

Efecto de bioformulados bacterianos como controladores de *Radopholus similis* y potenciadores del desarrollo de plántulas de banano (*Musa acuminata*) cultivar Williams

Effect of bacterial bioformulates as controllers of *Radopholus similis* and enhancers of banana seedling development (*Musa acuminata*) cultivar Williams

Cristhian John Macías Holguín¹, Flavio Cesar Valarezo Padilla¹, Dayanara Nicolle Tapia Quintana¹, Hayron Fabricio Canchignia Martínez^{1,2}, Ángel Virgilio Cedeño Moreira¹, Erick García Intriago¹

¹Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador.

²Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Autor de correspondencia: cristhian.macias2016@uteq.edu.ec

Recibido: 06/07/2023. Aceptado: 26/10/2023
Publicado el 20 de diciembre de 2023

Resumen

La alta incidencia del nematodo barrenador *R. similis* en el cultivo de banano ha impulsado el empleo continuo de nematicidas, como la única solución eficaz, pero poco sostenible ante la microbiota y fertilidad de los suelos. Como alternativa biológica la actividad biocontroladora de las PGPRs surten el efecto supresor ante grandes poblaciones nematológicas. Como blanco de estudio se evaluó el efecto de bioformulados bacterianos en el control de *R. similis* y potenciador al desarrollo de plántulas de banano cultivar Williams. Se empleó cinco factores de estudio: Tres bioformulados elaborados con diferentes componentes, los cuales se inoculó en combinación 4 cepas PGPRs *Acinetobacter calcoaceticus* BMR 2-12, *Serratia marcescens* PM 3-8, *Pseudomonas protegens* CHA0 y *Enterobacter asburiae* PM 3-14; Nematicida y Sin PGPRs para sus evaluaciones biocontroladora y promotoras en presencia del nematodo aplicado en poblaciones iniciales entre 10,000 – 15,000 más cuatro repoblamiento de 8,000 – 10,000 en plántulas de banano. El factor biocontrolador del Bioformulado-1 con cargas UFC/mL de 9.70×10^9 obtuvo mayor efectividad en la presencia de *R. similis* reduciendo a 1,000/100 g de raíz, contrarrestando su incidencia de daños a 12.28 %. Así mismo el efecto de los Bioformulados mejoró varios parámetros de crecimiento vegetal, implicando al aumento de la altura de planta con 42.74 y 42.42 cm (Bio-1 y 3); mayor número de hojas de 5.80 y 5.40 (Bio-1 y 2); longitud radicular con 35.64 cm (Bio-3), revelando poseer altos beneficios hacia la agricultura sostenible.

Palabras clave: Microbiota; *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas protegens*, UFC/mL, nematicida

Abstract

The high incidence of the boring nematode *R. similis* in banana cultivation has prompted the continuous use of nematicides, as the only effective solution, but not very sustainable in the face of the microbiota and soil fertility; As a biological alternative, the biocontrol activity of PGPRs has a suppressive effect against large nematological populations. As a study target, the effect of bacterial bioformulates on the control of *R. similis* and enhancer on the development of banana seedlings cultivar Williams was evaluated. Five study factors were used: Three bioformulates made with different components, which were inoculated in combination with 4 strains PGPRs *Acinetobacter calcoaceticus* BMR 2-12, *Serratia marcescens* PM 3-8, *Pseudomonas protegens* CHA0 and *Enterobacter asburiae* PM 3-14; Nematicide and Without PGPRs for their biocontrol and promoter evaluations in the presence of the nematode applied in initial populations between 10,000-15,000 plus four repopulations of 8,000-10,000 in banana seedlings. The biocontrol factor of Bioformulated-1 with CFU/mL loads of 9.70×10^9 obtained greater effectiveness in the presence of *R. similis*, reducing to 1,000/100 g of root, counteracting its incidence of damage to 12.28 %. Likewise, the effect of the Bioformulated products improved various plant growth parameters, involving an increase in plant height with 42.74 and 42.42 cm (Bio-1 and 3); greater number of leaves of 5.80 and 5.40 (Bio-1 and 2); root length with 35.64 cm (Bio-3), revealing to have high benefits towards sustainable agriculture.

Keywords: Microbiota; *Acinetobacter calcoaceticus*; *Pseudomonas protegens*, CFU/mL, nematicide.

Introducción

El banano es una fruta tropical de valor nutricional que contiene carbohidratos, fibra, vitaminas A, B6, C, potasio, fósforo y calcio. Promueve alta rentabilidad en el Ecuador con un alto margen de ingresos económicos (Cabrera *et al.*, 2020). Durante el año 2020 se exportaron 380,498 millones de cajas de 18.14 kg destinadas a Estados Unidos, Asia Oriental, Rusia y Reino Unido (Santo *et al.*, 2022). Lo que Representa el 27% de las exportaciones agrícolas del país y el 22% a nivel mundial (Vaca *et al.*, 2020). La producción de banano en zonas subtropicales ha sido vulnerable por una serie de enfermedades como hongos, nematodos, marchitez bacteriana y virus que afectan a cualquier tejido de la planta (Manzo-Sánchez *et al.*, 2014). La diversidad de nematodos fitoparásitos de mayor impacto son *Radopholus similis* y *Meloidogyne* spp. (Vanegas *et al.*, 2023), que se caracterizan por su alimentación multisitio desde las células del córtex, endodermis, periciclo, hasta el parénquima vascular (Riascos, 2014). Ingresan al sistema radicular creando un método de entrada para *Fusarium solani* y *Rhizoctonia* sp. y predominan en las lesiones de las raíces (Stover, 1966). Los daños ocasionados son mayores que el ataque de insectos con pérdidas en producción entre el 20 y 100% del banano (Singh *et al.*, 2015; Nyang'au *et al.*, 2021).

La alta incidencia de daños provocados por *R. similis* reduce el funcionamiento de las raíces provocado por su estilete que ingresa a nuevas células corticales para destruir la pared celular del huésped y migrar a nuevos sitios ricos en azúcares lo que provoca el volcamiento de la planta (Chitamba *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2015). Su reproducción anfimixis en el interior de la raíz permite la oviposición aproximadamente de 8000 huevecillos en un periodo de desarrollo de 20 a 25 días (Kosma *et al.*, 2011). El control de *R. similis* en grandes plantaciones de banano se realiza con nematicidas sintéticos con dos a cuatro aplicaciones al año (Chabrier y Queneherve, 2003). El empleo continuo y aumento de dosis de nematicidas organofosforados y carbofurados genera deficiencias nutricionales, baja descomposición de la materia orgánica y microfauna del suelo que inducen antagonismo hacia patógenos infecciosos (Kalay *et al.*, 2023). El interés de utilizar comunidades microbianas para el control de

nematodos fitoparásitos está aumentando (Crespo-Clas *et al.*, 2023). Los nematicidas fúngicos y bacterianos ocupan un lugar destacado entre otros agentes de biocontrol (Abd y Askary, 2018). El empleo de rizobacterias (PGPR's) por sus siglas en inglés "Plant Growth Promoting Rhizobacteria" promueven el desdoblamiento y asimilación de nutrientes que facilita su movilidad dentro de la planta (Tsavkelova *et al.*, 2006), fijan nitrógeno por medio de genes específicos *nif* (Döbereiner, 1992) y sintetizan fitohormonas (Fuentes-Ramírez y Caballero-Mellado, 2005). Las rizobacterias inhiben la población de nematodos fitoparásitos por la producción de varias enzimas hidrolíticas como proteasas, colagenasas, quitinasas, toxinas y subproductos metabólicos que se han relacionado con el efecto nematicida (Kumar *et al.*, 2019). Por ello las PGPRs establecen una alta eficiencia biocontroladora y bioestimulante muy similar a los productos químicos, siendo un factor importante involucrado en la degradación de diferentes constituyentes químicos de los nematodos en distintas etapas de desarrollo. La presente investigación tiene como objetivo evaluar el efecto de los bioformulados (PGPR's) como agente supresor a *R. similis* y bioestimulante sobre el desarrollo radicular de plántulas de banano (*Musa acuminata*) cultivar Williams.

Materiales y métodos

La investigación se ejecutó en el Laboratorio e invernadero de Biotecnología Molecular de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), localizado en la Finca Experimental "La María" ubicado en el Km 7 1/2 de la Vía Quevedo – El Empalme, cantón Mocache, ubicado en 1°20'30" de latitud Sur y 79°28'30" de latitud Oeste, y a una altura de 75 msnm.

Establecimiento del material vegetal

Se utilizaron vitroplantas de banano cultivar Williams elaboradas en el laboratorio de cultivo de tejido de la UTEQ. Las vitroplantas de un mes de edad se transplantaron en macetas de 13 x 11 m, que contenían un sustrato de textura franco arcilloso más turba, a una proporción (2:1), el cual se esterilizó por 30 d mediante la técnica de solarización.

Tabla 1. Rizobacterias productoras de metabolitos antagonicos

Organismo	Cepas	Metabolitos antagonicos				Sideróforos	AIA [†]
		PR [†]	HCN [†]	Prn [†]	DAPG [†]		
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	BMR 2-12			+		+	
<i>Serratia marcescens</i>	PM 3-8	+	+			+	
<i>Pseudomonas protegens</i>	CHA0	+	+	+	+	+	+
<i>Enterobacter asburiae</i>	PM 3-14	+	+	+		+	

[†]Productoras de metabolitos secundarios: PR-Proteasa, HCN-cianuro de hidrogeno, Prn-pirrolnitrina, ácido Indol acético (AIA) (Canchgna *et al.*, 2018).

Preparación del pre-inóculo y bioformulados

Del banco de germoplasma del laboratorio de Microbiología de la UTEQ. Se escogieron cuatro rizobacterias PGPRs (Tabla 1). Las rizobacterias se incubaron a 150 rpm por 48 h en un agitador orbital, en 100 mL de King B líquido [(g/L) Peptona 20 gr, fosfato de potasio 1.5 gr, sulfato de magnesio 1.5 gr, glicerol 15 mL/L] (King *et al.*, 1954). Se recuperó 25 mL de cada bacteria que contiene 1.2×10^8 UFC/mL, incorporadas a los bioformulados que contienen [Carbonato de calcio, harina de machica, quitina coloidal, carboximetil celulosa y melaza (Bioformulado-1)], [Zeolita, ácido Etilendiaminotetraacético, quitina coloidal, acetato de potasio y melaza (Bioformulado-2)] y [Carbón vegetal, harina de soya, aminoácidos, fijador agrícola y melaza (Bioformulado-3)]; la incubación del consorcio bacteriano fue de 48 h.

Inoculación de bioformulados en plántulas de banano

El contenido microbiano se elaboró al 20% en volúmenes de 8 L de H₂O-2 L de consorcio bacteriano en dosis de 250 mL por planta. Además, se empleó un control químico (Nematicida) producto comercial Nakar (*Benfuracarf* 20%) en volúmenes de 10 L de H₂O-12 mL de nematicida en dosificación de 50 mL y un control absoluto (agua destilada estéril). Durante la investigación se aplicó los bioformulados y nematicida a los 15 y 30 días después del trasplante. Todos los tratamientos tuvieron cinco réplicas y cada una con tres unidades experimentales.

El experimento se realizó bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), todas las observaciones fueron sometidas al análisis de varianza y las medias de los tratamientos fueron separados por procedimiento de comparación múltiple de Tukey, al nivel de significancia de ($P \leq 0.05$), empleando el software Statgraphics.

Obtención del inóculo de *R. similis*

Se recolectaron varias muestras de raíces infectadas por nematodos de plantaciones de banano. El aislamiento de *R. similis* se desarrolló mediante la técnica de Stmerdin (1963). Se pesaron 100 gr de raíces infectadas cortadas de forma transversal en trozos de 1 cm usando una balanza analítica Explorer™ Semi Micro Marca, Ohaus®, los segmentos se mantuvieron en reposo matraces Erlenmeyer con 500 mL de agua destilada estéril por 5 min, para luego ser filtrada en tamices con mallas de 500 y 90 μ m. El contenido de la criba de 90 μ m se depuro por medio de un papel filtro recuperando la muestra en un vaso precipitado de 50 mL, cediendo al rescate del líquido de alta densidad por decantación durante 48 - 72 h. La identificación de *R. similis* se efectuó en volúmenes de 300 μ L sobre un vidrio reloj empleando un microscopio OLYMPUS (ocular 10X y objetivo 40X) para la caracterización morfológica. Se inocularon 250 mL de solución poblada de nematodos de 10,000 - 15,000 (huevos y juveniles), a los 30 d se aplicaron cuatro repoblamientos de 8,000 - 10,000 cada 7 d en plantaciones de banano aclimatadas de 3 meses de edad.

Determinación del contenido bacteriano PGPRs a nivel edáfico

Se recuperó 1 g de suelo a una profundidad de 10 cm, resuspendidas en 9 mL de agua destilada estéril con agitación a 120 rpm por 10 min. La toma de muestra se realizó a los 30, 60 y 90 días después de la inoculación (ddi). Se realizó diluciones seriadas (1:9) y se plaquearon 10 μ L en medio King B sólido [(g/L) Peptona 20 gr, fosfato de potasio 1.5 gr, sulfato de magnesio 1.5 gr, glicerol 15 mL/L, 15 Agar], suplementado con chloramphenicol (13 μ g/mL), ampicilina (40 μ g/mL) (Bauer *et al.*, 1996). Colocadas en incubación a 27 °C por 48 h. El conteo UFC/mL se valoró por rangos de: Mínimo 25 UFC - Máximo 250 UFC (Unidad de Formadores de Colonias).

Evaluación del efecto promotor y biocontrolador de las cepas PGPRs

El efecto promotor de las PGPRs se determinó mediante las variables morfológicas, en donde se evaluaron el número de emisión foliar (N°), longitud radicular (cm), número de hojas (N°) y altura de la planta (cm). Todas las variables se evaluaron en 15 plantas por tratamiento. Por otra parte, se determinó la incidencia de daños y la cantidad poblaciones del nematodo *R. similis* mediante un muestreo destructivo de 6 submuestras radiculares por cada tratamiento para su respectivo análisis nematológico, analizado por la empresa privada In-Nema (Servicio de análisis y manejo de insectos y nematodos del agro).

Resultados y discusión

Carga bacteriana de los consorcios en bioformulados

La combinación de *A. calcoaceticus* BMR 2-12, *S. marcescens* PM 3-8, *P. protegens* CHA0, *E. asburiae* PM 3-14 inoculados en diferentes bioformulados, mediante el recuento en placas de King B aumenta concentración UFC/mL del Bioformulado-1, con cargas aproximadas de 9.70×10^9 UFC/mL (Figura 1). Generan capacidades extracelulares en la producción de metabolitos secundarios demostrando que los componentes empleados en la formulación como medio de cultivo alternativo favorecen el crecimiento celular y adaptación de las colonias bacterianas en un sistema de biorreactor aeróbico. De hecho, Mendoza *et al.* (2008), menciona que durante la fermentación aeróbica bacteriana con PGPRs en especial *Streptomyces avermitilis* del género Actinomycetes producen diversos compuestos bioactivos, entre uno de ellos abamectina que actúa sobre el nematodo por contacto e ingestión.

La influencia de los componentes empleados permite aumentar o disminuir la concentración celular en el medio de crecimiento, en especial la regulación del pH que facilita el incremento de bacterias anaeróbicas, siendo de gran interés que los compuestos orgánicos durante la fase de latencia produzcan una disminución de pH en los medios de crecimiento (Liu y Shen, 2004a). El uso de quitina coloidal

aportados a los Bioformulados-1 y 2 mejora el contenido celular durante la fermentación, en donde este material es rico en nitrógeno que podría favorecer a la activación de la biomasa microbiana, producción de sustancias promotoras y contribuir al crecimiento de las plantas (Castro *et al.*, 2011).

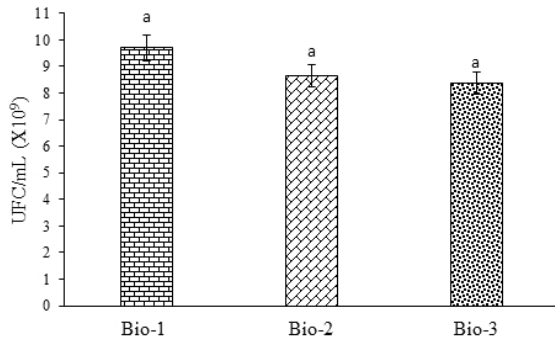


Figura 1 .Carga bacteriana de los bioformulados. Los valores con letras similares no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$), Las barras indican la DE individual para tratamiento (\pm)

Determinación del contenido bacteriano de las PGPRs a nivel edáfico.

La alta efectividad de las rizobacterias PGPRs en contacto directo con el sistema radicular permite la colonización masiva y cargas bacterianas de gran importancia en la estimulación de procesos metabólicos de la planta. Se observó que el Bioformulado-1 presenta mayor contenido bacteriano e incide en la estabilidad celular a los 30, 60 y 90 d; evaluados con cargas UFC/mL de 1.26×10^{10} , 1.38×10^{10} y 1.07×10^{10} . El efecto del nematicida *Nakar* indujo menores concentraciones UFC/mL de 1.87×10^7 a inicios de la evaluación, decayendo el contenido microbiano a los 60 y 90 d con cargas bacterianas de 1.59×10^6 y 3.00×10^6 (Figura 2). Lo que puede estar asociada a la limitación libre en suelos controlados bajo aplicación de fertilizantes sintéticos. La colonización masiva favorece el crecimiento, protección y comunicación entre las células de la raíz con los microorganismos benéficos (Amogou *et al.*, 2019; Landa *et al.*, 2002; Mavrodi *et al.*, 2006). La estabilidad y permanencia bacteriana del Bioformulado-1 durante los 30, 60 y 90 días en las plántulas de banano Williams, promueve mayor desarrollo y protección radicular, en donde las comunidades bacterianas se asocian continuamente a las raíces por la exudación basal (McDougal y Rovira, 1970) seguidamente de la cubierta de las raíces meristemáticas (Norton *et al.*, 1990). Las concentraciones bacterianas generan un buen estatus entre microorganismos-planta, sin embargo, los Bioformulados-2 y 3 influyen en la permanencia durante la evaluación, formando un interfaz biológico entre la raíz y el suelo. La mayoría de las bacterias se organizan en rizodepositos, que puede influir en la movilidad en los suelos (Jones *et al.*, 2004a). Los compuestos usados para el crecimiento bacteriano es de gran influencia en la persistencia de las bacterias en suelo, en tal

sentido el aporte de aminoácidos al Bioformulado-3 promovió estabilidad durante el periodo de evaluación con cargas coloniales inferiores del Bioformulado-1 y 2, sin embargo por juicio propio, al parecer estableció conexiones con las raíces aprovechando los exudados que contienen aminoácidos, azúcares y ácidos grasos (Jones *et al.*, 2009b) en relación que los compuestos quimiotaxis permiten a una especie bacteriana ser competitiva en la rizósfera por el contrario al efecto de factores ambientales sobre la influencia en la microbioma (Dennis *et al.*, 2010). La colonización y motilidad de bacterias exógenas en suelos tratados con nematicida genera el declive al establecimiento, limitando a la dependencia de los componentes esenciales para el crecimiento microbiano (De Weert *et al.*, 2006). El efecto nematicida disminuye lentamente entre los días 30 y 60 acotando al papel predominante de la composición microbiana en la rizósfera (Liu *et al.*, 2020b). A 30 días las plantas tratadas con PGPRs colonizan la rizosfera y el sistema radicular del Banano bajo la presencia de *R. similis* que incita al debilitamiento radicular, en lo que la mayoría de los exudados se liberan de los ápices afectando a la estructura general de comunidades bacterianas (Dennis *et al.*, 2010) en el rizoplano las agrupaciones microbianas revisten heterogéneamente, en cambio en los ápices de las raíces ocupan grupos en proporciones limitadamente pequeñas.

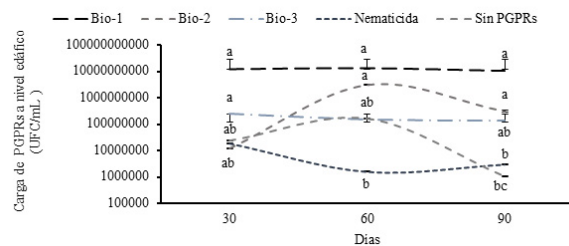


Figura 2. Cinética de crecimiento a los 30, 60 y 90 d, Bio-1(Bioformulado-1), Bio-2(Bioformulado-2), Bio-3(Bioformulado-3), Nematicida y Sin PGPRs. Los valores con letras similares no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$), Las barras indican la DE individual para tratamiento (\pm)

Efecto promotor vegetal de las PGPRs en presencia de *R. similis*

Se reportó diferencia estadística para los tratamientos evaluados sobre la variable de número hojas, bajo aplicaciones microbianas se destaca que los Bioformulados-1 y 2 presentan mayores promedios de números de hojas con 5.80 y 5.40 respectivamente presente en plántulas de banano Williams. Las plantas tratadas con nematicida presentan un número bajo de hojas en comparación ante los demás tratamientos (Figura 3A). A diferencia de las características agronomicas de altura planta, longitud radicular y emisión foliar no se observo diferencia significativa entre los tratamientos. Sin embargo la aplicación del bioformulados-1 a nivel edáfico obtiene los mayores promedios de altura de planta y emisión foliar que

fueron en promedio 42.74 cm y 0.43 lo que demuestra un efecto positivo sobre las características agronómicas como altura, del banano Williams en presencia de *R. similis* (Figura 3B-C). En comparación a la aplicación del bioformulado-3 se obtuvo los mayores promedios sobre incremento de la longitud radicular con 35.64 cm y los Bioformulados-1 y 2 con 31.12 y 31.94 cm, valores que predominan ante aplicaciones de nematicidas que poseyó inferioridad radicular de 30 cm (Figura 3D). En donde se puede mencionar que el uso de la fermentación aeróbica con melaza posee componentes como glucosa, sacarosa y fructosa generó adaptación celular relacionado a las aplicaciones edáficas (Ryan *et al.*, 2001).

Los géneros bacterianos como: *Azospirillum* spp., *Herbaspirillum* spp., *Burkholderia* spp., *Gluconacetobacter* spp., *Dexia* spp., *Beijerinckia* spp. y *Azotobacter* spp. ejercen

un efecto promotor que se atribuye al mejoramiento del estado morfológico y estimulación de la planta lo que mejora la fertilidad del suelo en presencia del micronutriente molibdato de sodio precursor que activa el gen (*nif*) para la fijación de nitrógeno atmosférico (Chen *et al.*, 2001; Garrido *et al.*, 2010). La eficiencia de los nematicidas disminuye las poblaciones e incidencia de daños por *R. similis* y a su vez perjudica a la disminución de la materia orgánica y déficit nutricional, sin embargo, el empleo de Bioformulados ofrece resultados igual o mejor que controles químicos, donde Khalilian *et al.* (2002) sostiene que el aporte de abonos orgánicos reduce poblaciones nematológicas por efecto del aumento de comunidades bacterianas.

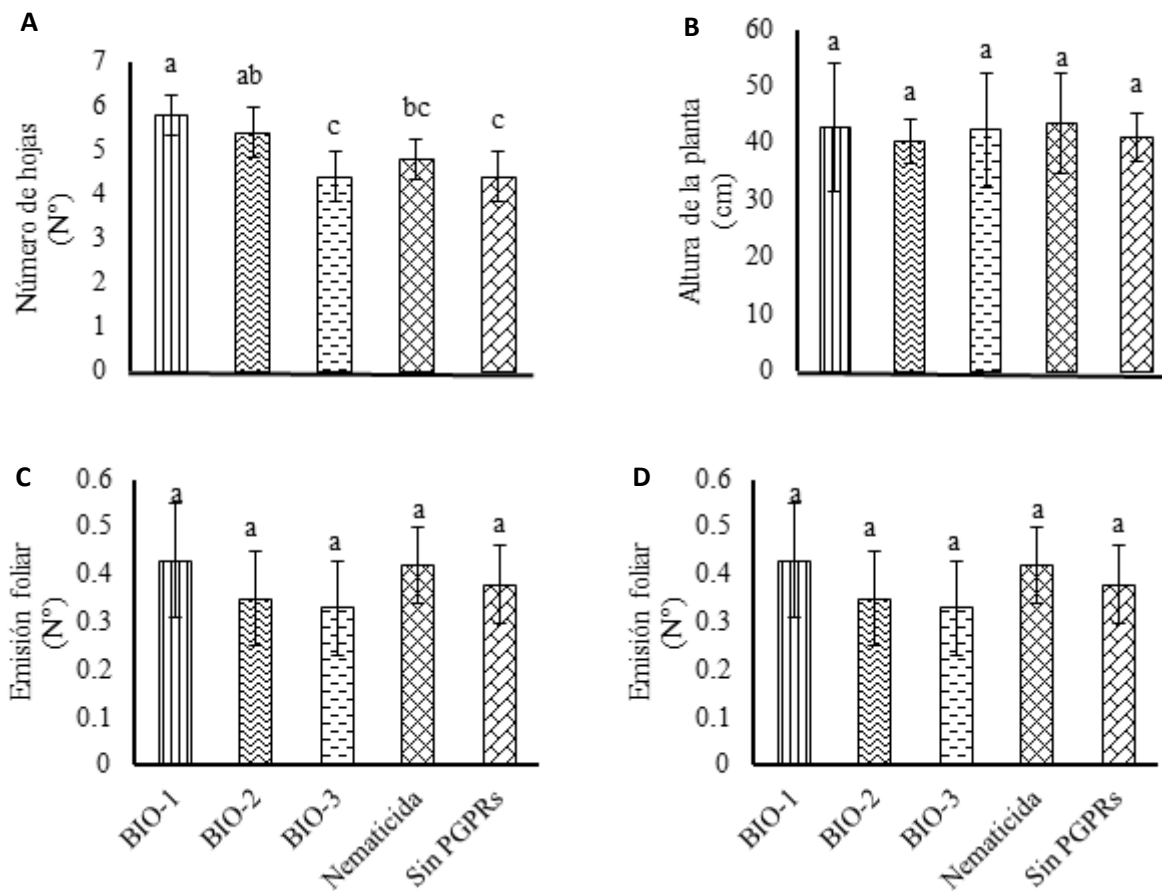


Figura 3. Parámetros morfológicos. A) Altura de la planta, B) Número de hojas, C) Longitud radicular, D) Emisión foliar. Los valores con letras similares no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey, $P \leq 0.05$), Las barras indican la DE individual para tratamiento (\pm)

Efecto antagonista de las PGPRs hacia *R. similis*

La aplicación de los tres Bioformulados reduce la permanencia de las poblaciones de nematodos con 1,000, 2,000, y 4,000 cada 100 g de raíz. La utilización de nematicida no controla la total población de 5,000 nematodos/100 g. En cuanto al efecto sin inoculaciones de PGPRs induce al libre movimiento y reproducción dentro del tejido vegetal, en donde se contabilizó 13,000 nematodos/100 g (Tabla 2). La utilización de las rizobacterias (PGPR's) permiten una amplia protección al desarrollo radicular de Banano y ayudan a la permanencia de la microbiota rizobacteriana por la producción de compuestos bioactivos hacia el control de enfermedades fitopatógenas como *R. similis*.

Las aplicaciones de los Bioformulados-1 y 2 registran menor incidencia de daños provocados por el nematodo barrenador con 12.28% y 14.18% respectivamente a diferencia de utilizar nematicida sintético redujo la incidencia de daños ocasionados por *R. similis* con el 11.37 % (Figura

4). Autores como Almaghrabi *et al.* (2013) y Prashar *et al.*, (2014) reportan que *Bacillus* spp. y *Pseudomonas* spp. son productoras de enzimas de ácido salicílico, ácidos orgánicos, ACC desaminasa. De acuerdo con Chaves *et al.* (2009), establece que *P. protegens* CHA0 tiene mayor actividad antagonista hacia *R. similis* y reduce la eclosión de huevos de otros nematodos tales como: *Meloidogyne* spp. y *M. javanica*.

El uso del consorcio bacteriano (BMR 2-12, PM 3-8, CHA0 y PM 3-14) en los bioformulados poseen la capacidad de secretar metabolitos antagónicos tales como PR (Proteasa), HCN (Cianuro de hidrógeno) y Prn (Pirrolnitrina); cepas productoras de PR (PM 3-8 y PM 3-14), cepas productoras de HCN (PM 3-8 y PM 3-14) y cepas productoras de Prn (BMR 2-12 y PM 3-14); cabe mencionar que *P. protegens* (CHA0) sintetiza diversos antibióticos como 2-4 DAPD, Plt y Prn. (Martínez *et al.*, 2018).

Tabla 2. Análisis nematológico de raíces de banano

Tratamientos	Índice de daños (%)	Población nematológica de <i>R. similis</i> / 100 g de raíz
Bio-1	12.28	1,000
Bio-2	14.18	2,000
Bio-3	16.59	4,000
Nematicida	11.37	5,000
Sin PGPRs	15.77	13,000

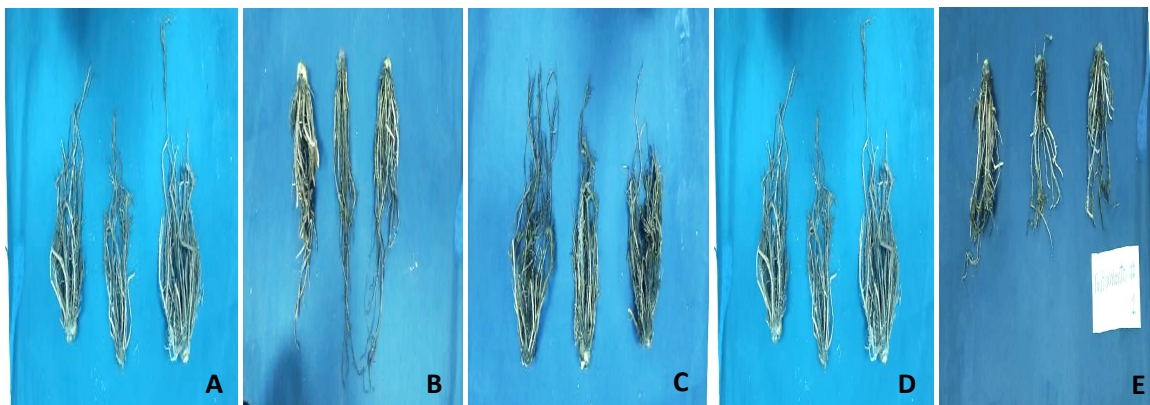


Figura 4. Influencia al empleo de Bioformulados al incremento de biomasa radicular y protección ante las afecciones de *R. similis*. A) Bioformulado-1. B) Bioformulado-2. C) Bioformulado-3. D) aplicación de Nematicida. E) Control

Conclusiones

La combinación de *A. calcoaceticus* BMR 2-12, *S. marcescens* PM 3-8, *P. protegens* CHA0, *E. asburiae* PM 3-14 incubados en los componentes del Bioformulado-1 favorece el incremento celular, demostrando mayores efectos promotores, estabilidad celular y antagonismo hacia *R. similis*, disminuyendo poblaciones nematológicas y la incidencia de daños.

Referencias bibliográficas

Almaghrabi, O. A., Massoud, S. I., y Abdelmoneim, T. S. (2013). Influence of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on tomato plant growth and nematode reproduction under greenhouse conditions. *Saudi journal of biological sciences*, 20(1), 57-61. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.10.004>.

- Amogou, O., Dagbénonbakin, G., Nadège Adoukè, A., Pacôme Agossou, N., Pacôme Agossou, N., Marcel Yévèdo, A., y Baba-Moussa, L. (2019). Applying Rhizobacteria on Maize Cultivation in Northern Benin: Effect on Growth and Yield. *Agricultural Sciences*, 10, 763-782. <https://doi.org/10.4236/as.2019.106059>.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., y Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4_ts), 493-496.
- Cabrera, J. B. Z., Guerrero, J. N. Q., y Batista, R. M. G. (2020). La producción de banano en la Provincial de El Oro y su impacto en la agrobiodiversidad. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 3(3), 189-195.
- Castro, L., Flores, L., y Uribe, L. (2011). Efecto del vermicompost y quitina sobre el control de *Meloidogyne incognita* en tomate a nivel de invernadero. *Agronomía Costarricense*, 35(2), 21-32.
- Chabrier, C., y Queneherve, P. (2003). Control of the burrowing nematode (*Radopholus similis* Cobb) on banana: impact of the banana field destruction method on the efficiency of the following fallow. *Crop protection*, 22(1), 121-127.
- Chaves, P., Pocasangre, L., Elango, F., Rosales, F. y Sikora, R. (2009). Combining endophytic fungi and bacteria for the biocontrol of *Radopholus similis* (Cobb) Thorne and for effects on plant growth. *Scientia Horticulturae*, 122(3), 472-478. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.05.025>.
- Chen, W., Laevens, S., Lee, T., Coenye, T., De Vos, P., Mergeay, M., y Vandamme, P. (2001). *Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Mimosa* species and sputum of a cystic fibrosis patient. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(Pt 5), 1729-1735. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-5-1729>.
- Chitamba, J., Manjeru, P., Chinheya, C. C., y Handiseni, M. (2014). Evaluation of legume intercrops on the population dynamics and damage level of burrowing nematode (*Radopholus similis*) in banana (*Musa* spp.). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47(6), 761-773. <https://doi.org/10.1080/03235408.2013.821759>.
- Crespo-Clas, Á. M., Canchignia-Martínez, H. F., y Fiallos, F. R. G. (2023). Nematodes and root system are affected by rhizobacterial consortium in the third generation of commercial banana plants. *Revista de agricultura neotropical*, 10(3), e7725-e7725.
- De Weert, S., Dekkers, C., Bitter, W., Tuinman, S., Wijfjes, A., van Bortel, R. y Lugtenberg B. (2006) The two-component Colr/s system of *Pseudomonas fluorescens* WCS365 plays a role in rhizosphere competence through maintaining the structure and function of the outer membrane. *FEMS microbiology ecology*, 58(2), 205-213. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00158.x>
- Dennis, P., Miller, A., y Hirsch, P. (2010). Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities?. *FEMS microbiology ecology*, 72(3), 313-327. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00860.x>.
- Döbereiner J. (1992). History and new perspectives of diazotrophs in association with nonleguminous plants. *Symbiosis* 13,1-13.
- Garrido, F., Cárdenas, M., Bonilla, R., y Baldani, L. (2010). Efecto de los factores edafoclimáticos y la especie de pasto en la diversidad de bacterias diazotroficas. *Pastos y Forrajes*, 33(4):1-12.
- Jones, D. L., Hodge, A., y Kuzyakov, Y. (2004a). Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition. *New phytologist*, 163(3), 459-480. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01130.x>.
- Jones, L., Nguyen C. y Finlay R. (2009b) Carbon flow in the rhizosphere: carbon trading at the soil-root interface. *Plant Soil*, 321, 5-33. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9925-0>.
- Kalay Sari, N., Kafkas, N. E., Oğuz, İ., y Özarlı, A. (2023). Effect of Sources of Nutrients and Nematicide Application on Fruit Yield, Quality and Nematode Density in Polyhouse Grown Banana (*Musa* AAA var. 'Azman'). *Erwerbs-Obstbau*, 1-14.
- Khalilian, A., Sullivan, M. J., Mueller, J. D., Shiralipour, A., Wolak, F. J., Williamson, R. E., y Lippert, R. M. (2002). Effects of surface application of MSW compost on cotton production-soil properties, plant responses, and nematode management. *Compost science and utilization*, 10(3), 270-279. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2002.10702089>.
- King, E. O., Ward, M. K., y Raney, D. E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 44(2), 301-307.
- Kosma, P., Ambang, Z., Begoude, B. A. D., Ten Hoopen, G. M., Kuatè, J., y Akoa, A. (2011). Assessment of nematicidal properties and phytochemical screening of neem seed formulations using *Radopholus similis*, parasitic nematode of plantain in Cameroon. *Crop protection*, 30(6), 733-738. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.02.026>.
- Kumar, A., Singh, A. K., y Choudhary, K. K. (Eds.). (2019). Role of plant growth promoting microorganisms in sustainable agriculture and nanotechnology. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817004-5.00001-4>
- Landa, B. B., Mavrodi, O. V., Raaijmakers, J. M., McSpadden Gardener, B. B., Thomashow, L. S., y Weller, D. M. (2002). Differential ability of genotypes of 2, 4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* strains to colonize the roots of pea plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(7), 3226-3237. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.7.3226->

- 3237.2002.
- Liu, G., and Shen, J. (2004a). Effects of culture and medium conditions on hydrogen production from starch using anaerobic bacteria. *Journal of bioscience and bioengineering*, 98(4), 251-256. [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(04\)00277-4](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(04)00277-4).
- Liu, L., Huang, X., Zhang, J., Cai, Z., Jiang, K., y Chang, Y. (2020b). Deciphering the relative importance of soil and plant traits on the development of rhizosphere microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 148, 107909. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107909>.
- Manzo-Sánchez, G., Orozco-Santos, M., Martínez-Bolaños, L., Garrido-Ramírez, E., y Canto-Canche, B. (2014). Diseases of quarantine and economic importance in banana tree (*Musa sp.*) in México. *Revista mexicana de fitopatología*, 32(2), 89-107.
- Martínez, H. F., Chávez-Arteaga, K., Guato-Molina, J., Peñafiel-Jaramillo, M., y Mestanza-Uquillas, C. (2018). Bacterias fluorescentes productoras de metabolitos antagónicos de cultivares nativos de *Musa sp.* y su diversidad filogenética al gen ARNr 16S. *Ciencia y Tecnología*, 11(2), 17-29. <https://doi.org/10.18779/cyt.v11i2.232>
- Mavrodi, O., Mavrodi, D., Park, A., Weller, D., y Thomashow, L. (2006). The role of *dsbA* in colonization of the wheat rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens* Q8r1-96. *Microbiology*, 152(3), 863-872. <https://doi.org/10.1099/mic.0.28545-0>.
- McDougal, B., y Rovira A. (1970) Sites of exudation of C-14-labelled compounds from wheat roots. *New Phytol* 69(4), 999–1003. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1970.tb02479.x>.
- Mendoza, A., Kiewnick, S., y Sikora A. (2008). *In vitro* activity of *Bacillus firmus* against the burrowing nematode *Radopholus similis*, the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*. *Biocontrol Science and Technology*, 18(4), 377–389. <https://doi.org/10.1080/09583150801952143>.
- Norton, J., Smith J., y Firestone M. (1990) Carbon flow in the rhizosphere of *Ponderosa pine*-seedlings. *Soil Biology and Biochemistry* 22(4), 449–455. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(90\)90177-2](https://doi.org/10.1016/0038-0717(90)90177-2).
- Nyang'au, D., Atandi, J., Cortada, L., Nchore, S., Mwangi, M., y Coyne, D. (2021). Diversity of nematodes on banana (*Musa spp.*) in Kenya linked to altitude and with a focus on the pathogenicity of *Pratylenchus goodeyi*. *Nematology*, 24(2), 137-147.
- Prashar, P., Kapoor, N., y Sachdeva, S. (2014). Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 13, 63-77. <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9317-z>.
- Riascos Ortiz, D. (2014). Los nematodos fitopatógenos como inductores de estrés biótico en plantas. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 5(2), 259-267.
- Ryan, P. R., Delhaize, E., y Jones, D. L. (2001). Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annual review of plant biology*, 52(1), 527-560.
- Santo, F. B. M., Montealegre, V. J. G., Romero, H. C., y Minuche, P. R. (2022). Análisis de la producción y exportaciones del sector bananero ecuatoriano en el periodo 2010-2020. *Polo del Conocimiento: Revista científico-profesional*, 7(8), 650-664.
- Singh, S., Singh, B., y Singh, A. P. (2015). Nematodes: A threat to sustainability of agriculture. *Procedia Environmental Sciences*, 29, 215-216. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2015.07.270>.
- Stover, R. H. (1966). Fungi associated with nematode and non-nematode lesions on banana roots. *Canadian Journal of Botany*, 44(12), 1703-1710. <https://doi.org/10.1139/b66-183>.
- Tsavkelova, E. A., Klimova, S. Y., Cherdyntseva, T. A., y Netrusov, A. I. (2006). Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Applied biochemistry and microbiology*, 42, 117-126. <https://doi.org/10.1134/S0003683806020013>.
- Vaca, E., Gaibor, N., y Kovács, K. (2020). Analysis of the chain of the banana industry of Ecuador and the European market. *Applied Studies in Agribusiness and Commerce*, 14(1-2), 57-65.
- Vanegas, A. M. M., Arenas, J. W., Omar Ocampo Jiménez, O., y Zulma Monsalve Fonnegra, I. (2023). Nematicidal activity and in vitro radical scavenging from *Piper cubmicola* and *Piper eriopodon*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 47, 102595.

