALES Y MÉTODOS

Compatibilidad de *Pochonia chlamydosporia* (IMI SD 187) y *Trichoderma asperellum* cepa *Ta.* 13 in vitro

Se empleó la técnica de Cultivo Dual (28) en placas Petri (Ø=90 mm), con medio de cultivo natural Agar Papa y Dextrosa, para la compatibilidad *in vitro* de los hongos endófitos facultativos *P. chlamydosporia* var. *catenulata* cepa IMI SD 187 (i.a. bionematicida KlamiC®) y *T. asperellum* cepa *Ta*.13 (i.a. bioplaguicida SevetriC®).

A partir de una colonia pura de cada cepa, se sembró un disco (Ø= 3 mm) en el extremo de cada placa Petri (Ø=80 mm), en sentidos opuestos, a una distancia de 1 cm de la periferia. Se hicieron cinco réplicas por tratamiento, consistentes en la siembra de ambos hongos juntos en las placas o de forma independiente (controles). Las placas se colocaron en una incubadora

(Friocell) a 28±1°C en oscuridad constante, por siete días. Se evaluó la antibiosis y la competencia por espacio de las colonias de ambos hongos a las 24 h, 48 h y 120 h, teniendo en cuenta el crecimiento radial lineal (mm) determinado con una regla milimetrada. La antibiosis se determinó al comparar el crecimiento del hongo en el Cultivo Dual, con el crecimiento en el control (27). Se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) que ejerció un hongo sobre el otro, en cada momento de evaluación, con el uso de la fórmula de Samaniego *et al.* (30):

PICR = (R1-R2)/R1x100

Donde, R1 es el crecimiento radial del hongo en el tratamiento control y R2 es el crecimiento radial del hongo en el Cultivo Dual.

Se realizó un análisis de varianza simple y las medias se compararon a través de la Prueba de LSD Fisher ($p \le 0.05$), mediante el paquete estadístico InfoStat versión 2017e (31).

Aplicación de KlamiC[®] [*P. chlamydosporia* (IMI SD 187)] y SevetriC[®] [*T. asperellum* (*Ta.* 13)] en vitroplantas de banano cultivar 'FHIA-03' (AABB)

Los productos KlamiC® y SevetriC® del CENSA se aplicaron de forma independiente y combinados, en la fase de aclimatización de las vitroplantas de banano cv. 'FHIA-03'.

En la suspensión de esporas de *T. asperellum*, obtenida a partir de 20 g del producto SevetriC[®] en un litro de agua, se sumergieron las raíces de las vitroplantas por cinco minutos, antes de la siembra de estas en las bandejas.

Para la obtención de la suspensión de esporas de *P. chlamydosporia* (IMI SD 187), se agitaron manualmente, durante un minuto, 15,6 g de KlamiC[®] en un

litro de agua, para desprender las clamidosporas del sustrato. Posteriormente, la suspensión se filtró por una triple gasa y se vertió dentro de una mochila para aspersión de 16 L. Se realizó la aplicación por inmersión de las raíces en la suspensión de clamidosporas durante cinco minutos, previo al trasplante de las vitroplantas y, por aspersión, a los 3 y 20 días después del trasplante, donde a cada vitroplanta se les aplicó 6 ml, equivalentes a 5,6 x 10⁵ clamidosporas. vitroplanta-1 (22).

En total se conformaron 12 tratamientos, incluyendo un control absoluto sin la aplicación de los hongos endófitos. (Tabla 1)

Se utilizaron vitroplantas al concluir la Fase III; como promedio, tenían 2,88 cm en altura de la planta, 3,12 mm de diámetro del pseudotallo y 2,6 hojas activas. Las vitroplantas se sembraron en bandejas de polipropileno endurecido de 47 x 69 cm con 70 alvéolos pequeños de 5 x 5 x 5 cm, a razón de una planta por alvéolo, contentivo cada uno de 65 g de sustrato: suelo Ferralítico Rojo lixiviado (Nitisol Ródico Eútrico) y cachaza (1:3 v/v). La cachaza provino del Complejo Agroindustrial "Boris Luis Santa Coloma", municipio Madruga, provincia Mayabeque, Cuba. Los experimentos se realizaron por triplicado (tres repeticiones por tratamiento). Las bandejas se ubicaron en el área de aclimatización con un diseño experimental de bloques al azar.

La adaptación de las vitroplantas para alcanzar la fase IV de aclimatización o endurecimiento *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 sombreo de color negro, con 70 % de la intensidad luminosa, donde permanecieron durante 30 días. En esta fase, se aplicaron dos riegos aéreos por día, a través de un sistema de microaspersores para

Tabla 1. Tratamientos empleados en el experimento durante la fase de aclimatización o endurecimiento *ex vitro* de las vitroplantas de banano cultivar 'FHIA-03' (AABB) / Experimental treatments in the acclimatization or *ex vitro* phase of vitroplants of the banana cultivar 'FHIA-03' (AABB)

No.	Descripción de los tratamientos					
1	Control (Sin hongo)					
2	KlamiC [®] 1 aplicación (3 DDT)					
3	KlamiC [®] 2 aplicaciones (3 y 20 DDT)					
4	Trichoderma (inmersión de raíces 5 min)					
5	Trichoderma (inmersión de raíces 5 min) + KlamiC® (3 DDT)					
6	Trichoderma en inmersión de raíces (5 min) + KlamiC® (3 y 20 DDT)					
7	Trichoderma + KlamiC® (inmersión de raíces 5 min)					
8	Trichoderma + KlamiC [®] (inmersión de raíces 5 min) + KlamiC [®] (3 DDT)					
9	Trichoderma + KlamiC® (inmersión de raíces 5 min) + KlamiC® (3 y 20 DDT)					
10	KlamiC® (inmersión de raíces 5 min)					
11	KlamiC [®] (inmersión de raíces 5 min) + KlamiC [®] (3 DDT)					
12	KlamiC [®] (inmersión de raíces 5 min) + KlamiC [®] (3 y 20 DDT)					

DDT: Días Después del Trasplante

mantener 80 % de la capacidad de campo en el sustrato y humedad relativa ambiental entre 85-95 %.

A los 30 días, se efectuaron mediciones de las variables del crecimiento vegetativo de las plantas. Para las evaluaciones se tomaron 25 plantas de cada tratamiento al azar y se determinaron la longitud de la planta (cm), el diámetro del pseudotallo (mm), el número de hojas activas, la masa fresca y seca foliar (g), la masa fresca y seca radical (g), según describieron Hernández *et al.* (22). Adicionalmente, se calculó el porcentaje de incremento de la media de cada indicador respecto a la media en el tratamiento control.

Se evaluó la colonización de *P. chlamydosporia* en el sustrato y las raíces (UFC.g⁻¹) mediante el método de dilución y siembra en medio semiselectivo y el conteo del número de UFC por gramo de muestra (32). Además, se determinó el porcentaje de colonización endofítica del hongo en las raíces, mediante la desinfección superficial con hipoclorito de sodio al 1% y siembra en medio semiselectivo (21).

Los resultados de colonización de *P. chlamydosporia* en suelo y raíz (UFC suelo y UFC raíces) se transformaron previamente en Log (x+1) y los porcentajes de colonización endofítica en las raíces se transformaron en Arcoseno $\sqrt{(x/100)}$. Los datos de cada variable morfométrica se analizaron mediante análisis de varianza simple y se compararon los tratamientos mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan con un nivel de significación $p \le 0,05$. Se empleó el paquete estadístico InfoStat versión 2017e (31).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Compatibilidad de *Pochonia chlamydosporia* (IMI SD 187) y *Trichoderma asperellum* cepa *Ta.* 13 in vitro

La cepa *Ta*.13 de *T. asperellum*, mostró un crecimiento más rápido que la cepa IMI SD 187 de *P. chlamydosporia*. Sin embargo, no se observó interacción hifal en el Cultivo Dual después de 120 h de crecimiento a 28±1°C, momento en que el control de *T. asperellum* cubrió completamente el área de la placa. (Fig. 1, 2)

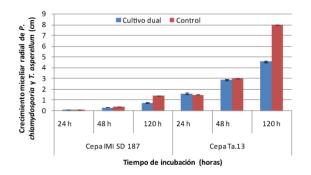


Fig. 1. Crecimiento radial de las colonias de *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) y *T. asperellum* (*Ta*.13) en Cultivo Dual/Colony radial growth of *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) and *T. asperellum* (*Ta*. 13) in the dual culture



Fig. 2. Cultivo Dual de *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) - *T. asperellum* (*Ta.* 13) (A); *T. asperellum* (*Ta.* 13) Control (B) y *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) Control (C) en medio natural Agar Papa y Dextrosa a las 120 h, a 28±1°C / Dual culture of *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) - *T. asperellum* (*Ta.* 13) (A), *T. asperellum* (*Ta.* 13) Control (B) and *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) Control (C) on the natural media Potato Dextrose Agar at 120 h, at 28±1°C

La inhibición del crecimiento radial se evidenció a partir de las 48 horas para ambos hongos, pero con mayor efecto sobre la cepa IMI SD 187 de *P. chlamydosporia*. Sin embargo, a los cinco días la inhibición de crecimiento de un hongo respecto a la del otro, mostró valores similares, con más de 40 % de inhibición. (Fig. 3)

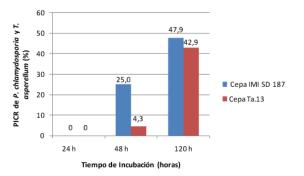


Fig. 3. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) y *T. asperellum* (*Ta.* 13) en Cultivo Dual / Percentage of radial growth inhibition (PICR) of *P. chlamydosporia* (IMI SD 187) and *T. asperellum* (*Ta.* 13) in the dual culture

Las cepas P. chlamydosporia (IMI SD 187) y T. asperellum (Ta.13) fueron capaces de crecer en Cultivo Dual en el medio agarizado, sin producirse el contacto directo entre ellas; es decir, cada una ocupó su propio espacio (Fig. 2). Este efecto pudo estar relacionado, fundamentalmente, a un mecanismo de antibiosis propio de ambas especies en interacción. El hongo biocontrolador T. asperellum es capaz de inhibir el crecimiento de otros hongos mediante mecanismos de acción directa y entre estos la competencia (por espacio y nutrientes), el micoparasitismo y la antibiosis (29). Esta acción de las especies de Trichoderma, previo al contacto hifal con otros hongos, se debe a la excreción de metabolitos volátiles y no volátiles, de diferentes grupos químicos, que poseen actividad fungistática y antibiótica (33).

P. chlamydosporia demostró en experimentos in vitro, que es capaz de inhibir el crecimiento de otros hongos patógenos radiculares como Fusarium

oxysporum Schlechtendahl emend. Snyder y Hansen y Rhizoctonia solani (Kühn). Este hongo modificó la tasa de crecimiento de varios hongos fitopatógenos en medio de cultivo agarizado y se observó la formación de halos alrededor de la colonia del hongo nematófago y la inhibición del patógeno a distancia (34). Estos resultados sugieren la síntesis y liberación de algún compuesto por parte de P. chlamydosporia, como indicaron Siddiqui y Shaukat (35), quienes obtuvieron un extracto de P. chlamydosporia en cultivo líquido, capaz de inhibir el crecimiento in vitro de Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid., F. oxysporum y Fusarium solani (Martius) Appel & Wollenweber emend. Snyder & Hansen.

Aplicación de KlamiC[®] [*P. chlamydosporia* (IMI SD 187)] y SevetriC[®] [*T. asperellum* (*Ta.* 13)] en vitroplantas de banano cultivar 'FHIA-03' (AABB)

Al concluir el periodo de aclimatización, a los 30 días, las vitroplantas mostraron el mayor crecimiento en los tratamientos 2 (con *P. chlamydosporia*) y 4 (*T. asperellum*), sin diferencias significativas con el tratamiento 5 (*Pchlamydosporia* + *T. asperellum*) y los tratamientos 3 y 11 (con dos aplicaciones de *P. chlamydosporia*), pero con diferencias significativas respecto al control y al resto de los tratamientos. Mientras que, las plantas de los tratamientos. Mientras que, las plantas de los tratamientos 2 y 3 con *P. chlamydosporia* y del tratamiento 4 con *T. asperellum* mostraron los mayores diámetros del pseudotallo, aunque sin diferencias significativas respecto al tratamiento 1 (control), ni a al tratamiento 5 (*P. chlamydosporia* + *T. asperellum*) o a los tratamientos 10, 11 y 12 (con *P. chlamydosporia*). (Tabla 2)

Al analizar el porcentaje de incremento de los tratamientos respecto al control, en relación a estas dos variables del crecimiento de las vitroplantas, se observó

que los tratamientos 2, 3 y 11 (con *P. chlamydosporia*), el tratamiento 4 con *T. asperellum* y el tratamiento 5 (*P. chlamydosporia* + *T. asperellum*) lograron un incremento entre 8,4 y 13,9 % en la altura de las plantas. Mientras que, los tratamientos 2 y 3 (con *P. chlamydosporia*) y 4 (con *T. asperellum*) lograron un incremento en el diámetro del pseudotallo entre 2,5 y 12 %, respecto al control. El resto de los tratamientos no tuvo efecto de incremento sobre estas variables. (Tabla 2)

El número de hojas activas estuvo entre 3,5 y 4,76 hojas. La media mayor del número de hojas de 4,76 se obtuvo en el tratamiento 2 (con una aplicación *P. chlamydosporia*), sin diferencias significativas con los tratamientos 3 con 4,61 (*P. chlamydosporia* 2 aplicaciones) y 5 con 4,33 (*P. chlamydosporia* + *T. asperellum*), pero sí respecto al control y al resto de los tratamientos.

En los parámetros de masa fresca y seca, tanto foliar como radical, de las vitroplantas de banano 'FHIA-03' donde se aplicaron los agentes biológicos, los mejores valores se obtuvieron en los tratamientos 2 y 3 (con P. chlamydosporia) y el tratamiento 4 (con T. asperellum), aunque no se observaron diferencias significativas respecto al control, solamente en la masa seca foliar en el tratamiento 3 (con 2 aplicaciones de P. chlamydosporia). Con relación al control, en los tratamientos 2 y 3 con una y dos aplicaciones de P. chlamydosporia, respectivamente, se observaron incrementos respecto al control, en la masa fresca foliar, masa seca foliar y en la masa seca radical, con los mayores porcentajes en el tratamiento 2 (una aplicación). Mientras que, en el tratamiento 4 con Trichoderma (una aplicación), se observó un incremento en la masa seca radical. En el resto de los tratamientos no se observó incremento. (Tabla 3)

Tabla 2. Medias y porcentaje de incremento de la longitud de la planta y el diámetro del pseudotallo de las vitroplantas de banano cv. 'FHIA-03' (AABB) a los 30 días en fase de aclimatización con *P. chlamydosporia* y *T. asperellum* / Means and increment percentage of plant length and pseudo stem diameter of banana vitroplants cv. 'FHIA-03' (AABB) in 30 days at acclimatization phase with *P. chlamydosporia* and *T. asperellum*

Tratamientos -	Longitud	de la planta	Diámetro del pseudotallo		
Trataimentos –	Media (cm) ± ES	Incremento(%)±ES	Media (mm) ± ES	Incremento (%) ± ES	
1	$3,98^{bcd} \pm 0,12$		$5,14^{ab} \pm 0,21$		
2	$4,48^a \pm 0,15$	$12,66 \pm 3,73$	$5,60^a \pm 0,14$	$8,95 \pm 2,81$	
3	$4,41^{ab} \pm 0,17$	$10,88 \pm 4,30$	$5,76^a \pm 0,23$	$12,08 \pm 4,49$	
4	$4,53^a \pm 0,14$	$13,90\pm 3,57$	$5,27^a \pm 0,21$	2,46± 1,41	
5	$4,38^{ab}\pm0,27$	$10,05 \pm 6,74$	$5{,}10^{ab}\pm0{,}33$	-	
6	$3,38^{e} \pm 0,13$	-	$4,\!47^{bc}\pm0,\!24$	-	
7	$3,\!85^{\text{cde}}\pm0,\!20$	-	$4,21^{\circ} \pm 0,27$	-	
8	$3,98^{bcd} \pm 0,15$	-	$4,18^{\circ} \pm 0,19$	-	
9	$3,38^{e} \pm 0, 0,11$	-	$4,05^{\circ} \pm 0,26$	-	
10	$3,93^{bcd} \pm 0,13$	-	$5,05^{ab} \pm 0,31$	-	
11	$4,\!26^{abc}\pm0,\!19$	$8,40 \pm 4,66$	$5{,}10^{ab}\pm0{,}18$	-	
12	$3,68^{de} \pm 3,68$	-	$5,11^{ab} \pm 0,22$	-	

ES error estándar. Medias con superíndice diferente, en una misma columna, son significativamente diferentes ($p \le 0.05$)

Tabla 3. Medias y porcentaje de incremento de los parámetros del crecimiento de las vitroplantas de banano cv. 'FHIA-03' (AABB) a los 30 días en fase de aclimatización con *P. chlamydosporia* y *T. asperellum* / Means and increment percentage of growth parameters of banana vitroplants cv. 'FHIA-03' (AABB) in 30 days at acclimatization phase with *P. chlamydosporia* and *T. asperellum*

	Masa fresca foliar		Masa seca foliar		Masa fresca de la raíz	Masa seca de la raíz	
Tratamientos	Media (g) ± ES	Incremento (%) ±ES	Media (g) ± ES	Incremento (%) ±ES	Media (g) ± ES	Media (g) ± ES	Incremen- to (%)±ES
1	$1,31^{abc} \pm 0,11$		$0.08^{bc} \pm 0.01$		$0.86^a \pm 0.06$	$0,06^{abcd}\pm0,00$	
2	$1,62^a \pm 0,17$	$23,66 \pm 12,61$	$0,12^{ab}\pm0,01$	$55,90 \pm 16,25$	$0,67^{abc}\pm0,07$	$0.08^a \pm 0.01$	$33,33 \pm 5,39$
3	$1,\!46^{ab}\pm0,\!16$	$11,18 \pm 10,01$	$0.10^{a} \pm 0.01$	$30,54 \pm 16,72$	$0.79^{ab} \pm 0.11$	$0,\!07^{ab}\pm0,\!01$	$16,70 \pm 6,20$
4	$1,27^{abc} \pm 0,12$	-	$0.07^{cd}\pm0.01$	-	$0,62^{abcd}\pm0,12$	$0.07^{abc}\pm0.01$	$16,70 \pm 7,97$
5	$1,\!03^{cde}\pm0,\!12$	-	$0,\!06^{cd} \pm 0,\!01$	-	$0.61^{abcd} \pm 0.11$	$0.06^{bcd} \pm 0.01$	-
6	$0.71^{e} \pm 0.11$	-	$0.06^{cd} \pm 0.01$	-	$0.38^{cd}\pm0.08$	$0.04^{\mathrm{def}} \pm 0.01$	-
7	$0,76^{\text{de}}\pm0,14$	-	$0.04^{d} \pm 0.01$	-	$0,\!42^{cd}\pm0,\!09$	$0.04^{\mathrm{def}} \pm 0.01$	-
8	$0,70^{\rm e} \pm 0,08$	-	$0.05^{d} \pm 0.01$	-	$0.33^{d} \pm 0.09$	$0.04^{\mathrm{def}} \pm 0.01$	-
9	$0,77^{de} \pm 0,11$	-	$0.04^{d} \pm 0.01$	-	$0.36^{d} \pm 0.09$	$0.03^{ef} \pm 0.00$	-
10	$0.94^{bcd}\pm0.12$	-	$0.06^{cd} \pm 0.01$	-	$0.54^{bcd} \pm 0.08$	$0.06^{bcd} \pm 0.01$	-
11	$1{,}15^{cde}\pm0{,}12$	-	$0.04^{d} \pm 0.01$	-	$0,62^{abcd}\pm0,09$	$0.02^{e} \pm 0.01$	-
12	$0,92^{cde}\pm0,11$	-	$0.06^{cd}\pm0.01$	-	$0,59^{abcd}\pm0,09$	$0,\!05^{\text{cde}}\pm0,\!01$	-

ES error estándar. Medias con superíndice diferente, en una misma columna, son significativamente diferentes ($p \le 0.05$)

La colonización de P. chlamydosporia, al concluir el periodo de aclimatización a los 30 días, estuvo entre 1,43 - 6,84 x 10⁴ UFC.g⁻¹ de sustrato. La mayor colonización de P. chlamydosporia en el sustrato se obtuvo en el tratamiento 5 (con una aplicación de P. clamydosporia + T. asperellum) sin diferencias significativas con el tratamiento 9 (tres aplicaciones de P. clamydosporia + T. asperellum) y los tratamientos 11 y 12 (con dos y tres aplicaciones de P. chlamydosporia, respectivamente). La colonización total del hongo en las raíces de las vitroplantas de banano 'FHIA- 03' (AABB) estuvo entre 1,17 - 1,88 x 10⁴ UFC.g⁻¹ de raíz, sin diferencias significativas entre tratamientos; mientras que, el porcentaje de colonización endofítica estuvo entre 4,17 y 51,39%, los mayores valores se obtuvieron en los tratamientos 7 y 8 (con P. chlamydosporia + T. asperellum), con diferencias significativas respecto a los tratamientos 2 (con P. chlamydosporia) y 6 (P. chlamydosporia + T. asperellum) que fueron los más bajos. (Fig. 4)

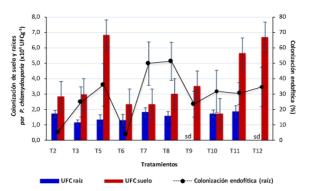


Fig. 4. Colonización de *P chlamydosporia* en el suelo y las raíces de vitroplantas de banano 'FHIA-03' (AABB) a los 30 días en fase de aclimatización/ Colonization of soil and vitroplant roots of banana 'FHIA-03' (AABB) by *P chlamydosporia* in 30 days at the acclimatization phase. (sd: sin determinar/datos perdidos)

La estimulación del crecimiento de las vitroplantas de banano 'FHIA-03' observada en algunos tratamientos, donde se inoculó uno o ambos hongos, demuestra las potencialidades de estas cepas para estimular el crecimiento vegetal y la compatibilidad entre ellas. En general, la respuesta de los tratamientos evaluados en la estimulación del crecimiento de las vitroplantas 'FHIA-03' indica un efecto del momento de aplicación y la forma de aplicación de estos hongos. Por otra parte, pudiera ser necesario un tiempo para el reconocimiento de estos hongos en las raíces por parte de la planta, para lograr el efecto deseado en la estimulación del crecimiento.

La inmersión de raíces parece no ser un método adecuado de aplicación de *P. chlamydosporia* para obtener un mejor efecto sobre el crecimiento de las vitroplantas; en general, los mejores tratamientos fueron cuando se aplicó al cuello de la planta una aplicación (3 DDT) o dos aplicaciones (3 y 20 DDT), como sugirieron Hernández *et al.* (22). Por otra parte, este método de inmersión de raíces con *T. asperellum* resultó adecuado tanto cuando se aplicó de forma independiente o combinada con *P. chlamydosporia*. Esta forma de aplicación podría asegurar una protección temprana de las vitroplantas frente a hongos fitopatógenos. Otros estudios indican que la inoculación de estos hongos directamente al sustrato pudiera resultar en una adecuada colonización (6).

Los resultados coinciden con los obtenidos por Cassambai *et al.* (36), quienes comprobaron que, al inocular vitroplantas del cultivar 'Gran Enano' con hongos endofíticos, hubo un incremento significativo en la altura de las plantas, respecto a las plantas no inoculadas. Esta estimulación del crecimiento puede estar relacionada con la capacidad de *P. chlamydosporia* y *T. asperellum* para liberar de fitohormonas o metabolitos estimuladores de crecimiento de la planta o la captación de nutrientes (11, 19, 20).

El efecto de promoción de crecimiento, en cuanto a la longitud de la planta y el diámetro del pseudotallo encontrado en la presente investigación, coincide con Barrios (37) quien, al analizar la promoción de crecimiento de vitroplantas de plátano, encontró diferencias significativas a favor de los hongos endofíticos, con valores mayores al testigo en altura y diámetro del pseudotallo. De igual forma, Meneses *et al.* (38) demostraron que ocho semanas después de proteger plantas de banano con hongos endofíticos, estas presentaron diferencias altamente significativas en promoción de crecimiento comparadas con el testigo.

Los resultados respecto al número de hojas activas coinciden con Caballero (39), quien comprobó que varias cepas endofíticas del género *Trichoderma* spp., aumentaron el número de hojas de vitroplantas de banano en el cultivar 'Gros Michel' (AAA) con diferencias significativas sobre el control absoluto.

Los resultados obtenidos en incremento de la masa foliar concuerdan con estudios de Hernández *et al.* (22) y Mingot-Ureta *et al.* (40) donde vitroplantas de plátanos y bananos inoculadas con la cepa IMI SD 187 (=Pcat) mostraron incrementos de la masa radical y foliar, al igual que con otras cepas de *P. chlamydosporia*. Asimismo, aislados del género *Trichoderma*, incrementaron la masa de las raíces y del área foliar (5).

La colonización de *P. chlamydosporia* IMI SD 187 en la rizosfera de las plantas de banano 'FHIA-03', junto con *T. asperellum*, indican que esta cepa es una buena competidora en la rizosfera y una buena colonizadora en plantas monocotiledóneas (21). La habilidad de colonización endofítica que posee *P. chlamydosporia* puede conferirle una vía de escape frente a situaciones de estrés biótico o abiótico presentes en su hábitat natural (41).

Los resultados sugieren que la respuesta de estimulación del crecimiento de las plantas no estuvo relacionada con una mayor colonización de *P. chlamydosporia* en el suelo o las raíces y que bajos porcentajes de colonización endofítica fueron suficientes para obtener una respuesta positiva en la estimulación del crecimiento vegetal, como se observó en todos los resultados donde el tratamiento 2 con una sola aplicación de *P. chlamydosporia* (3 DDT). Estos resultados coinciden con los de Ceiro (41) quien, con menores niveles de colonización al interior de la raíz en pimiento, alcanzó la mayor estimulación de la masa fresca radical y constató un mayor desarrollo vegetal donde se inoculó el hongo nematófago con respecto al tratamiento control.

La aplicación de una segunda dosis de KlamiC[®], 20 DDT (tratamiento 3), también produjo resultados favorables en las variables de crecimiento de las vitroplantas. Repetidas inoculaciones de *P. chlamydosporia* pudieran garantizar un incremento de la colonización del hongo en las raíces (40) y, además, contribuye a asegurar el inóculo que garantice la protección temprana frente a nematodos previo a la siembra en campo (6).

Resultados obtenidos por Xue *et al.* (42) evidenciaron que la manipulación del microbioma de la rizosfera de banano puede controlar al hongo *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* raza 4; de forma tal, que *P. chlamydosporia* y *T. asperellum* como endófitos facultativos, pudieran ser interesantes agentes de control biológico para este agente fitopatógeno.

En general, los resultados evidencian que la cepa IMI SD 187 de *P. chlamydosporia* y la cepa *Ta.* 13 de *T. asperellum* son compatibles, como demostraron Puertas *et al.* (43). Estas cepas pudieran ocupar su espacio en la rizosfera en un mismo nicho ecológico, como ocurrió en las condiciones *in vitro. P. chlamydosporia* colonizó el sistema radical y la rizosfera de vitroplantas de banano cuando se aplicó de forma independiente y en combinación con *T. asperellum* y ambos hongos promovieron el crecimiento de las vitroplantas. Estos resultados indican que *P. chlamydosporia* y *T. asperellum* son buenos candidatos para estrategias de biomanejo en banano.

Es necesario continuar los estudios *in vitro* e *in vivo* sobre la interacción de ambos hongos como agentes de control biológico endófitos en plátanos y bananos, en aspectos relacionados con diferentes formas y dosis de aplicación, para lograr un mejor establecimiento en la rizosfera y la promoción del crecimiento de las plantas, así como el efecto sobre poblaciones de nematodos fitoparásitos o fitopatógenos y sobre la salud radical en general en estos cultivos.

AGRADECIMIENTOS

Al colectivo de la Biofábrica UEB Semillas Mayabeque, por el apoyo en la realización de este trabajo. A la Dra. C. Ileana Miranda Cabrera, por su contribución en la revisión y 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 del Programa Nacional de Salud Animal y Vegetal "Nuevos usos del bionematicida KlamiC® como agente de control biológico endófito" (código P131LH003054) y 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 realización del trabajo y la escritura de este artículo.

REFERENCIAS

1. Perrier X, De Langhe E, Donohue M, Lentfer C, Vrydaghs L, Bakry F, Careel F, Hippolyte I, Horry J, Jenny C, Lebot V. Multidisciplinary perspectives on banana (*Musa* spp.) domestication. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2011; 108(28): 11311-11318.

- Oficina Nacional de Estadística e Información de la República de Cuba (ONEI). 2019. Anuario estadístico de Cuba. Edición enero - diciembre 2020.
- 3. Davies LJ, Elling AA. Resistance genes against plant-parasitic nematodes: a durable control strategy? Nematology. 2015; 17(3), 249-263.
- Diepens NJ, Pfennig S, Van den Brink PJ, Gunnarsson JS, Ruepert C, Castillo L. Effect of pesticides used in banana and pineapple plantations on aquatic ecosystems in Costa Rica. Journal of Environmental Biology. 2014; 35(349 especial):73-84.
- Zum Felde A, Pocasangre L, Carñizares MCA, Riveros AS. Effect of combined inoculations of endophytic fungi on the Biocontrol of *Radopholus similis* in bananas. InfoMusa. 2006; 15 (1-2): 12-18, ISSN 1729-0996.
- Barbosa RT, Monteiro TSA, Coutinho RR, Silva JG, Freitas LG. *Pochonia chlamydosporia* no controle do nematoide de galhas em bananeira. Nematropica. 2019; 49(1):99-106.
- Zakaria L, Jamil MIM, Anuar ISM. Molecular characterisation of endophytic fungi from roots of wild banana (*Musa acuminata*). Tropical Life Sciences Research. 2016; 27(1), 153-162.
- 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., Pohlan J. (eds). ISHS Conference on Fruit Production in the Tropics and Subtropics. DE. Bonn. 2000; 283-289.
- 9. Kaushal M, Swennen R, Mahuku G. Unlocking the Microbiome Communities of Banana (*Musa* spp.) under Disease Stressed (*Fusarium* wilt) and Non-Stressed Conditions. Microorganisms. 2020; 8, 443; doi:10.3390/microorganisms8030443.
- Martínez B, Infante D, Reyes Y. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Rev. Protección Veg. 2013; 28 (1): 1-11.
- 11. González I, Infante D, Arias Y, Gorrita S, Hernández T, de la Noval BM, Martínez B, Peteira B. Efecto de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre indicadores de crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar BAT-304. Rev. Protección Veg. 2019; 34(2), E-ISSN: 2224-4697.
- 12. Hernández D, Rodríguez MG, Peteira B, Miranda I, Arias Y, Martínez B. Efecto de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg sobre el desarrollo del tomate y *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood. Rev. Protección Veg. 2015; 30 (2) 139-147. ISSN: 2224-4697.
- 13. Manzanilla LRH, Esteves I, Finetti SMM, Hirsch PR, Ward E, Devonshire J, Hidalgo-Díaz L. *Pochonia chlamydosporia*: Advances and Challenges to Improve its Performance as a

- Biological Control Agent of Sedentary Endoparasitic Nematodes. Journal of Nematology, 2013; 45(1): 1-7.
- 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. Ceiro-Catasú WG, Hidalgo-Viltres M, Hidalgo-Díaz L, Arévalo-Ortega J, García-Bernal M, Mazón-Suástegui JM. Establecimiento *in vitro* del hongo nematófago *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* en diferentes suelos. Terra Latinoamericana. 2021; 39: 1-7. e792, DOI: 10.28940/terra.v39i0.792.
- 16. 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: 10, ISSN 0003-4746.
- 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.
- 18. Arévalo J, Hernández MA, Lamz A, Montes de Oca N, Hidalgo-Díaz L. Efecto de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* (Goddard) Zare y Gams como endófito facultativo en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Rev. Protección Veg. 2019; 34(2). E-ISSN: 2224-4697.
- 19. Ghahremani Z, Escudero N, Saus E, Gabaldón T, Sorribas FJ. *Pochonia chlamydosporia* Induces Plant-Dependent Systemic Resistance to *Meloidogyne incognita*. Front. Plant Sci. 2019; 10:945, DOI: 10.3389/fpls.2019.00945.
- 20. Zavala-Gonzalez EA, Rodriguez-Cazorla E, Escudero N, Aranda-Martinez A, Martinez-Laborda A, Ramirez-Lepe M, Vera A, Lopez-Llorca, LV. Arabidopsis thaliana root colonization by the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* is modulated by jasmonate signaling and leads to accelerated flowering and improved yield. New Phytologist. 2017; 213(1), 351-364.
- 21. Monteiro TSA, Valadares SV, de Mello INK, Moreira BC, Kasuya MCM., de Araújo JV, de Freitas LG. Nematophagus fungi increasing phosphorus uptake and promoting plant growth. Biological Control. 2018; 123: 71-75.
- 22. 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.
- 23. 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.
- 24. Monfort E, López-llorca LV, Janson HB, Salinas J. *In vitro* soil receptivity assays to egg-parasitic nematophagous fungi. Mycological Progress, 5:18-23, 2006.
- 25. Kerry BR, Hirsch PR. Ecology of *Pochonia chlamydosporia* in the rhizosphere at the population, whole organism and molecular scales. In: Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes. Springer Netherlands. 2011: 171-182.
- 26. Hidalgo-Díaz L, Franco-Navarro F, de Freitas LG. Pochonia chlamydosporia Microbial Products to Manage Plant-Parasitic Nematodes: Case Studies from Cuba, Mexico and Brazil. En: Manzanilla-López RH, Lopez-Llorca LV. (eds) Perspectives in Sustainable Nematode Management Through Pochonia chlamydosporia Applications for Root and Rhizosphere Health. Springer International 311-342. Publishing 2017: **ISBN** AG. 978-3-319-59224-4 (eBook), DOI: 10.1007/978-3-319-59224-4.
- 27. Cruz-Triana A, Rivero-González D, Infante-Martínez D, Echevarría-Hernández A, Martínez-Coca B. Manejo de hongos fitopatógenos en *Phaseolus vulgaris* L. con la aplicación de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg. Rev. Protección Veg. 2018; 33(3), E-ISSN: 2224-4697.
- 28. Morton DJ, Stroube WH. Antagonistic and stimulating effects of soilmicro-organism of *Sclerotium*. Phytopathol. 1955; 45: 417-420.
- 29. Reyes Y, Martínez B, Infante D. Evaluación de la actividad antagónica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. Rev. Protección Veg. 2008; 23 (2): 112-117.
- 30. Samaniego G, Ulloa S, Herrera S. Hongos del suelo antagonistas de *Phymatotrichum omnivorum*. Rev. Mex. Fitopatología, 1989; 8: 86-95.
- 31. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdova, Argentina. Disponible en: http://www.infostat.com.ar/
- 32. 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 Palaearctic Regional Section. 2002; 84 p. ISBN 92-9067-138-2, OCLC: 52572472.
- 33. Hernández O, Castillo D, Herrera R, Fuentes E, Drouaillet E, Santillán A. Actividad antagónica de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia solani in vitro*. Investigación y Ciencia. 2016; 24 (67): 5-11.

- 34. Monfort E. Interacciones tritróficas entre hongos nematófagos, la rizosfera y sus patógenos fúngicos. [Tesis en opción título de Doctor en Biología]. Universidad de Alicante, Alicante, España. 2004; 172 pp.
- 35. Siddiqui IA, Shaukat SS. Combination of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pochonia chlamydosporia* for control of root-infecting fungi in tomato. Journal of Phytopathology. 2003; 51 (a): 215-222.
- 36. Cassambai EL, Lekidayo L, Pocasangre LE. Uso de hongos endofíticos como promotores de crecimiento en el cultivo de banano. Revista Tierra Tropical. 2012; 8 (1): 9-18.
- 37. Barrios MA. Estudio de hongos endofíticos como inductores de resistencia para el control de sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en plátano. Tesis en opción al grado científico de Magister Scientiae en Agricultura Ecológica, Turrialba, Costa Rica. 2006: pp. 56.
- 38. Meneses A, Pocasangre LE, Somarriba E, Riveros AS, Rosales FE. Diversidad de hongos endofíticos y abundancia de nematodos en plantaciones de banano y plátano de la parte baja de los territorios indígenas de Talamanca. Agroforestería en las Américas. 2003; 10 (37-38): 59-62, ISSN 1022-7482.
- 39. Caballero HAJ. Uso de hongos endofíticos de *Trichoderma* spp. para el biocontrol del mal de Panamá (*Fusarium oxisporum* f. sp. *cubense*) raza tropical en vitroplantas del cultivar Gros Michel (AAA). Tesis en opción al grado científico de Magister Scientiae en Agricultura Ecológica. Turrialba, Costa Rica. 2011.pp. 90.
- 40. Mingot-Ureta C, López-Moya F, López-Llorca LV. Worldwide strains of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* are endophytic in banana roots and promote plant growth. Agronomy. 2020; 10 (9): 1299. https://doi.org/10.3390/agronomy10091299
- 41. 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.
- 42. Xue C, Penton CR, Shen Z, Zhang R, Huang Q, Li R, Ruan Y, Shen Q. Manipulating the banana rhizosphere microbiome for biological control of Panama disease. Scientific reports. 2015; 5, 11124.
- 43. 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.

Declaración y contribución de los autores: Los autores declaran que no existe conflicto de intereses. Contribución de los autores: Jersys Arévalo Ortega: contribuyó al diseño y ejecución de los experi

Contribución de los autores: Jersys Arévalo Ortega: contribuyó al diseño y ejecución de los experimentos, participó en las evaluaciones, el análisis e interpretación de los resultados y la escritura del artículo. Benedicto Martínez Coca: Contribuyó al análisis, interpretación y discusión de resultados y a la escritura y revisión del artículo. Miguel Ángel Hernández Socorro: contribuyó al diseño, la planificación, ejecución y evaluación de experimentos en la fase aclimatización de vitroplantas y la escritura del artículo. Rolisbel Alfonso de la Cruz: contribuyó a la planificación, ejecución y evaluación de experimentos. Estructuró las bases de datos en Excel y la búsqueda de Referencias Bibliográficas relacionadas con el tema. Danay Ynfante Martínez: contribuyó al diseño, la planificación, ejecución y evaluación de experimentos en la fase in vitro y la escritura de resultados. Leopoldo Hidalgo Díaz: participó en el diseño de los experimentos en la fase de climatización de vitroplantas y 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)