



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
CARRERA DE AGRONOMÍA (REDISEÑO)**

Proyecto de Investigación  
previo a la obtención del título  
de Ingeniero Agrónomo.

**Título del Proyecto de Investigación:**

Evaluación del índice de daño ocasionado por *Radopholus similis* y el efecto biocontrolador de las PGPRs como agente supresor en plántulas de banano cultivar Williams.

**AUTOR**

Flavio Cesar Valarezo Padilla

**Director del Proyecto de Investigación:**

Hayron Fabricio Canchignia Martínez. PhD.

**Quevedo – Los Ríos - Ecuador.**

**2022**

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS**

Yo, **Valarezo Padilla Flavio Cesar** declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, y por la normatividad institucional vigente.

---

**Valarezo Padilla Flavio Cesar**

**C.I: 120701759-9**

## **CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

El suscrito, Dr. Hayron Fabricio Canchignia Martínez de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la Egresado **Valarezo Padilla Flavio Cesar**, realizó el proyecto de investigación previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo titulado “Evaluación del índice de daño ocasionado por *Radopholus similis* y el efecto biocontrolador de las PGPRs como agente supresor en plántulas de banano cultivar Williams.”, bajo mi dirección, habiendo cumplido con todas las disposiciones reglamentarias establecidas.

---

Hayron Fabricio Canchignia Martínez. PhD.

**DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

# CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO



## Document Information

---

Analyzed document	VALAREZO URKUND.docx (D138860615)
Submitted	2022-06-01T16:16:00.0000000
Submitted by	
Submitter email	hcanchignia@uteq.edu.ec
Similarity	3%
Analysis address	hcanchignia.uteq@analysis.urkund.com

## Sources included in the report

---

<b>SA</b>	<b>UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO / Jorge Luis Rodríguez.docx</b>	 <b>3</b>
	Document Jorge Luis Rodríguez.docx (D42727898)	
	Submitted by: hcanchignia@uteq.edu.ec Receiver: hcanchignia.uteq@analysis.urkund.com	
<b>SA</b>	<b>UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO / TESIS VICTOR GARCIA CHICO 5-8-21 URKUND.docx</b>	 <b>6</b>
	Document TESIS VICTOR GARCIA CHICO 5-8-21 URKUND.docx (D111010422)	
	Submitted by: hcanchignia@uteq.edu.ec Receiver: hcanchignia.uteq@analysis.urkund.com	



Escanea el código QR para:  
HAYRON FABRICIO  
CANCHIGNIA  
MARTINEZ

---

Hayron Fabricio Canchignia Martínez. PhD.  
**DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
CARRERA DE AGRONOMÍA (REDISEÑO)**

**TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:**

**“Evaluación del índice de daño ocasionado por *Radopholus similis* y el efecto biocontrolador de las PGPRs como agente supresor en plántulas de banano cultivar Williams.”**

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo.

**Aprobado por:**

---

Ing. Daniel Vera Avilés, PhD

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

---

Dra. Mayra Carolina Vélez Ruiz  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

Ing. Luis Tarquino Llerena Ramos, M. Sc.  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**Quevedo – Los Ríos- Ecuador**

**2022**

## **AGRADECIMIENTO**

Como redactor del presente trabajo investigativo quiero agradecer a:

Agradezco a mi padre y ciertos familiares que brindaron su apoyo, que impartieron en mi conocimientos y experiencia.

Estoy en justa razón gratificar a mi Director de tesis, Dr. Hayron Canchignia Martínez, por su enseñanza, apoyo y amistad; por permitirme desenvolverme profesionalmente.

A la Dra. Mayra Vélez por tenerme paciencia y guiarme en algunos puntos académicos.

A mi novia Teresa Manzo por su grata y sincera ayuda que me brindo durante todo el proceso de la investigación.

Al Ing. Luis Vera por su sincera amistad, por compartir momentos y conocimientos durante mi carrera universitaria.

Gracias.

***Flavio Valarezo Padilla***

## DEDICATORIA

Esta meta en mi vida se la dedico principalmente a mi padre Flavio Alfonso Valarezo Gamarra, quien me ha inculcado ser perseverante y luchador por los objetivos que me planteé. Gracias por ese gran apoyo incondicional, paciencia y aún más de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

Agradezco a familiares que me han enseñado principios de vida, de cómo ser mejor persona. Gracias por compartir experiencias y conocimientos.

A mis compañeros de laboratorio por su confianza y brindar momentos especiales.

*Flavio Valarezo Padilla*

## RESUMEN

El empleo de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPRs), inducen varios aportes positivos al control de fitopatógenos, promueven la recuperación y conservación de suelos, aumenta la fertilidad y productividad del suelo, además incita el crecimiento intracelular (iPGPR). Mientras que el uso continuo de nematicidas provoca alteraciones en el metabolismo del nemátodo infiriendo variaciones a la siguiente filogenia, además que repercute a la microbiota. El objetivo principal de esta investigación es evaluar el índice de daño ocasionado por *Radopholus similis* y el efecto biocontrolador de las PGPRs como agente supresor en plántulas de banano cultivar Williams'. Dado el estudio, después de la aclimatación de las plántulas se aplicó *R. similis* con poblaciones iniciales entre 10.000 – 15.000, posterior a 30 días se realizó 4 repoblamiento cada 7 días con una densidad de 8 000 – 10 000. Las cepas *Acinobacter calcoaceticus* (BMR 2/12), *Serratia marcescens* (PM 3/8), *Pseudomonas Protegens* (CHA0) y *Enterobacter asburiae* (PM 3/14); fueron preparadas en diferentes bioformulados, para ser aplicadas 30 días después de la inoculación de *R. similis*. Como resultado, el crecimiento bacteriano en bioformulados adecuados presenta mayor concentración celular de  $9.70E+09$  UFC/ul. La interacción de las bacterias endófitas demuestra cargas elevadas de UFC/ul iniciando con  $3.00E+09$  hasta terminar con  $2.50E+09$  demostrando un crecimiento celular constante, así mismo en su estabilidad celular sobre la rizosfera que permite cargas de  $1.26E+10$  UFC/ul. Los compuestos bioactivos producidos por las bacterias PGPRs incide sobre la presencia de *R. similis* limitando su movilidad y reproducción; exhibiendo índices de daños de hasta 12.28% y densidades poblacionales mínimas de 1.000/100 gramos raíz. La capacidad de disminuir la viabilidad del nematodo *R. similis* y la permanencia de la bacteria (iPGPR o ePGPR) incita al empleo de alternativas de origen ecológico para la biofertilización, bioestimulación y biocontrol de los cultivos de banano.

**Palabras claves:** *Radopholus similis*, PGPRs, banano Williams, efecto biocontrolador, consorcio bacteriano.

## ABSTRACT

The use of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPRs), induce several positive contributions to the control of phytopathogens, promote soil recovery and conservation, increase soil fertility and productivity, and also encourage intracellular growth (iPGPR). While the continuous use of nematicides causes alterations in the metabolism of the nematode, inferring variations to the following phylogeny, it also affects the microbiota. The main objective of this research is to evaluate the rate of damage caused by *Radopholus similis* and the biocontrol effect of PGPRs as a suppressive agent in seedlings of banana cultivar Williams'. Given the study, after the acclimatization of the seedlings, *R. similis* was applied with initial populations between 10,000 - 15,000, after 30 days, 4 repopulations were carried out every 7 days with a density of 8,000 - 10,000. The *Acinobacter calcoaceticus* strains (BMR 2/12), *Serratia marcescens* (PM 3/8), *Pseudomonas Protegens* (CHA0) and *Enterobacter asburiae* (PM 3/14); were prepared in different bioformulates, to be applied 30 days after the inoculation of *R. similis*. As a result, bacterial growth in suitable bioformulates presents a higher cell concentration of  $9.70E+09$  CFU/ul. The interaction of the endophytic bacteria shows high loads of CFU/ul starting with  $3.00E+09$  and ending with  $2.50E+09$ , demonstrating constant cell growth, as well as its cell stability on the rhizosphere that allows loads of  $1.26E+10$  CFU. /ul. The bioactive compounds produced by the PGPRs bacteria affect the presence of *R. similis*, limiting its mobility and reproduction; exhibiting damage rates of up to 12.28% and minimum population densities of 1,000/100 root grams. The ability to reduce the viability of the *R. similis* nematode and the permanence of the bacteria (iPGPR or ePGPR) encourages the use of alternatives of ecological origin for biofertilization, biostimulation and biocontrol of banana crops.

**Keywords:** *Radopholus similis*, PGPRs, Williams banana, biocontrol effect, bacterial consortium.

## TABLA DE CONTENIDO

### Portada

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS .....	ii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	iii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO .....	iv
AGRADECIMIENTO .....	vi
DEDICATORIA.....	vii
RESUMEN .....	viii
ABSTRACT .....	ix
TABLA DE CONTENIDO .....	x
ÍNDICE DE TABLAS.....	xv
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xv
ÍNDICE DE ANEXO .....	xvi
CÓDIGO DUBLÍN .....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1

### Capítulo I. Contextualización de la investigación

1.1 Planteamiento del Problema .....	3
1.1.1 Diagnóstico .....	3
1.1.2 Sistematización del Problema.....	3
1.2 Justificación .....	4
1.3 Objetivos.....	5
1.3.1 Objetivo General.....	5
1.3.2 Objetivo Específico .....	5

## Capítulo II. Marco Teórico

2.	Cultivo de Banano.....	7
2.1	Importancia del Cultivo de Banano. ....	7
2.2	Crecimiento y Desarrollo del Banano.....	7
2.3	Plagas y Enfermedades del Banano. ....	8
2.4	Pérdidas Económicas Causadas por Nematodos en Banano. ....	9
2.5	Pérdidas a las Plantas Causadas por Nematodos en el Cultivo de Banano. ....	9
2.6	Parasitismo de los Nematodos en Banano. ....	10
2.6.1	Patógeno .....	10
2.6.2	Parasitismo del Patógeno.....	10
2.6.3	Ciclo de Vida de <i>Radopholus similis</i> .....	10
2.7	Las Rizobacterias Promotoras Del Crecimiento Vegetal (PGPRs). ....	11
2.7.1	Mecanismo De Acción .....	11
2.7.2	<i>Acinobacter Calcoaceticus</i> .....	12
2.7.3	<i>Serratia Marcesns</i> .....	12
2.7.4	<i>Pseudomonas Protegens</i> .....	12
2.7.5	<i>Enterobacter Asburiae</i> .....	12
2.8	Requerimientos Nutricionales para Microorganismos. ....	12
2.9	Medios de Cultivos Alternativos. ....	13

## Capítulo III. Metodología de la Investigación

3.1	Localización de la Investigación.....	15
3.2	Tipo de Investigación .....	15
3.3	Método de Investigación.....	16
3.4	Fuentes de Recopilación de Información .....	16
3.5	Diseño de la Investigación.....	16

3.5.1	Material Genético .....	16
3.6	Factores de Estudio.....	17
3.7	Diseño Experimental .....	18
3.7.1	Diseño para la Aplicación de las PGPRs en las Plantas de Banano Inoculadas con <i>R. similis</i> en Vivo.....	18
3.7.2	Características del Área de Investigación.....	18
3.8	Manejo del Experimento.....	20
3.8.1	Preparación de Pre-Inóculo en Medio King B.....	20
3.8.2	Elaboración de Bioformulado para el Desarrollo de la Combinación de PGPRs.....	21
3.8.3	Aislamiento del Nematodo .....	21
3.8.4	Reproducción e Inoculación del Nematodo <i>Radopholus similis</i> en Plántulas de Banano Cultivar Williams.....	22
3.8.5	Inoculación Edáfica de PGPRs en Plántulas de Banano que Contienen <i>R. similis</i> . .....	23
3.8.5.1	Preparación del Sustrato.....	23
3.8.5.2	Inoculación de las PGPRs en Plantas de Banano.....	23
3.8.5.3	Aplicación de Nematicidas. ....	23
3.8.6	Análisis Foliar.....	23
3.9	Labores de Mantenimiento a las Plántulas de Banano. ....	24
3.9.1	Fertilización Edáfica: .....	24
3.9.2	Fertilización Foliar: .....	24
3.9.3	Deshoje .....	24
3.9.4	Manejo Hídrico .....	24
3.10	Datos a Evaluar y Formas de Medición.....	25
3.10.1	Variables de Laboratorio .....	25
3.10.1.1	Carga Microbiana.....	25
3.10.1.2	Presencia de Bacterias PGPRs en el Sistema Foliar. ....	25

3.10.1.3	Presencia de PGPRs en el Suelo. ....	26
3.10.1.4	Cuantificación De Clorofila. ....	27
3.10.2	Variables Agronómicas .....	28
3.10.2.1	Ritmo de Emisión Foliar. ....	28
3.10.2.2	Altura de Planta (cm). ....	30
3.10.2.3	Diámetro de Pseudo tallo (cm). ....	30
3.10.2.4	Longitud de la Hoja 3 (cm). ....	30
3.10.2.5	Ancho de la Hoja 3 (cm). ....	31
3.10.2.6	Numero de Hojas (n.º). ....	31
3.10.2.7	Longitud Radicular (cm). ....	31
3.10.2.8	Peso Total de Raíces por Planta (g). ....	31
3.10.2.9	Peso Fresco de Planta (g). ....	31
3.10.2.10	Peso Seco de la Planta (g). ....	32
3.10.2.11	Análisis Nematológico en Raíces de Banano Cultivar Williams´. ....	32
3.10.2.12	Análisis Foliar. ....	32
3.10.3	Materiales y Equipos .....	32
3.10.3.1	Materiales de Laboratorio .....	32
3.10.3.2	Equipos de Laboratorio. ....	33
3.10.3.3	Materiales de Oficina .....	33
3.10.3.4	Materiales de Campo .....	33

## **Capítulo IV. Resultado y Discusión**

4.1	Resultados .....	36
4.1.1	Carga Bacteriana de los Consorcios en Bioformulados. ....	36
4.1.2	Presencia de Bacterias PGPRs en el Sistema Foliar. ....	37
4.1.3	Presencia de Bacterias PGPRs en Suelo .....	38

4.1.4	Cuantificación de Clorofila.....	40
4.1.5	Emisión Foliar .....	40
4.1.6	Altura y Diámetro de la Planta .....	41
4.1.7	Número de Hojas .....	42
4.1.8	Longitud y Ancho de la Hoja.....	43
4.1.9	Longitud Radicular .....	44
4.1.10	Peso Radicular .....	45
4.1.11	Peso Fresco y Seco del Pseudo Tallo. ....	46
4.1.12	Peso Fresco y Seco de la Hoja.....	46
4.1.13	Análisis Nematológico.....	48
4.1.14	Análisis Foliar.....	49
4.2	Discusión .....	51

## **Capítulo V. Conclusiones y Recomendaciones**

5.1	Conclusiones.....	55
5.2	Recomendaciones .....	56

## **Capítulo VI. Bibliografía**

6.1	Bibliografía.....	58
-----	-------------------	----

## **Capítulo VII. Anexo**

7.1	Anexo.....	64
-----	------------	----

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones agroclimáticas del sitio experimental. ....	15
Tabla 2 .Tratamientos empleados.....	17
Tabla 3. Esquema del Análisis de Varianza de la inoculación de las bacterias y <i>Radopholus similis</i> en plantas de banano cultivar Williams... ..	18
Tabla 4 .Características de las unidades experimentales.....	18
Tabla 5 .Características de las unidades evaluados.....	19
Tabla 6. Días a evaluar la presencia de bacterias PGPRs en la parte aérea de la planta. ....	26
Tabla 7. Días a evaluar la presencia de bacterias PGPRs en el suelo.....	26
Tabla 8 .Días a evaluar la cuantificación de clorofila. ....	27
Tabla 9 .Días a evaluar la emisión floral.....	28
Tabla 10 .Estadío de la hoja candela. ....	29
Tabla 11 .Análisis nematológico de raíces de banano.....	48
Tabla 12 .Análisis foliar de plántulas de banano empleando el uso de bacterias PGPRs .....	50

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 .Carga bacteriana de los tres consorcios .....	36
Figura 2 .Presencia de bacterias endófitas en las hojas de banano variedad Williams .....	38
Figura 3 .Presencia de bacterias rizosféricas asiladas del suelo propias de plántulas de banano.....	39
Figura 4 .Análisis de los niveles de clorofila A (CLA) y clorofila total (CLT) .....	40
Figura 5 .Emisión foliar de las plántulas de banano cultivar Williams.....	41
Figura 6 .Altura y diámetro de la planta de banano.....	42
Figura 7 .Número de hojas de la planta de banano.....	43
Figura 8 .Longitud y ancho de la hoja tres de la planta de banano .....	44
Figura 9 .Longitud radicular de plántulas de banano .....	45
Figura 10. Peso radicular de plántulas de banano .....	46
Figura 11 .Peso fresco y seco del pseudo tallo de plántulas de banano .....	47
Figura 12 .Peso fresco y seco del área foliar de plántulas de banano .....	47

## ÍNDICE DE ANEXO

Anexo 1. Identificación morfológica de <i>Radopholus similis</i> . .....	64
Anexo 2. Daños en las raíces de banano provocados por <i>Radopholus similis</i> . .....	64
Anexo 3 .Plántulas de banano cultivar Williams.....	65
Anexo 4 .Recolección de raíces de bananera establecida.....	66
Anexo 5 .Recolección de muestras foliar para el análisis de clorofila. ....	66
Anexo 6. Aislamiento de bacterias endófitas del área foliar. ....	67

## CÓDIGO DUBLÍN

Título:	“Evaluación del índice de daño ocasionado por <i>Radopholus similis</i> y el efecto biocontrolador de las PGPRs cómo agente supresor en plántulas de banano cultivar Williams”
Autor:	Valarezo Padilla Flavio Cesar
Palabras clave:	<i>Radopholus similis</i> , PGPRs, banano Williams, efecto biocontrolador, consorcio bacteriano.
Fecha de publicación:	
Editorial:	Quevedo: UTEQ 2020
Resumen: (hasta 300 palabras)	<p>El empleo de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPRs), inducen varios aportes positivos al control de fitopatógenos, promueven la recuperación y conservación de suelos, aumenta la fertilidad y productividad del suelo, además incita el crecimiento intracelular (iPGPR). Mientras que el uso continuo de nematicidas provoca alteraciones en el metabolismo del nemátodo infiriendo variaciones a la siguiente filogenia, además que repercute a la microbiota. El objetivo principal de esta investigación es evaluar el índice de daño ocasionado por <i>Radopholus similis</i> y el efecto biocontrolador de las PGPRs como agente supresor en plántulas de banano cultivar Williams’. Dado el estudio, después de la aclimatación de las plántulas se aplicó <i>R. similis</i> con poblaciones iniciales entre 10.000 – 15.000, posterior a 30 días se realizó 4 repoblamiento cada 7 días con una densidad de 8 000 – 10 000. Las cepas <i>Acinobacter calcoaceticus</i> (BMR 2/12), <i>Serratia marcescens</i> (PM 3/8), <i>Pseudomonas Protegens</i> (CHA0) y <i>Enterobacter asburiae</i> (PM 3/14); fueron preparadas en diferentes bioformulados, para ser aplicadas 30 días después de la inoculación de <i>R. similis</i>. Como resultado, el crecimiento bacteriano en bioformulados adecuados presenta mayor concentración celular de 9.70E+09 UFC/ul. La interacción de las bacterias endófitas demuestra cargas elevadas de UFC/ul iniciando con 3.00E+09 hasta terminar con 2.50E+09 demostrando un crecimiento celular constante, así mismo en su estabilidad celular sobre la rizosfera que permite cargas de 1.26E+10 UFC/ul. Los compuestos bioactivos producidos por las bacterias PGPRs incide sobre la presencia de <i>R. similis</i> limitando su movilidad y reproducción; exhibiendo índices de daños de hasta 12.28% y densidades poblacionales mínimas de 1.000/100 gramos raíz. La capacidad de disminuir la viabilidad del nematodo <i>R. similis</i> y la permanencia de la bacteria (iPGPR o ePGPR) incita al empleo de alternativas de origen ecológico para la biofertilización, bioestimulación y biocontrol de los cultivos de banano.</p>
Descripción:	Hojas: dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM 6162
URI:	

## INTRODUCCIÓN

La producción del banano en el Ecuador, presenta como una de las limitantes en el desarrollo vegetativo y producción, la presencia de nematodos fitoparásitos; *Radopholus similis* que generalmente se encuentran poblaciones del 70%, desplegándose poblaciones altamente concentradas en 0-30 cm del pseudo tallo (1). Las infestaciones de este parásito obligado provocan pérdidas en el sistema radicular de la planta que indirectamente se ve afectado todo un proceso fisiológico; la reducción de masa radicular a niveles extremos provoca volcamientos de las plantas.

El uso consecutivo de nematicidas eficientes inducen a la eliminación o disminución de ciertas cantidades de parásitos subterráneos. Las altas dosis y frecuencias sucesivas de estos químicos orientan hacia una agricultura con alta demanda de materia orgánica, microorganismos benéficos que inducen el antagonismo hacia patógenos infecciosos e incluso ascienden a un ambiente con índices de toxicidad progresiva hacia los humanos.

Por lo contrario, las rizobacterias o también llamadas PGPRs expresan capacidades a la planta con un crecimiento normalizado e incluso hasta mejorado, ya que estas solubilizan minerales, producen fitohormonas, degradan la pared celular del patógeno, etc. (21). Cabe destacar que este conjunto de microorganismos benéficos, actúan como agentes biocontroladores hacia nematodos de todo género, además generan un mecanismo de resistencia sistémica inducida (ISR) (31).

La siguiente investigación busca obtener resultados sobre la capacidad de consorcios bacterianos, con el fin de desarrollar el fitomejoramiento de los cultivos, promover el manejo de rizobacterias en campo abierto, reducir o erradicar la dependencia de los nematicidas y restaurar o aumentar la fertilidad de los suelos bananeros.



## **CAPÍTULO I**

# **CONCEPTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

## **1.1 Planteamiento del Problema**

La preocupación de muchos agricultores que manifiestan los daños ocasionados por este parásito son cada vez mayores, además declaran que las prevenciones o controles son cada vez más frecuentes acompañado con aumentos de dosis extremas para así sostener la productividad de sus cultivos. Debido a este aumento y dosis elevadas los suelos decaen con deficiencias de nutrientes, microfauna, materia orgánica. Además, provoca problemas a futuras zonas erosionadas.

### **1.1.1 Diagnóstico**

El banano es un cultivo considerado clave para la economía del Ecuador, sin embargo, las afecciones que padece este cultivo provocan pérdidas de producción, a causa de nematodos endoparásitos que están obligados a alimentarse de las raíces. *Radopholus similis* considerado como uno de los fitopatógenos que más problema presenta las plantaciones de banano, presentando un ciclo de vida muy corto. Las altas poblaciones nematodológicas y contrariedades para detectar esta especie impide la correcta erradicación del fitoparásito.

### **1.1.2 Sistematización del Problema.**

En base a la problemática abordada anteriormente se plantea las siguientes directrices:

¿Qué potencial biocontrolador se obtendría de un consorcio de PGPRs como agente antagónico hacia nematodos *Radopholus similis*?

¿De qué manera los consorcios bacterianos generan tolerancia o resistencia a las plántulas de banano cultivar Williams' expuestas a nematodos fitoparásitos?

¿Hasta qué punto las bacterias PGPRs producirán sus efectos benéficos y como sustituirá a los nematicidas?

## 1.2 Justificación

Las rizobacterias o también conocidas como PGPRs poseen capacidades únicas que cualquiera otra forma de vida no la ejercen, este conjunto de organismos que provienen del reino más primitivo y uno de los fundadores de la vida, inducen antagonismos a diversos fitopatógenos, promueven y producen el desdoblamiento de nutrientes, asimilan nutrientes y facilita su movilidad dentro de la planta.

En particular, la aplicación de rizobacterias en suelos infectados con *Meloidogyne incognita* permite un control en la propagación de nematodos. Dado que afectan a la morfología de los huevos y de los juveniles (J2) de *M. incognita*. Además, cepas bacterianas poseen la capacidad de inhibir el crecimiento micelial de hongos fitopatógenicos (*Fusarium* sp., *Verticillium* sp., *Cephalosporium* sp., etc.). En conclusión, las PGPRs establece una alta eficiencia como biocontrolador y bioestimulante vegetal muy similar a los productos químicos disponibles actualmente; contribuyendo a sustraer la continuidad de plaguicidas en el alza de residuos químicos en aguas subterráneas, suelos y alimentos.

## **1.3 Objetivos**

### ***1.3.1 Objetivo General***

Evaluar el índice de daño ocasionado por *Radopholus similis* y el efecto biocontrolador de las PGPRs como agente supresor en plántulas de banano cultivar Williams´.

### ***1.3.2 Objetivo Específico***

1. Analizar el índice de daños ocasionados por *Radopholus similis* en plántulas de banano in vivo.
2. Establecer el impacto que tienen las PGPRs en plántulas de banano cultivar Williams´ sobre los parámetros morfológicos y fisiológicos en presencia de *Radopholus similis*.
3. Determinar la eficiencia nutricional del banano cultivar Williams´ por aplicaciones de PGPRs en presencia de *Radopholus similis*.

**CAPÍTULO II**  
**MARCO TEÓRICO**

## **2. Cultivo de Banano**

### **2.1 Importancia del Cultivo de Banano.**

El cultivo de banano es considerado como una fruta tropical y de alto valor nutricional, promoviendo una alta rentabilidad a sus productores siendo cultivada en países de climas tropicales entre uno de ellos se destaca Ecuador, uno de los países con mayores exportaciones, además es el principal rubro de ingresos económicos y la calidad de este permite la sostenibilidad del sector primario (2).

El banano representa el 2% del PIB general y el 35% del PIB agrícola (Producto Interno Bruto) donde destacan provincias productoras tales como: El Oro, Los Ríos y el Guayas, debido a su alta demanda y preferencia en mercados internacionales. Los suelos ecuatorianos deben ser sometidos a varias aplicaciones de altas frecuencias de agroquímicos para así mantener o aumentar la producción, que dicho evento repercute al ecosistema biológico y bioquímico (3).

### **2.2 Crecimiento y Desarrollo del Banano.**

El desarrollo depende del factor progresivo de las hojas desde la emisión foliar y durante el desarrollo de los frutos, siendo esta que involucra los fotoasimilados, se considera que emite entre 35 – 36 hojas en la fase vegetativa, que dicha emisión dependerá de la época del año, época de lluvias fluctúa una hoja / semana y época seca 0,4 a 0,6/ semana. Tanto así que manifiesta un total de 30 a 50 hojas por cada ciclo, en las cuales 10 a 14 hojas son las que promueven la fotosíntesis. La fase reproductiva básicamente trata del desarrollo y llenado de los frutos dependiendo de la fase vegetativa (4).

En base al crecimiento, una buena fertilización mejora las condiciones nutricionales y optimiza el crecimiento de la mata, la incorporación de Nitrógeno y Potasio, dos elementos de gran importancia para su crecimiento, como respuesta a la aplicación de nitrógeno (N) en dosis de 320 kg/ha/año, se logra obtener mayor productividad y rentabilidad y potasio (K) elemento demandado en dosis altas para conservar una nutrición equilibrada. Por otra parte, elementos tales

como el fósforo, magnesio, calcio, hierro, cobre, zinc y manganeso son requeridos en cantidades más bajas (5,25).

### **2.3 Plagas y Enfermedades del Banano.**

Los factores bióticos provocan pérdidas que inducen a limitaciones de desbalances productivos y económicos. Las plagas y enfermedades, tiene como consecuencia a un impacto de las pérdidas de cultivos relacionadas en la seguridad alimentaria de los hogares para los cultivos clave de raíz, tubérculo y banano (RTB). En lo cual se estima que la por estas limitantes, provoca pérdidas hasta un 29% en banano, además reducen la rentabilidad de los cultivos de RTB, amenazan la seguridad alimentaria y desincentivan la inversión (6).

Las principales causas de pérdidas en el cultivo de banano se deben al picudo negro (*Cosmopolites sordidus*), el Mal de Panamá (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*) (Foc) la cual causa marchitamiento basal, la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) que es considerada la enfermedad foliar más destructiva y nematodos excavadores (7). Además, Guevara. (8) menciona que para controlar las enfermedades fungosas representa un alto costo de producción.

Según Velazco *et al.* (9) menciona que la presencia de comunidades poliespecíficas de nemátodos involucran *Radopholus similis*, *Helicotylenchus* spp., *Pratylenchus* spp. y *Meloidogyne* spp, en lo cual argumenta que las lesiones inducidas por este tipo de plagas son muy variables y reducen las plantaciones comerciales del Ecuador, con una pérdida por racimo de hasta 4,75 kg.

Los análisis de la diversidad funcional de los nematodos requieren aspectos como la relación que se tiene entre la diversidad biológica y el funcionamiento del ecosistema, ya sea terrestre naturales y gestionados. En lo cual se enfoca básicamente el impacto y el valor en la diversidad de nematodos del suelo (27). Por lo consiguiente Lazarova *et al.* (10) explica que los dos cultivos que se examinan con más detalles en la agricultura son climas tropicales / subtropicales (banano) y templados (manzanas).

Las múltiples facetas del análisis para este tipo de parásitos, representan tareas complejas que requieren la integración de diferentes conocimientos interdisciplinarios. En lo cual se debe

comprender la base evolutiva de la diversidad de nematodos a nivel de campo y su respuesta a los cambios actuales, así también como la biología evolutiva, la genética de poblaciones y la ecología. Podemos agregar que influye a la transformación de carbono, ciclo de nutrientes, control de plagas y transmisión de enfermedades. Para concluir con las relaciones entre nematodo-suelo-ecosistema se debe reconocer los grupos tróficos, rasgos del ciclo de vida, variabilidad en el tamaño corporal y/o identidades de taxones en combinación con técnicas basadas en el ADN (10).

#### **2.4 Pérdidas Económicas Causadas por Nematodos en Banano.**

Los nematodos causan pérdidas a nivel mundial en la producción de banano. Por tal motivo Tripathi *et al.* (11) manifiestan que las aplicaciones de nematicidas en una variedad de países africanos ha demostrado respuestas de rendimiento de  $71 \pm 16\%$  durante 3 años después de la aplicación. A propósito, Singh *et al.* (12) anuncia que los daños ocasionados por nematodos son mayores en comparación a los perjuicios que ocasionan los insectos.

De igual forma el rendimiento se ve afectado en varios países, causando pérdidas proyectadas del 12,3% (\$157 mil millones de dólares) en todo el mundo. De los cuales \$40,3 millones provienen de la India. En cultivos de tomates se gasta una cantidad estimada de \$500 millones en el control de nematodos globalmente (12).

Las enfermedades de los nematodos son difíciles de controlar debido a su naturaleza oculta y, por lo tanto, a menudo se pasan por alto. Los nematodos parásitos de las plantas no solo causan daños individualmente, sino que forman complejos de enfermedades con otros microorganismos y aumentan la pérdida de cultivos. Por esta razón los agricultores identificaron las plagas de insectos y otras limitaciones como problemas de producción, pero pasaron por alto los nematodos parásitos de las plantas (12).

#### **2.5 Pérdidas a las Plantas Causadas por Nematodos en el Cultivo de Banano.**

Las principales plagas de nematodos del banano son las especies migratorias *Radopholus similis*, *Pratylenchus goodeyi*, *P. coffeae*, *Helicotylenchus multicinctus* y *Meloidogyne spp.* El

endoparásito migratorio *R. similis* se considera el más dañino, causa una necrosis de raíces extensa a medida que el nemátodo migra a través de la alimentación de las raíces. Esto reduce la función de las raíces y compromete el anclaje de la planta, lo que provoca que se caiga durante las tormentas (21).

## **2.6 Parasitismo de los Nematodos en Banano.**

El parasitismo es caracterizado por los sitios de alimentación permanentes a manera de células gigantes en el córtex, endodermis, periciclo y parénquima vascular. Estos sitios son sumideros de fotosintatos, por esta razón retardan el equilibrio de la planta (13).

### **2.6.1 Patógeno**

*Radopholus similis*, endoparásito migratorio obligado que se alimenta e infecta a las raíces, cormos de banano y otros tejidos subterráneos. Esta especie se ha extendido en las principales regiones productoras de banano, distribuyéndose ampliamente en algunos países de Europa, Asia, África, las Chabrier y Queneherve (14). Los machos presentan un cuerpo con una región cefálica alta y redondeada, el estilete y esófago reducidos, mientras que las hembras su región cefálica es baja y su estilete es bien desarrollado (15).

### **2.6.2 Parasitismo del Patógeno.**

Roosvelt (15) afirma que *R. similis* posee la capacidad de perforar con su estilete las paredes de las células corticales, alimentándose del citoplasma y que al mismo tiempo realice vacíos dentro de la raíz; generando así deficiencias de nutrientes e impidiendo el transporte vascular de agua. De igual manera Shing (12) menciona que los daños más importantes son en el sistema radicular de la planta, que muestran lesiones oscuras y migran a otro huésped cuando las células de dicha son destruidas.

### **2.6.3 Ciclo de Vida de *Radopholus similis***

Todas las fases se desarrollan en el interior de la raíz, el ciclo de es de 20 -25 días y su reproducción de manera anfimixis (16). De acuerdo con lo antes mencionado las hembras ovipositan durante

varios días, que puede llegar hasta 8 000 nematodos en una sola lesión, en lo cual estos huevecillos se incuban, desarrollan y reproducen (17).

## **2.7 Las Rizobacterias Promotoras Del Crecimiento Vegetal (PGPRs).**

La microflora del suelo juega un papel fundamental para estructurar una buena relación suelo-biológico, aumentando así la fertilidad y productividad del suelo. Por esta razón las inoculaciones de bacterias con potencial agroecológico son de suma importancia. Promueven el crecimiento y mejora la resistencia contra factores bióticos y abióticos (18).

### **2.7.1 Mecanismo De Acción**

Entre los mecanismos de las bacterias (PGPR) de mayor importancia se tiene como la solubilización de fosfatos, producción de sideróforos, fijación de nitrógeno, producción de 1-Aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa (ACC), señalización de quorum (QS), formación de biopelículas, producción de fitohormonas, etc (19).

Del mismo modo Ajay *et al.*, (18) menciona que los componentes implicados mejoran la productividad agrícola incluyen la homeostasis hormonal, recursos de nutrientes, disminución de contaminantes, además comprende la estimulación indirecta de antibióticos, enzimas extracelulares y resistividad de patógenos por la producción de sideróforos,  $\beta$ -1,3- glucanasa, quitinasas, antibióticos, pigmento fluorescente y cianuro. Mendoza *et al* (28) menciona que mediante la fermentación de microorganismo aeróbicos son capaces de producir metabolitos secundarios a tempranas reproducciones celulares.

Los efectos promotores del crecimiento de la planta (PGPR) ejercen un alto nivel benéfico ante los problemas desequilibrantes de nutrientes, tolerancia a heladas o sequías, aguante a enfermedades e infecciones causadas por insectos o nematodos, con el objetivo de recuperar y mejorar suelos desgastados. Dicho esto, se someterán a nuevos estudios las cepas del género *Acinobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* y *Enterobacter* las cuales ya han sido estudiadas y aplicadas en diversos ensayos experimentales in vivo e in vitro (20, 33).

### **2.7.2 *Acinobacter Calcoaceticus***

La especie de bacterias gramnegativas *A. calcoaceticus* son capaces de suprimir infecciones, además promueve el crecimiento de la planta, aislante del fosfato tricalcio y es productora de giberelinas, sideróforos, auxinas, amoníaco y disminuye el pH (19). Además, Canchignia *et al* (31) menciona que es productora de Pirrolnitrina.

### **2.7.3 *Serratia Marcesns***

La cepa *S. marcesns* perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, bacteria Gran-negativa; inviste una alta actividad de resistencia a enfermedades, productora de metabolitos secundarios, HCN, Prn y sideróforos (31).

### **2.7.4 *Pseudomonas Protegens***

La rizobacterias mas estudiada por su capacidad de inhibición contra bacterias, hongos, nematodos y virus (*P. protegens*). Induce el SAR en la planta como medio de defensa contra patógenos, además promueve AIA, HCN y antibióticos (19,32). Cabe mencionar que antibióticos producidos por la bacteria es capaz de degradar los huevecillos de los nematodos (29).

### **2.7.5 *Enterobacter Asburiae***

*Enterobacter asburiae* es una bacteria Gram-negativa, aeróbicos facultativos, móviles por medio de flagelos peritricosos (31).

## **2.8 Requerimientos Nutricionales para Microorganismos.**

Estos organismos procariotas desarrollan su curva de crecimiento en hábitat facultativo, ósea que los nutrientes esenciales están disponibles. El C, N y P son requeridos en grandes cantidades, mientras que K, Cu, Ni Y Mo demandan cantidades más pequeñas. Muchos de estos nutrientes son primordiales para la síntesis de moléculas, como nucleicos, vitaminas, coenzimas, entre otras y en caso de Mg ayuda como cofactor enzimático. Finalizando lo antes mencionado estos organismos

microscópicos requieren de agua, energía, carbono, nitrógeno, minerales y vitaminas para desarrollar su ciclo de vida al igual de todo ser vivo (20).

### **2.9 Medios de Cultivos Alternativos.**

Los medios alternativos o también llamados bioformulados son utilizados para el crecimiento de microorganismos y suelen ser muy rentables para reducir costos de producción y mejorar la calidad de un consorcio tradicional, ya que al no implementar estos medios la producción a gran escala resulta en gastos elevados. Se componen de melaza, nitrógeno, sales y fuentes orgánicas.

## **CAPÍTULO III**

# **METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### 3.1 Localización de la Investigación.

La investigación se realizó en el laboratorio e invernadero de Microbiología y Biología Molecular, ubicados en el Campus Experimental “La María” propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), ubicada en el km 7,5 de la vía Quevedo- Mocache, provincia de Los Ríos –Ecuador. Ubicada a 01° 04’ 48.6” de latitud sur y 79° 30’04.2” de longitud oeste y, a una altitud de 85 msnm.

**Tabla 1**

*Condiciones agroclimáticas del sitio experimental.*

<b>Parámetros</b>	<b>Promedio</b>
Temperatura media	25.0 °C
Humedad relativa, %	84%
Precipitación	2286.60 mm
Heliofania, horas luz año- 1	894.0
Zona ecológica	Bh-T
Topografía	Ondulado
Clima	Tropical húmedo

**Fuente:** (Estación meteorológica INHAMI; Estación Tropical Pichilingue, 2008-2020).

### 3.2 Tipo de Investigación

El proyecto de investigación es de tipo experimental. Se evaluó el efecto antagonista de las PGPRs contra el nemátodo *Radopholus similis*.

### 3.3 Método de Investigación

En la investigación se emplearon los métodos: deductivo, analítico y de observación que han permitido relacionar el trabajo de investigación con la revisión bibliográfica mencionada en este proyecto.

- **Método deductivo:** El método se inicia con el análisis de los teoremas, leyes, postulados y principios de aplicación universal, para aplicarlos a soluciones o hechos particulares.
  
- **Método analítico:** Consiste en descomponer un objeto de estudio separando cada una de las partes del todo para estudiarlas en forma individual.
  
- **Método de observación:** Consiste en saber seleccionar aquello que queremos analizar.

### 3.4 Fuentes de Recopilación de Información

La información recopilada se obtuvo a partir de revistas, libros, artículos científicos y tesis.

### 3.5 Diseño de la Investigación

#### 3.5.1 *Material Genético*

Para la reproducción masiva de las PGPRs y ensayos antagonistas hacia *Radopholus similis*, se utilizó de los géneros *Pseudomonas*, *Serratia*, *Enterobacter* y *Acinetobacter* que se encuentran almacenadas en el banco de cepas bacterianas del laboratorio de biología molecular a -40°C. La especie vegetal se obtuvo de INIAP- ESTACION EXPERIMENTAL TROPICAL PICHILINGUE, las plántulas de banano cultivar Williams reproducidas en medio in vitro.

- *Acinobacter calcoaceticus* (BMR 2/12)
- *Serratia marcesns* (PM 3/8)
- *Pseudomonas Protegens* (CHA0)
- *Enterobacter asburiae* (PM 3/14)

### 3.6 Factores de Estudio

Los tratamientos empleados en la investigación se muestran en la siguiente tabla:

**Tabla 2**

*Tratamientos empleados*

<b>T1</b>	Combinación de PGPRs ( <i>Acinobacter calcoaceticus</i> BMR 2/12, <i>Serratia marcesns</i> PM 3/8, <i>Pseudomonas Protegens</i> CHA0, <i>Enterobacter asburiae</i> PM 3/14)	+	<b>BIOFORMULADO1</b> (Carbonato de Calcio, Harina de Machica, Quitina Coloidal, Carboximetil Celulosa, Melaza)
<b>T2</b>	Combinación de PGPRs ( <i>Acinobacter calcoaceticus</i> BMR 2/12, <i>Serratia marcesns</i> PM 3/8, <i>Pseudomonas Protegens</i> CHA0, <i>Enterobacter asburiae</i> PM 3/14)	+	<b>BIOFORMULADO 2</b> (Zeolita, Ácido etilendiaminotetraacético, Quitina coloidal, Acetato de Potasio, Melaza)
<b>T3</b>	Combinación de PGPRs ( <i>Acinobacter calcoaceticus</i> BMR 2/12, <i>Serratia marcesns</i> PM 3/8, <i>Pseudomonas Protegens</i> CHA0, <i>Enterobacter asburiae</i> PM 3/14)	+	<b>BIOFORMULADO 3</b> (Carbón vegetal, Harina de soya, Aminoácidos, Fijador agrícola, Melaza)
<b>T4</b>	Control Químico: Para <i>Radopholus similis</i> . NAKAR ( <i>Benfuracarf</i> 20%).		
<b>T5</b>	Testigo Absoluto		

### 3.7 Diseño Experimental

#### 3.7.1 Diseño para la Aplicación de las PGPRs en las Plantas de Banano Inoculadas con *R. similis* en Vivo.

Se aplicó el diseño completamente al azar (DCA), para evaluar la capacidad antagonista de las PGPR hacia los nematodos *R. similis* en plantas de banano a nivel de invernadero que se encuentra en la Finca Experimental "La María" UTEQ que pertenece al laboratorio, generando 5 tratamientos con 5 repeticiones y 3 unidades experimentales. Se empleó la prueba de Tukey al 5% de probabilidad para establecer la diferencia entre las medias de los tratamientos. Se utilizó el Software estadístico libre Infostat versión 2020 (22) para el correspondiente procesamiento.

**Tabla 3**

*Esquema del Análisis de Varianza de la inoculación de las bacterias y Radopholus similis en plantas de banano cultivar Williams.*

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	14
Tratamientos	4
Error	10

#### 3.7.2 Características del Área de Investigación

La presente investigación empleó las siguientes características experimentales:

**Tabla 4**

*Características de las unidades experimentales.*

Número de tratamientos	5
Número de plantas por tratamiento	15
Número de repeticiones por tratamiento	5
Número de unidades por repetición	3
Número de unidades experimentales totales	75

Forma del ensayo	Rectangular
------------------	-------------

La representación de los tratamientos empleados en la investigación sobre un diseño DCA, en la evaluación de la capacidad antagonista de las PGPRs hacia los nematodos *R. similis* en plantas de banano a nivel de invernadero, generando 5 tratamientos con 3 repeticiones y 3 unidades experimentales.

**Tabla 5**

*Características de las unidades evaluadas.*

TRATAMIENTO	REPETICIÓN	UNIDAD		
		Planta 1	Planta 2	Planta 3
<b>Tratamiento 1</b>				
<b>Combinación de PGPRs (<i>Acinobacter calcoaceticus</i> BMR 2/12, <i>Serratia marcescens</i> PM 3/8, <i>Pseudomonas protegens</i> CHA0, <i>Enterobacter asburiae</i> PM 3/14 + BIOFORMULADO1 (Carbonato de Calcio, Harina de Machica, Quitina Coloidal, CMC, Melaza). Dosis: (10 litros de agua/2.5 litros de consorcio bacteriano)</b>	<b>1</b>	250 ml	250 ml	250 ml
	<b>2</b>	250 ml	250 ml	250 ml
	<b>3</b>	250 ml	250 ml	250 ml
	<b>4</b>	250 ml	250 ml	250 ml
	<b>5</b>	250 ml	250 ml	250 ml
<b>Tratamiento 2</b>				
<b>Combinación de PGPRs (<i>Acinobacter calcoaceticus</i> BMR 2/12, <i>Serratia marcescens</i> PM 3/8, <i>Pseudomonas protegens</i> CHA0, <i>Enterobacter asburiae</i> PM 3/14 + BIOFORMULADO 2 (Zeolita, EDTA, Quitina coloidal, Acetato de Potasio, Melaza). Dosis: (10 litros de agua/2.5 litros de consorcio bacteriano)</b>	<b>1</b>	250 ml	250 ml	250 ml
	<b>2</b>	250 ml	250 ml	250 ml
	<b>3</b>	250 ml	250 ml	250 ml
	<b>4</b>	250 ml	250 ml	250 ml
	<b>5</b>	250 ml	250 ml	250 ml
<b>Tratamiento 3</b>				
	<b>1</b>	250 ml	250 ml	250 ml

<b>Combinación de PGPRs (<i>Acinobacter calcoaceticus</i> BMR 2/12, <i>Serratia marcescens</i> PM 3/8, <i>Pseudomonas protegens</i> CHA0, <i>Enterobacter asburiae</i> PM 3/14</b> + <b>BIOFORMULADO 3 (Carbón vegetal, Harina de soya, Aminoácidos, Fijador agrícola, Melaza).</b> <b>Dosis:</b> <b>(10 litros de agua/2.5 litros de consorcio bacteriano)</b>	<b>2</b>	250 ml	250 ml	250 ml
	<b>3</b>	250 ml	250 ml	250 ml
	<b>4</b>	250 ml	250 ml	250 ml
	<b>5</b>	250 ml	250 ml	250 ml
	<b>Tratamiento 4</b>			
<b>Control Químico: Para <i>Radopholus similis</i>.</b> <b>NAKAR (<i>Benfuracarb</i> 20%).</b> <b>Dosis:</b> <b>(10 litros de agua/12 ml de NAKAR)</b>	<b>1</b>	50 ml	50 ml	50 ml
	<b>2</b>	50 ml	50 ml	50 ml
	<b>3</b>	50 ml	50 ml	50 ml
	<b>4</b>	50 ml	50 ml	50 ml
	<b>5</b>	50 ml	50 ml	50 ml
<b>Tratamiento 5</b>				
<b>Testigo Absoluto</b>	<b>1</b>	-	-	-
	<b>2</b>	-	-	-
	<b>3</b>	-	-	-
	<b>4</b>	-	-	-
	<b>5</b>	-	-	-

**Elaborado:** Autor.

### 3.8 Manejo del Experimento.

#### 3.8.1 Preparación de Pre-Inóculo en Medio King B

La preparación del pre-inóculo se seleccionó 5 cepas bacterianas PGPRs, obtenidas del banco de germoplasma del laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la UTEQ, se inoculó en un matraz Erlenmeyer conteniendo 50 ml de medio de cultivo King B líquido (Peptona 20 gr, fosfato de potasio 1.5 gr, sulfato de magnesio 1.5 gr, glicerol 15 ml/ 1L), se incubó en un shaker Benchmark incushaker® a 150 rpm en agitación constante a 26 °C por 48 horas.

### **3.8.2 *Elaboración de Bioformulado para el Desarrollo de la Combinación de PGPRs.***

Se realizó diferentes medios de cultivos en base a los requerimientos nutricionales. En donde se elaboró tres medios de cultivos descritos a continuación:

#### **Bioformulado 1**

- Carbonato de Calcio
- Harina de Machica
- Quitina Coloidal
- Carboximetil Celulosa (CMC)
- Melaza

#### **Bioformulado 2**

- Zeolita
- Ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA)
- Quitina coloidal
- Acetato de Potasio
- Melaza

#### **Bioformulado 3**

- Carbón vegetal
- Harina de soya
- Aminoácidos
- Fijador agrícola
- Melaza

### **3.8.3 *Aislamiento del Nematodo***

Los nematodos *Radopholus similis* fueron recolectados de plantaciones de banano ya establecidas ubicadas en el pueblo Zapotal Viejo, en la bananera MARINA INES. Se empleó la metodología descrita por INIAP (2005), se recolectó varias muestras de raíces infectadas con la ayuda de un barreno, herramienta que la cual se efectuó diversas excavaciones de 30 cm de largo y 10 cm de ancho a una profundidad entre 15 a 20 cm.

La extracción del nematodo *Radopholus similis* se desarrolló mediante la técnica de Stmerdin (1963). Se pesó 100 gr de raíces infectadas/ 100 ml de agua destilada con trituraciones de 30 s por 30 s de descanso proceso que se realizó por triplicado. Después de la trituración de las raíces se dejó en reposo durante 5 min y se vertió el contenido en un juego de tamices de 500  $\mu\text{m}$ , y 90  $\mu\text{m}$ . El primer tamizado es de 1 min con fines de destilar el agua que se utilizó anteriormente, el segundo tamizado se adicionó 200 ml de agua destilada con fines de ejercer un buen enjuague.

Las raíces se recolectaron de la criba 90  $\mu\text{m}$  con el uso de una piseta y se recoge en un vaso precipitado de 50 ml donde contiene un papel filtro sobre este, en un volumen de 5 ml de enjuague, la muestra obtenida descansa durante 48 h- 72 h. Finalizado el tiempo de suspensión, se identifica morfológicamente bajo un micrómetro a 4X-10X-40X de magnificación, para implantar sus respectivas caracterizaciones. En lo cual se recoge 300  $\mu\text{l}$  de muestra y se traspasa en un vidrio reloj.

#### **3.8.4 Reproducción e Inoculación del Nematodo *Radopholus similis* en Plántulas de Banano Cultivar Williams.**

Se trasplantaron plántulas in vitro de banano cultivar Williams en maceteros de 3 x 5 m ubicado en el invernadero del laboratorio de Microbiología y Biología Molecular, ubicados en el Campus Experimental “La María” propiedad de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), en un sustrato franco arcilloso más turba a una proporción (2:1). A los 30 días después de la aclimatación de las plántulas se inoculó 200 gr de raíces infectadas, trituradas en 500 ml de agua estéril.

Después de los 30 días de la primera inoculación se aplicó un repoblamiento de nematodos, con 4 aplicaciones; intervalo de 7 días, con el objetivo de asegurar la colonización de este fitoparásito y generar lesiones significativas. La densidad poblacional inicial constó de una población entre 10.000 – 15.000 de *R. similis*, mientras que la repoblación continua fue de 8 000 – 10 000.

### **3.8.5 Inoculación Edáfica de PGPRs en Plántulas de Banano que Contienen *R. similis*.**

#### **3.8.5.1 Preparación del Sustrato.**

Se utilizó un suelo franco arcilloso más turba a una proporción (2:1). En el cual fue esterilizado durante dos semanas mediante solarización con el uso de polímero negro. Se emplearon macetas plásticas de 3 x 5 m que fueron llenadas con el sustrato para más después realizar el debido trasplante del cultivar Williams de 10 cm de alto, bajo invernadero.

#### **3.8.5.2 Inoculación de las PGPRs en Plantas de Banano.**

Las bacterias se incubaron en un biofermentador (Consortio bacteriano) independiente para cada tratamiento durante 48 h. Se aplicó dos veces el consorcio bacteriano en las plántulas de banano, la primera aplicación microbiana se realizó después de los 30 días a la inoculación de *R. similis*, mientras que la segunda aplicación consistió de un repoblamiento microbiano posteriormente a los 30 días a la primera inoculación microbiana. Las aplicaciones se efectuaron al 20% (10 litros de agua/ 2.5 litros de consorcio bacteriano) que aplica al sistema radicular de la planta. La dosis empleada por planta es de 250 ml.

#### **3.8.5.3 Aplicación de Nematicidas.**

Se empleó el nematicida NAKAR (Benfuracarf 20%), se aplicó dos veces en las plántulas de banano, la primera aplicación se realizó después de los 30 días a la inoculación de *R. similis*, mientras que la segunda aplicación consistió para evitar grandes poblaciones de *R. similis* en donde se empleó a 30 días después al primer control. La dosis recomendada para el cultivo de banano es de 1.2 ml/L, en lo cual se diluye 12 ml/10 Litros de agua. La dosis empleada por planta se ocupa en 50 ml.

### **3.8.6 Análisis Foliar**

Las muestras foliares se obtuvo de la tercera hoja de las plántulas de banano de cada tratamiento evaluado. Las muestras se transfirieron en fundas de papel, y cajas térmicas con hielo. Método determinado como " Método Internacional de Referencia" recomendado por Prével, mencionado por Lara Gaibort., (2011). Por lo consiguiente fue analizado por INIAP-Pichilingue.

### **3.9 Labores de Mantenimiento a las Plántulas de Banano.**

#### **3.9.1 Fertilización Edáfica:**

Es importante realizar una buena fertilización, aportando a los 30 dd (días después del trasplante), 5 g/planta de N, 2 g/planta de Sulfato de Magnesio y 4 g/planta de Fosfato diamónico (DAP), segunda aportación de nutrientes a 60 dd se aplicó 8-20-20 (N-P-K).

#### **3.9.2 Fertilización Foliar:**

La aplicación de abonos foliar es indispensable para prevenir o corregir deficiencias de nutrientes, en lo cual ayuda a mejorar su crecimiento y desarrollo. Se aplicó un abono inorgánico que contiene NPK (13-36-13) en dosis de 25 g/ L, roseando sobre la planta con diez aspersiones, la frecuencia a abonar se emplea 3 veces consecutivas; cada 8 días en después de los 45 días del trasplante.

Durante el periodo de recolección de muestras foliares, se aplicó ENZIPROM (Bioactivador Enzimático – Antioxidante - Antiestrés Enriquecido con Aminoácidos y Vitamina B) más AGRIPUS POTASIO, en dosis de 14 ml/L y 10 ml/L; respectivamente, con el objetivo de desestresar a la planta debido a cortes que se produce. Esta aplicación se dio en frecuencias de 3 días después de cada muestro.

#### **3.9.3 Deshoje**

Las hojas senescentes se seccionaron con el fin de mejorar la evaluación.

#### **3.9.4 Manejo Hídrico**

Se realizó dos a tres riegos por semana dependiendo de la temperatura, con el fin de tener a capacidad de campo las plántulas de banano. Cabe resaltar que un suelo húmedo favorece la movilidad de los nematodos, por ende, facilita su reproducción y daños en el sistema radicular.

### **3.10 Datos a Evaluar y Formas de Medición**

#### **3.10.1 Variables de Laboratorio**

##### **3.10.1.1 Carga Microbiana.**

Se determinó la carga microbiana obtenida de los consorcios ya realizados, se recolectó 100 ml de cada bioformulado, con el fin de recrear una dilución seriada hasta la E+06; dicha dilución inicial consta de 900 µl de agua estéril y 100 µl de consorcio bacteriano, siendo agitados con el vortex, 5 s. Recuperando 100 µl de la emulsión anterior y se ejecutó este proceso hasta obtener el desleír final.

Las diluciones obtenidas anteriormente se sembraron en placas Petri, indicando separaciones para su respectiva dilución. Se requirió de un medio King-B en donde se inoculó 20 µl de cada dilución; cada bioformulado por triplicado. Finalmente se incubó a temperatura ambiente durante 36 horas, el conteo de las UFC de cada consorcio de valoró por rangos de: Mínimo 25 UFC – Máximo 250 UFC (Unidad de Formadores de Colonias).

##### **3.10.1.2 Presencia de Bacterias PGPRs en el Sistema Foliar.**

Se evaluó la presencia de bacterias endófitas, mediante el seccionamiento de dos pequeños cortes rectangulares (de arriba hacia abajo) en la hoja número 3 de la planta en desarrollo, la muestra se desinfectó en una solución de hipoclorito de sodio al 10 % por 30 s, seguido de un triple lavado que posteriormente fue secado al ambiente por 5 minutos sobre papel absorbente.

La muestra obtenida de 1 g del tejido foliar se macero sobre un mortero frío con 9 ml de agua estéril con cloranfenicol a 1 ml/ 500 ml (antibiótico), con el objetivo de desprender su pigmentación y logre deshacerse en la solución. Ya realizada la fase anterior los 10 ml (Solución stock) se diluyó hasta la E+06, en concentración de 900 µl (Agua estéril) y 100 µl (solución anterior). Se sembró sobre cajas Petri ya fraccionadas que contiene medio King-B sólido más Cloranfenicol, se incubo a temperatura ambiente durante 48 horas, el conteo de las UFC de cada consorcio de valoró por rangos de: Mínimo 25 UFC – Máximo 250 UFC.

**Tabla 6***Días a evaluar la presencia de bacterias PGPRs en la parte aérea de la planta.*

<b>Número de aplicaciones del consorcio bacteriano</b>	<b>Días a evaluar</b>
<b>1° Aplicación</b>	15 dd
	30 dd
<b>2° Aplicación</b>	45 dd
	60 dd
	75 dd
	90 dd
	90 dd

**3.10.1.3 Presencia de PGPRs en el Suelo.**

Se realizó un pequeño orificio al sustrato llegando hasta los 10 cm; sin perjudicar las raíces; se tamizó la muestra obtenida y se recolectó 1 g de suelo. En donde la muestra fue agitada a 120 rpm por 30 min en una solución de 9 ml de agua estéril, que contiene 100 µl de antibiótico (Cloranfenicol). Se recolectó 100 µl de la solución stock para diluir en 900 µl (Agua estéril); realizando este proceso para la obtención de concentraciones hasta la E+06. La siembra se efectuó sobre cajas Petri ya fraccionadas que contiene medio King B sólido más Cloranfenicol, se incubó a temperatura ambiente durante 48 horas, el conteo de las UFC de cada consorcio de valoró por rangos de: Mínimo 25 UFC – Máximo 250 UFC.

**Tabla 7***Días a evaluar la presencia de bacterias PGPRs en el suelo.*

<b>Número de aplicaciones del consorcio bacteriano</b>	<b>Días a evaluar</b>
<b>1° Aplicación</b>	30 dd
<b>2° Aplicación</b>	60 dd
	90 dd

### 3.10.1.4 Cuantificación De Clorofila.

Se implementó el método de Wintermans & De Mots, 1965 (24), en lo que imparte dos secciones de la misma muestra con un tamaño de 1.3 cm<sup>2</sup>, en forma de disco por cada tratamiento realizado. Se pesó las secciones y una de ellas se llevó a una estufa extractora de humedad (Thermo Scientific<sup>TM</sup>) a temperaturas de 106° por 24 horas. La extracción de clorofila comprende en macerar los discos foliares en una solución MgCO<sub>3</sub> (0.5 g/L-1) en etanol al 98%; solución que debe ser preparada 24 horas antes, mantener en frío antes y durante la extracción del pigmento foliar.

El extracto obtenido se transfirió a un tubo Eppendorf <sup>TM</sup> que fue procesado a centrifugación, durante 5 min a 8.000 rpm. El extracto etanólico conseguido se estudió la absorbancia (A) 645 y 663 Nm en un espectrofotómetro (SPECTROPHOTOMETER, S-1205). A partir de estos datos, se calcularon las concentraciones de clorofila A (Cla) y clorofila total (Cl<sub>t</sub>), en base a las siguientes ecuaciones:

$$Cla = [(12,7 \times (A663) - 2,69 \times (A645)) \times 8] / (1000 \times PS)$$

$$Cl_t = [(20,2 \times (A645) + 8,02 \times (A663)) \times 8] / (1000 \times PS)$$

\*donde PS corresponde al peso seco del disco foliar

#### **Tabla 8**

*Días a evaluar la cuantificación de clorofila.*

<b>Número de aplicación de consorcio bacteriano</b>	<b>Días a evaluar</b>
	15 dd
<b>2º Aplicación</b>	30 dd
	45 dd

### 3.10.2 Variables Agronómicas

#### 3.10.2.1 Ritmo de Emisión Foliar.

Se identificó la hoja candela o cigarro para ello se optó de la escala de Brun (23) la cual es:

- **Estadio 0.0:** Hoja candela aproximadamente de 10cm de longitud.
- **Estadio 0.2:** Hoja candela más grande, pero aún no alcanza su desarrollo completo.
- **Estadio 0.4:** Hoja candela completamente libre.
- **Estadio 0.6:** El lado izquierdo ya está abierto y su apertura ocurre en extremo del ápice:
- **Estadio 0.8:** La parte de arriba de la hoja se abre y la base tiene la forma de una corneta
- abierta.
- **Estadio 1:** La hoja se encuentra totalmente abierta.

**Tabla 9**

*Días a evaluar la emisión foliar*

Número de aplicación de consorcio bacteriano	Días a evaluar
2º Aplicación	7 dd
	14 dd
	21 dd
	28 dd
	35 dd

Las plántulas de banano se identificaron de acorde a la escala de Brun (23), en donde el estadio foliar se identifica en la siguiente tabla.

**Tabla 10**

*Estadío de la hoja candela.*

<p><b>0.0</b></p>	 A photograph of a banana plant showing several large, green leaves with prominent, dark brown, irregular spots and blotches, indicating a disease or pest damage.
<p><b>0.2</b></p>	 A photograph of a banana plant showing a young shoot emerging from the center of the leaves. The leaves are green and appear healthy.
<p><b>0.4</b></p>	 A photograph of a banana plant showing a young shoot emerging from the center of the leaves. The leaves are green and appear healthy, but there are some dark brown spots on the lower leaves.
<p><b>0.6</b></p>	 A photograph of a banana plant showing a young shoot emerging from the center of the leaves. The leaves are green and appear healthy, but there are some dark brown spots on the lower leaves.

---

**0.8**



---

**1**



---

**Elaborado:** Autor.

### **3.10.2.2      Altura de Planta (cm).**

Las plántulas de banano se midieron con un flexómetro al finalizar el experimento, desde la base del cormo hasta el punto el inicio de la hoja candela, los datos fueron agregados a Infostat versión 2020 (22).

### **3.10.2.3      Diámetro de Pseudo tallo (cm).**

La tasa del diámetro del pseudo tallo se determinó con un calibrador de Vernier al finalizar el experimento, a la base del pseudotallo a 3 cm de altura del suelo.

### **3.10.2.4      Longitud de la Hoja 3 (cm).**

Esta variable se evaluó antes de seccionar la hoja completa para el estudio del análisis foliar. Se midió la longitud de la hoja 3 con un flexómetro al finalizar la investigación, desde la base hasta el ápice de la hoja.

#### **3.10.2.5 Ancho de la Hoja 3 (cm).**

Esta variable se evaluó antes de seccionar la hoja completa para el estudio del análisis foliar. Se midió el ancho de la hoja 3 con un flexómetro al finalizar la investigación, en la parte central de hoja.

#### **3.10.2.6 Numero de Hojas (n.º).**

Esta variable se evaluó antes de seccionar la hoja completa para el estudio del análisis foliar. Se contabilizó el número de hojas presente de cada planta al finalizar la investigación, los datos fueron agregados a Infostat versión 2020 (22).

#### **3.10.2.7 Longitud Radicular (cm).**

Esta variable se evaluó antes de seccionar las raíces para el estudio del análisis nematológico. Se extrajo la planta de la maceta y se sumergió las raíces en un recipiente con agua para eliminar completamente el sustrato, previamente la plántula fue seccionada en la base del pseudotallo de la planta. Finalmente se midió la longitud de la masa radicular por cada tratamiento experimental empleando una cinta métrica, las raíces fueron evaluadas sobre una superficie plana.

#### **3.10.2.8 Peso Total de Raíces por Planta (g).**

Se evaluó el sistema radicular, iniciando con una purificación con el fin de retirar restos del sustrato. Se dejó en reposo al ambiente hasta eliminar el agua sobrante de las raíces, posteriormente se cortó las raíces del cormo de la planta, para luego registrar el peso total con el uso de una balanza analítica PIONEER™ PRECISION, PX323/OHAUS.

#### **3.10.2.9 Peso Fresco de Planta (g).**

Se seccionó la parte aérea de la planta en dos segmentos: Hojas y Pseudotallo. Luego se cortaron las hojas y se procedió a registrar su peso con el de la balanza analítica PIONEER™ PRECISION, PX323/OHAUS. A su vez con el pseudotallo que se seccionó en varios trozos y se registró su peso, los datos fueron agregados a Infostat versión 2020 (22).

### **3.10.2.10      Peso Seco de la Planta (g).**

De las secciones anteriormente realizadas de hojas y pseudotallos, se envolvió en bolsas de papel con su respectiva rotulación. La muestra se llevó a una estufa de extracción de humedad (Thermo Scientific™), durante 48 horas a temperaturas de 65°C. Después de obtener la muestra de peso seco se registró su peso con el uso de una balanza analítica PIONEER™ PRECISION, PX323/OHAUS.

### **3.10.2.11      Análisis Nematológico en Raíces de Banano Cultivar Williams´.**

Se recolectó 6 sub-muestras por tratamiento empleado (después de evaluar la longitud y peso radicular), en donde se seccionó todo el sistema radicular de la planta incorporado el cormo. Finalmente se envió a analizar en laboratorios especializados.

### **3.10.2.12      Análisis Foliar.**

Se recolectó la tercera hoja de las plántulas de banano de cada tratamiento evaluado (después de la evaluación de las variables anteriormente mencionadas), las muestras foliares se empacaron en bolsas de papel y cuba térmica con hielo. Posteriormente se trasladó las muestras para su respectivo análisis en la estación experimental INIAP-PICHILINGUE.

## **3.10.3      *Materiales y Equipos***

### **3.10.3.1      Materiales de Laboratorio**

- Tubos de Eppendorf™ (0.6 ml y 1.5 ml)
- Papel Parafilm
- Vasos de precipitación (50 ml, 250 ml y 500ml)
- Cajas Petri
- Guantes Quirúrgicos talla M
- Piceta de 500 ml
- Tijeras Quirúrgicas
- Embudos simples de vidrio
- Medio King- B
- Sulfato de magnesio hepta-hidratado

- BactoTM Peptona
- Fosfato de Potasio Dibásico

### **3.10.3.2 Equipos de Laboratorio.**

- Balanza de 0,001 gr
- Cámara de flujo Laminar
- Microscopio
- Microondas
- Nevera
- Vortex
- Destilador de agua
- Autoclave
- Estufa
- Centrifuga
- UV transiluminador
- Incubadora

### **3.10.3.3 Materiales de Oficina**

- Cuaderno
- Computador
- Lapicero
- Lápiz
- USB
- Escritorio
- Silla

### **3.10.3.4 Materiales de Campo**

- Botas
- Equipo de protección
- Etiqueta
- Marcadores

Baldes

**CAPÍTULO IV**  
**RESULTADO Y DISCUSIÓN**

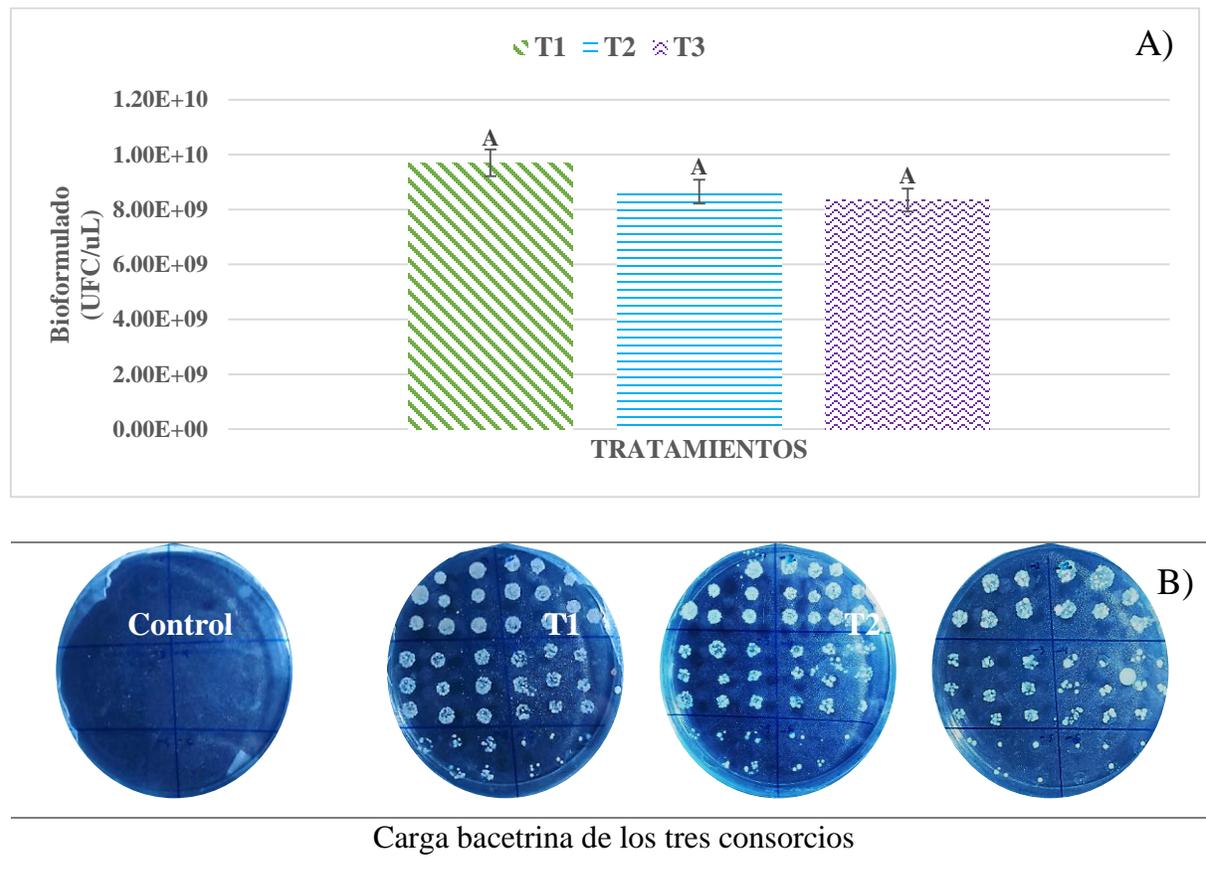
## 4.1 Resultados

### 4.1.1 Carga Bacteriana de los Consorcios en Bioformulados

Se determinó mediante el recuento en placas, que el tratamiento 1 presentó la concentración más alta de UFC/ul con una carga aproximada de  $9.70E+09$ , demostrando que los componentes empleados en la formulación del tratamiento 1 favorece el crecimiento celular y adaptación de las colonias bacterianas en un sistema de biorreactor aeróbico. Mientras que los demás tratamientos no presentaron inferencias en el análisis estadístico pudiendo ser empleados en la generación de colonias en biorreactor. Cada tratamiento contiene una combinación de *Acinobacter calcoaceticus* (BMR 2/12), *Serratia marcescens* (PM 3/8), *Pseudomonas Protegens* CHA0, *Enterobacter asburiae* (PM 3/14) (Figura 1).

**Figura 1**

*Carga bacteriana de los tres consorcios.*



Nota: A) Tratamiento 1 [Carbonato de Calcio, harina de machica, quitina coloidal, carboximetil celulosa (CMC), melaza], tratamiento 2 [zeolita, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), quitina coloidal, acetato de potasio, melaza], tratamiento 3 (carbón vegetal, harina de soya, aminoácidos, fijador agrícola, melaza). B) Carga microbiana de los tres consorcios. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a  $p < 0.05$ , analizados por el test de Tukey.

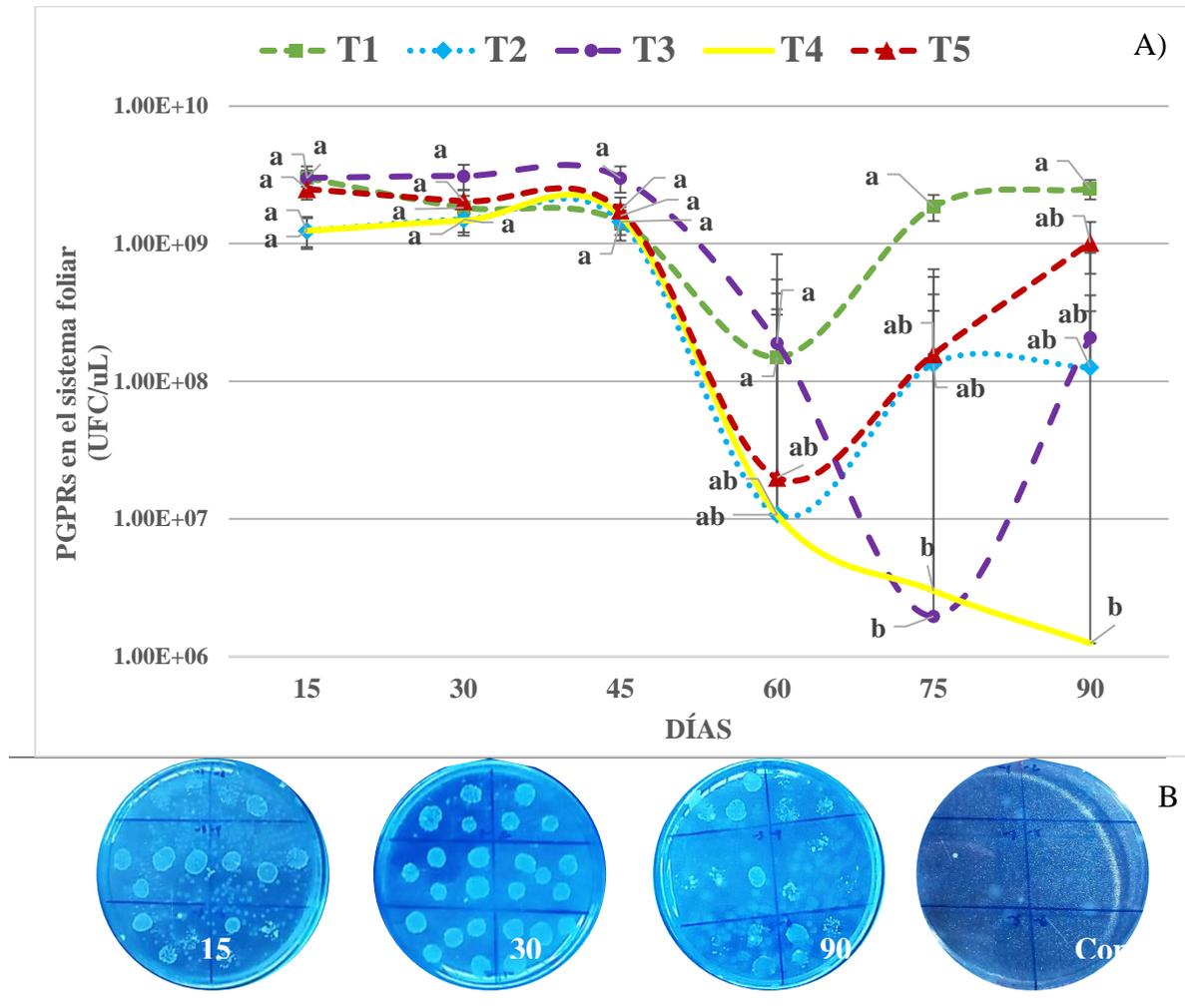
#### **4.1.2 Presencia de Bacterias PGPRs en el Sistema Foliar.**

Se determinó la presencia de bacterias endófitas desde la hoja 3, en donde el tratamiento 1 presentó un mejor comportamiento en la microbiota sistémica, con cargas UFC/ml de  $3.00E+09$ ,  $1.38E+09$ ,  $1.45E+09$ , en los (15, 30 y 45 días); respectivamente. Pese al repoblamiento microbiano que se realizó, este tratamiento sufrió un declive mínimo únicamente en el día 60, revelando asociaciones bacterianas de  $1.50E+08$ . Sin embargo, durante los días 75 y 90, las células bacterianas formaron comunidades microbiológicas que se reflejó en placas, con cargas coloniales de  $1.86E+09$  y  $2.50E+09$ ; respectivamente (Figura 2).

La supervivencia y equilibrio microbiológico depende de las condiciones agroambientales dado es el caso del tratamiento 4, se verifica la presencia de bacterias exógenas a una concentración de  $1.24E+09$ ,  $1.47E+09$ ,  $1.59E+09$  (UFC/ul); días 15, 30 y 45; correspondientemente a las concentraciones mencionadas. La congregación bacteriana comenzó a perder el equilibrio desde los días 60, 75 y 90 evidenciando un decrecimiento microbiano de  $1.07E+07$ ,  $3.00E+06$  y  $1.25E+06$  (UFC/ul); respectivamente. La disminución de las bacterias exógenas estaría regulada por aplicaciones del nematicida (Nakar) que minimiza la dinámica y el crecimiento (Figura 2).

**Figura 2**

*Presencia de bacterias endófitas en las hojas de banano variedad Williams.*



Presencia de bacterias endófitas aisladas de la hoja 3 del banano cultivar Williams

Nota: A) Tratamientos 1, 2 y 3 (Apliación de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Químico) y tratamiento 5 ( Testigo absoluto). B) Presencia de bacterias endófitas aisladas de la hoja 3 del banano cultivar Williams, muestra del tratamiento 1; días 15, 60 y 90. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a  $p < 0.05$ , analizados por el test de Tukey.

#### 4.1.3 Presencia de Bacterias PGPRs en Suelo

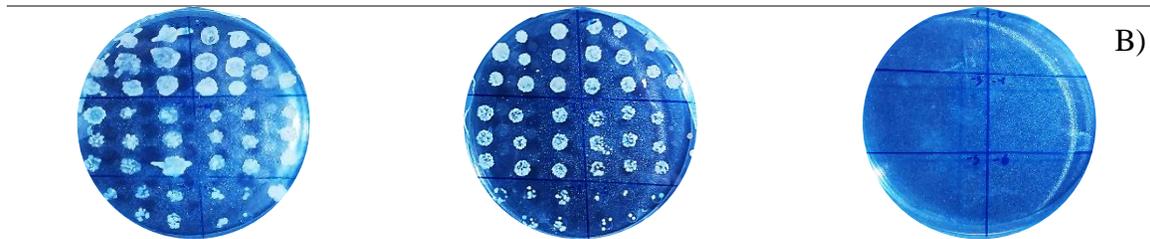
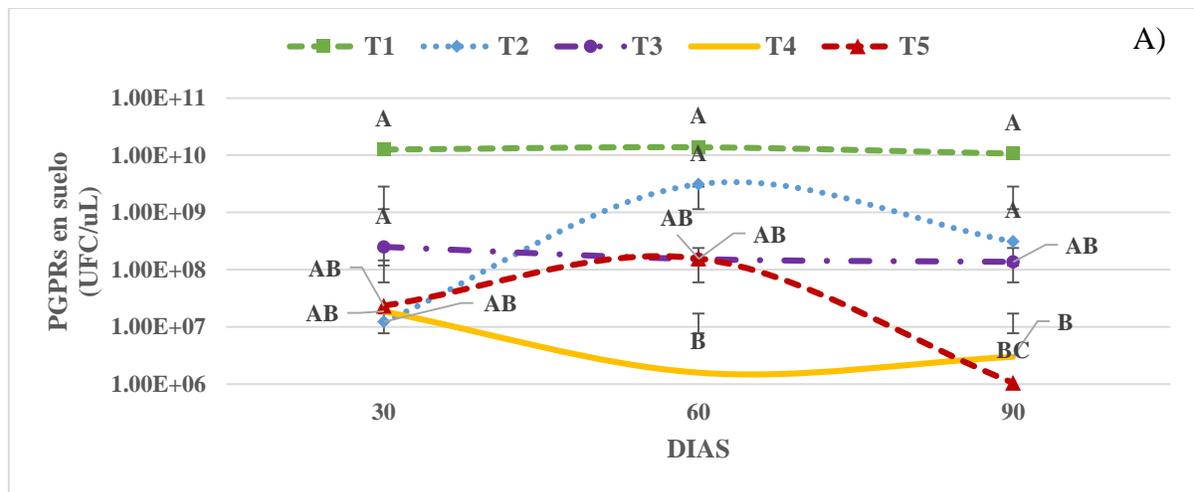
Se evaluó la presencia de bacterias rizosféricas del suelo en donde fue cultivado las plantas de banano cultivar Williams. Tratamiento 1 superó a los demas tratamientos por su incremento de poblaciones microbianas, promoviendo estabilidad celular en los día 30, 60 y 90; dependiente

al recuento de UFC/ul se determino cargas de  $1.26E+10$ ,  $1.38E+10$  y  $1.07E+10$  en secuencia a los días anteriormente mencionados. Mientras que tratamientos con aplicaciones de consorcios bacterianos revelan desequilibrios, dicho efecto deriva limitaciones al crecimiento microbiano (Figura 3).

Por otra parte, las reacciones de la microbiota del tratamiento 4 (Químico) relejo estar debajo de los demas tratamientos iniciando desde el día 30 con  $1.87E+07$ (UFC/ul) respuesta que puede estar asociada a la limitacion libre en suelos controlados quimicamente, por lo consiguiente para los 60 y 90 días se obtubo cargas UFC de  $1.59E+06$  y  $3.00E+06$ ; respectivamente (Figura 3).

**Figura 3**

*Presencia de bacterias rizosféricas asiladas del suelo propias de plántulas de banano.*



Presencia de bacterias rizosféricas del suelo

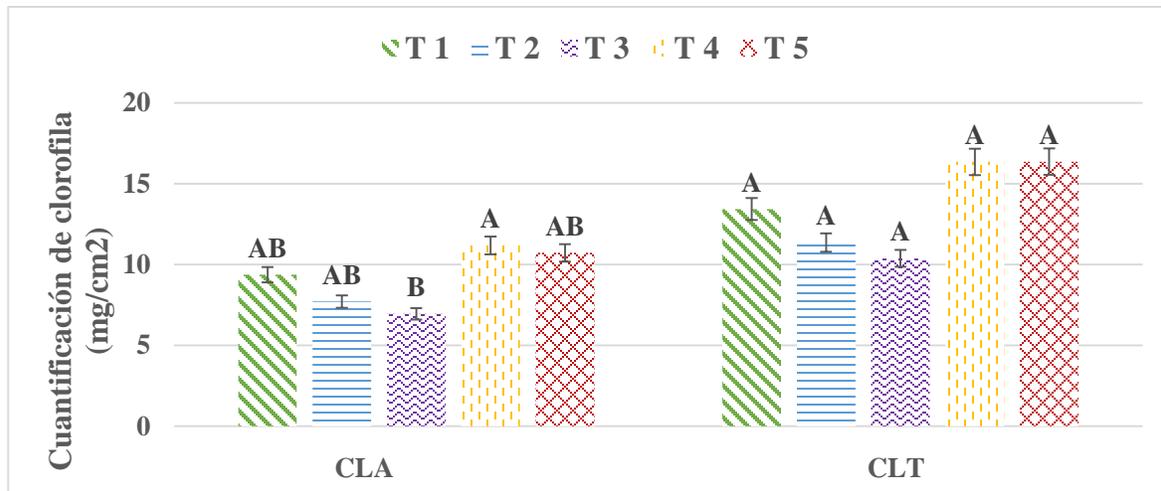
Nota: A) Tratamientos 1, 2 y 3 (Apliación de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Químico) y tratamiento 5 ( Testigo absoluto). B) Presencia de bacterias rizosféricas aisladas del suelo, muestra del tratamiento 1; días 60 y 90. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a  $p < 0.05$ , analizados por el test de Tukey.

#### 4.1.4 Cuantificación de Clorofila

El contenido de clorofila revela que el tratamiento 4 posee una mejor concentración de clorofila A (CLA) con valores de 11.18 mg/cm<sup>2</sup>, mientras que en la clorofila total (CLT) promedia datos de 16.35 mg/cm<sup>2</sup>, sin embargo, sobre este parámetro (CLT) no se presente diferencias estadísticas. La cuantificación determina la concentración fotosintética permitiendo que los tratamientos 1, 2 y 3 que poseen inoculaciones bacterianas exprese niveles de 9.37, 7.71 y 6.95 mg/cm<sup>2</sup> sobre la absorbancia de luz principal; clorofila A (Figura 4).

**Figura 4**

*Análisis de los niveles de clorofila A (CLA) y clorofila total (CLT).*



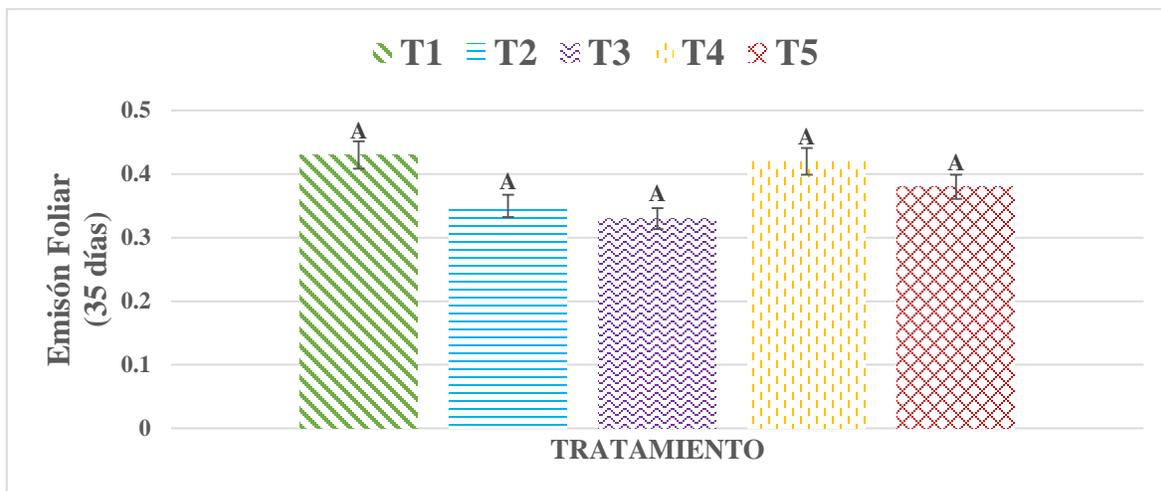
Nota: Tratamientos 1, 2 y 3 (Apliación de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Químico) y tratamiento 5 ( Testigo absoluto). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a p<0.05, analizados por el test de Tukey.

#### 4.1.5 Emisión Foliar

Se determinó la emisión foliar en las plántulas de banano semanalmente , el ritmo emitido por el tratamiento 1 demostró el mejor promedio durante la evaluación con un total de 0.43, indicando un dominante crecimiento foliar. Sin embargo, el control químico (tratamiento 4) manifiesta un promedio de 0.42, valor poco significativo en la diferenciación de la emisión foliar del tratamiento mencionado anteriormete (Figura 5).

**Figura 5**

*Emisión foliar de las plántulas de banano cultivar Williams.*



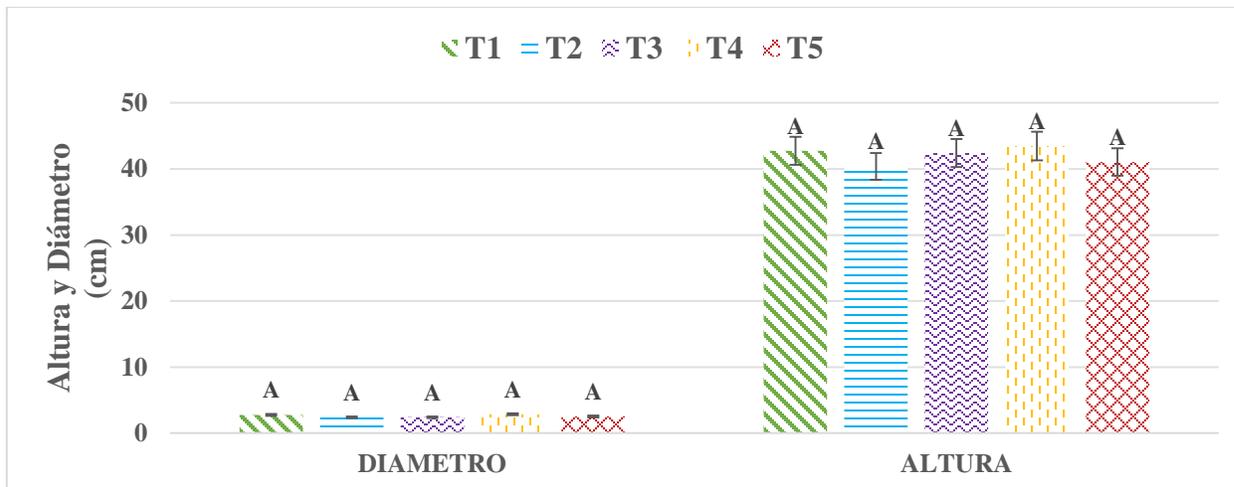
Nota: Tratamientos 1, 2 y 3 (Apliación de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Químico) y tratamiento 5 (Testigo absoluto); periodo de evaluación (35 días). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a  $p < 0.05$ , analizados por el test de Tukey.

#### **4.1.6 Altura y Diámetro de la Planta**

La dinámica del crecimiento de la planta demostró que los tratamientos 1 y 4 son semejantes con valores de 42.74 y 43.46 cm; respectivamente. Donde la aplicación de las PGPRs y el tratamiento químico (Nakar) reducen la proliferación de nematodos. Mientras que los tratamientos 1 y 3 representaron valores no muy alejados con cifras de 42.74 y 42.42 cm; respectivamente. Esto indica que la aplicación de bacterias PGPRs ayuda a la protección y desarrollo en la altura de la planta. Los promedios correspondiente al diámetro del pseudotallo indica que los tratamientos 1 y 4 presentan valores semejantes con 2.76 y 2.86 cm; respectivamente (Figura 6)

**Figura 6**

*Altura y diámetro de la planta de banano.*



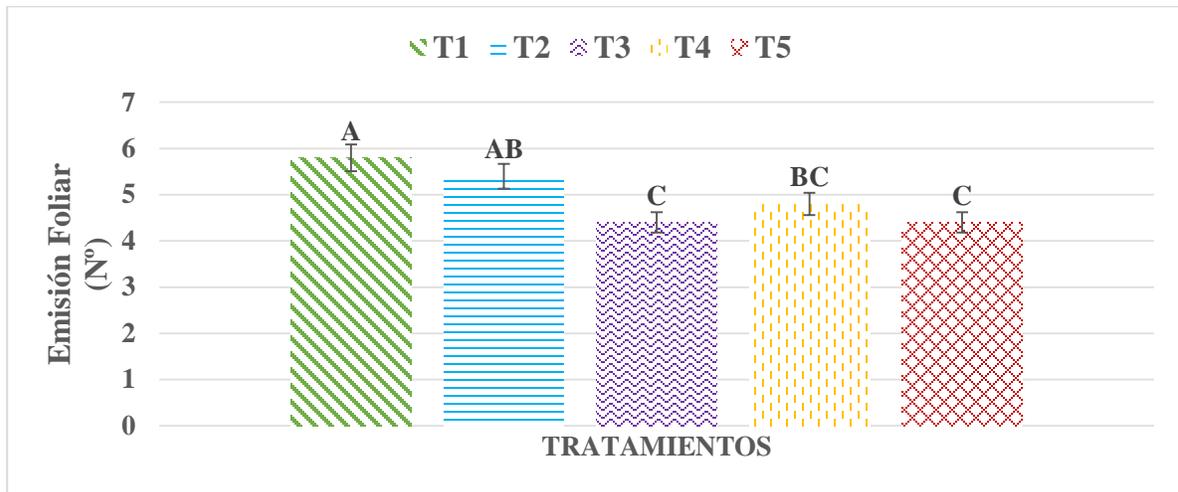
Nota: Tratamientos 1, 2 y 3 (Apliación de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Químico) y tratamiento 5 ( Testigo absoluto). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a  $p < 0.05$ , analizados por el test de Tukey.

#### **4.1.7 Número de Hojas**

Las aplicaciones de consorcios bacterianos mejora el número de hojas emitida por planta, tal es el caso para los tratamientos 1 y 2 que presentan valores superiores de 5.8 y 5.4 de número de hojas emitidas, mostrando que el uso adecuado de controles biológicos mejora el área foliar de la planta mientras que el tratamiento 4 (Químico) no reflejó valores sobre la presencia de masa foliar (Figura 7).

**Figura 7**

*Número de hojas de la planta de banano.*



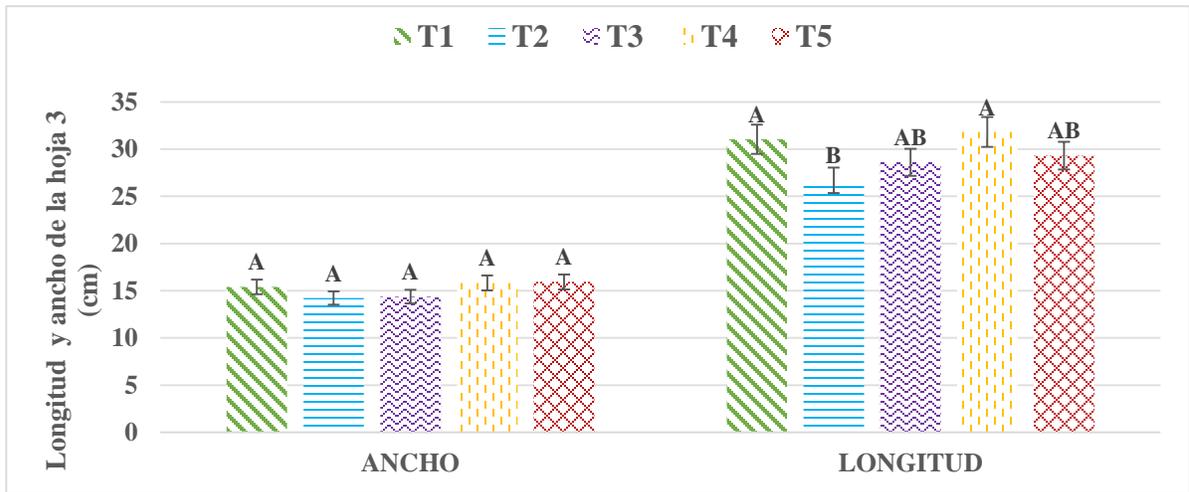
Nota: Tratamientos 1, 2 y 3 (Apliación de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Químico) y tratamiento 5 (Testigo absoluto). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a  $p < 0.05$ , analizados por el test de Tukey.

#### **4.1.8 Longitud y Ancho de la Hoja**

Las interacciones entre planta-microorganismo en la filosfera permite promover un desarrollo adecuado en las hojas de banano, dada la evaluación sobre la longitud de la hoja se indentifica que tratamientos 1 y 4 poseen los mejores resultados (31.04 y 31.82 cm); respectivamente. De hecho, evaluaciones empleadas hacia la hoja de banano (Ancho de la hoja) promedió que no existe grandes diferencias entre los tratamientos empleados, considerenado un buen desempeño directo en el metabolismo de la planta ejercidos por asociaciones naturales (tratamiento 5) o inducidas (tratamientos 1, 2 y 3) que regulan el area foliar (Figura 8).

**Figura 8**

*Longitud y ancho de la hoja tres de la planta de banano.*



Nota: Tratamientos 1, 2 y 3 (Apliaci3n de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Qu3mico) y tratamiento 5 (Testigo absoluto). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a  $p < 0.05$ , analizados por el test de Tukey.

#### **4.1.9 Longitud Radicular**

La inducci3n de consorcios bacterianos promueven un sinf3n de interacciones extracelulares (ePGPR) e intracelular (iPGPR), los mejores promedios se obtuvieron de los tratamientos 1, 2 y 3; con cifras de 31.12, 31.94 y 35.64 cm; respectivamente. La influencia de las PGPR en la elongaci3n celular genera respuestas r3pidas en el vegetal. Plantas bajo el tratamiento 5 (Testigo absoluto) desarrollan raices de 30.5 cm identificando el beneficio de bacterias ex3genas y end3genas (Figura 9).

**Figura 9**

*Longitud radicular de plántulas de banano.*



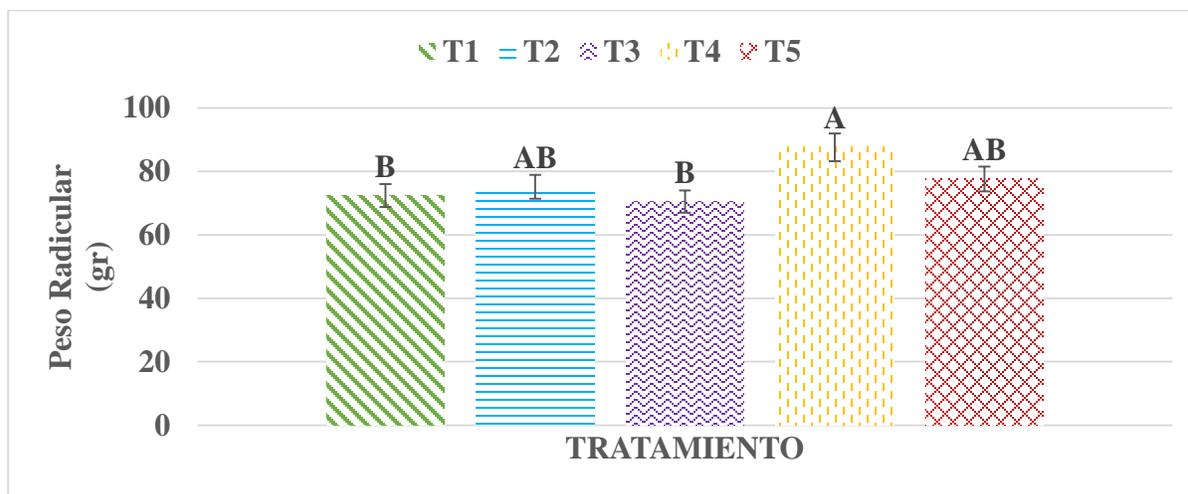
Nota: Tratamientos 1, 2 y 3 (Apliación de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Químico) y tratamiento 5 (Testigo absoluto). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a  $p < 0.05$ , analizados por el test de Tukey.

#### **4.1.10 Peso Radicular**

La evaluación del peso radicular demostró que el tratamiento 4 superó a los demás tratamientos con promedios de 87.63 g, pese a la diferencia sobre parámetro se valoró el análisis presentado por los tratamientos 1, 2 y 3 que contienen inoculaciones bacterianas con medias de 72.38, 75.14 y 70.46 g; respectivamente. Cabe mencionar que el tratamiento 5 valoró con 77.6 g (Figura 10).

**Figura 10**

*Peso radicular de plántulas de banano.*



Nota: Tratamientos 1, 2 y 3 (Apliación de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Químico) y tratamiento 5 (Testigo absoluto). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a  $p < 0.05$ , analizados por el test de Tukey.

#### **4.1.11 *Peso Fresco y Seco del Pseudo Tallo.***

Las plántulas provenientes del tratamiento 4 (Químico) presentaron valores poco opuesto ante los demás tratamientos (82.2 g), mientras que el tratamiento 3 imparte un peso de 75.2 g; valores obtenido consolidado por el peso fresco del pseudo tallo. El resultado obtenido después de un proceso de extracción de humedad durante 48 horas del pseudo tallo, indica la poca diferenciación entre el tratamiento 4 que obtuvo un peso seco total de 27.48 g y el tratamiento 3 con una media de 26.74 g. Cabe mencionar que el tratamiento 5 presentó cifras de 27.64 g (Figura 11). Esto revela que la parte baja del pseudotallo (Cormo) es la fuente principal de reserva de fotoasimilados y agua de la planta.

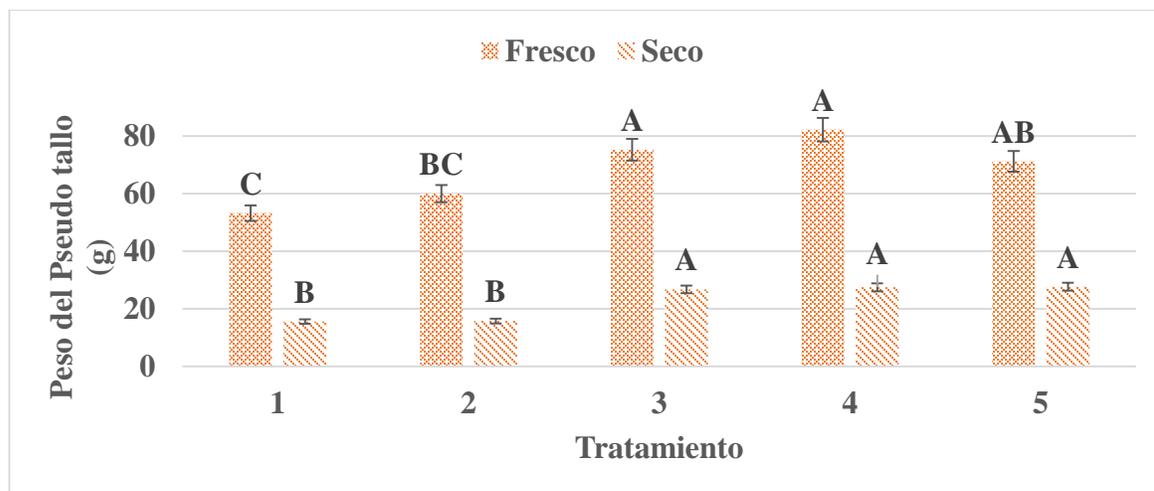
#### **4.1.12 *Peso Fresco y Seco de la Hoja.***

La evaluación obtenida del peso fresco foliar indica al tratamiento 5 posee el mejor resultado de 65.8 g, mientras que el tratamiento químico (Tratamiento 4) promedia valores de 52.26 g. Tratamientos con inoculaciones bacterianas poco se relacionan al peso de la parte aérea de la planta mostrando cifras de 39.26 g, 32.94 g y 39.62 g, tratamientos 1, 2 y 3; respectivamente. La acumulación de materia seca del área foliar, presenta que no existe diferencias entre estos

parámetros, sin embargo, los valores expresados mas relevantes son los tratamientos 5, 4 3 y 2, reflejando datos de 13.66 , 12.86, 12.42 y 12.7 ; respectivamente (Figura 12).

**Figura 11**

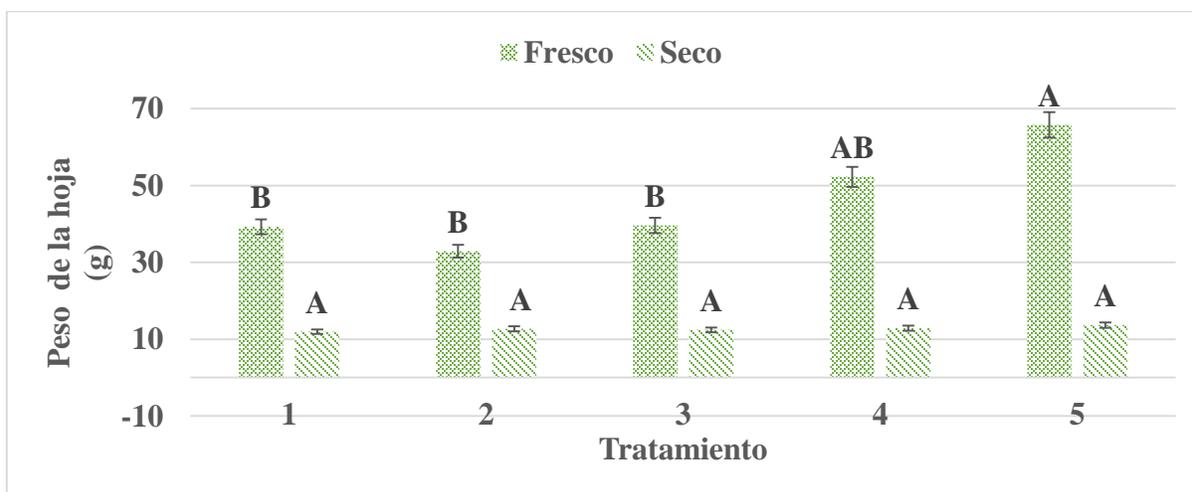
*Peso fresco y seco del pseudo tallo de plántulas de banano.*



Nota: Tratamientos 1, 2 y 3 (Apliación de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Químico) y tratamiento 5 (Testigo absoluto). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a  $p < 0.05$ , analizados por el test de Tukey.

**Figura 12**

*Peso fresco y seco del área foliar de plántulas de banano.*



Nota: Tratamientos 1, 2 y 3 (Apliación de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Químico) y tratamiento 5 (Testigo absoluto). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre promedios a  $p < 0.05$ , analizados por el test de Tukey.

#### 4.1.13 Análisis Nematológico

La amplia diversidad de las rizobacterias por producir compuestos bioactivos hacia el control de nematodos permite que los tratamientos 1, 2 y 3, infieran en la presencia de *Radopholus similis*, obteniendo poblaciones de 1.000, 2.000, y 4.000 cada 100 g de raíz; respectivamente. La viabilidad como agentes benéficos permite activar mecanismos sistémicos a la planta; resistencia sistémica inducida (RSI) y resistencia sistémica adquirida (RSA). Por lo contrario, dosis químicas (Tratamiento 4) ayuda al control de agentes patogénicos con una totalidad de 5.000 cada 100 g de raíz. Cabe mencionar que plántulas sin controles fitosanitarios (Tratamiento 5) induce al poblamiento elevado de *R. similis* con la existencia de 13.000 nematodos barrenadores (Tabla 9).

La adaptación de bacterias PGPRs ayuda en la protección de las raíces permitiendo la funcionalidad de hasta el 71.24 %; porcentaje presentado por el tratamiento 1. Sin embargo, un control químico eficiente (Tratamiento 4) preserva la actividad radicular (72.92%). La susceptibilidad de las plántulas sin medidas de control (Tratamiento 5) se ve influenciada al desequilibrio de la microbiota afectando con un índice de daños del 15.77% y la baja adaptabilidad de las rizobacterias al ambiente provoca pérdidas de 16.59% (Tratamiento 3), mientras que bajo el mismo parámetro el índice de daños ocasionados por *R. similis* en los tratamientos 1, 2 y 4 son de 12.28%, 14.18% y 11.37%; respectivamente (Tabla 11).

**Tabla 11**

*Análisis nematológico de raíces de banano.*

Muestra	Peso radicular(g)		% raíces		Índice de daños (%)	Población de nematodo en 100 g de raíces totales <i>Radopholus similis</i>
	Masa total	Promedio estandarizado	“Muertas”	“Funcionales”		
Tratamiento 1	229.86	1.39	28.24	71.24	12.28	1.000
Tratamiento 2	233.26	1.41	33.09	66.91	14.18	2.000

Tratamiento 3	208.71	1.26	34.63	65.37	16.59	4.000
Tratamiento 4	238.08	1.44	27.08	72.92	11.37	5.000
Tratamiento 5	197.94	1.20	31.22	68.78	15.77	13.000

Nota: Tratamientos 1, 2 y 3 (Apliaci3n de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Qu3mico) y tratamiento 5 ( Testigo absoluto). Analisis realizado por la empresa privada In-Nema (Servicio de an3lisis y manejo de insectos y nematodos del agro).

#### **4.1.14 An3lisis Foliar**

El desarrollo de inoculantes microbianos usado para mejorar la asimilaci3n de nutrimentos se ve asociado a los macronutrientes primarios (Tabla 12), como se indica en los an3lisis foliares, que tratamientos 1, 3 y 4 poseen concentraciones de 2.9%, 2.8% y 2.9 % en nitr3geno; respectivamente. Tratamientos 1 y 2 muestran niveles aceptables de f3sforo (0.23% y 0.27%), a diferencia de los tratamientos 3, 4 y 5 con elevaciones excesivas (0.32%, 0.33% y 0.39%); dado el orden. El contenido de potasio oscila entre 3.10% - 3.22%, presentando concentraciones aceptables.

La relaci3n entre los nutrientes de la hoja y el crecimiento de las plantulas de banano, muestra que el tratamiento 2, facilita un suministro aceptable de macro y micronutrientes (Tabla 12), mejorando la capacidad de absorpci3n, revelando concentraciones positivas en zinc (18 ppm), cobre (12 ppm), hierro (152 ppm) y boro (26 ppm).

**Tabla 12***Análisis foliar de plántulas de banano.*

<b>Datos</b>	<b>(%)</b>						<b>(ppm)</b>				
<b>Identificación</b>	<b>N</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>S</b>	<b>Zn</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>B</b>
<b>Tratamiento 1</b>	2.9 A	0.23 A	3.10 A	0.80 A	0.36 A	0.15 D	14 D	12 A	142 A	696 A	21 A
<b>Tratamiento 2</b>	2.6 A	0.27 A	3.22 A	0.79 A	0.38 A	0.40 E	18 A	12 A	152 A	692 A	26 A
<b>Tratamiento 3</b>	2.8 A	0.32 E	3.10 A	0.82 A	0.39 A	0.42 E	16 D	13 A	143 A	693 A	27 A
<b>Tratamiento 4</b>	2.9 A	0.33 E	3.11 A	0.81 A	0.45 A	0.41 E	14 D	12 A	148 A	684 A	25 A
<b>Tratamiento 5</b>	2.6 A	0.39 E	3.22 A	0.85 A	0.45 A	0.27 A	15 D	13 A	178 A	691 A	24 A

Nota: Tratamientos 1, 2 y 3 (Apliación de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Químico) y tratamiento 5 (Testigo absoluto). A) Adecuado (Color verde); D) Deficiente (Color rojo); E) Excesivo (Color naranja). Análisis realizados por INIAP-Pichilingue.

## 4.2 Discusión

La producción de bacterias PGPRs se ve favorecida por la dependencia de los componentes adecuados para su formulación, como se determinó del tratamiento 1 presentando concentraciones de  $9.70E+09$  UFC/ul, mientras que los consorcios bacterianos de los tratamientos 2 y 3 demostraron comunidades bacterianas de  $8.65E+09$  y  $8.35E+09$  UFC/ul; respectivamente. Mendoza *et al.* (28) menciona, que durante la fermentación aeróbica las bacterias PGPRs en especial *Streptomyces avermitilis* producen diversos compuestos bioactivos, entre uno de ellos abamectina que actúa sobre el nematodo por contacto e ingestión.

La colonización de las bacterias en la superficie radicular reveló que el tratamiento 1 posee un índice de cargas UFC/ul de  $1.26E+10$ ,  $1.38E+10$  y  $1.07E+10$  en los días 30, 60 y 90; respectivamente. Amogou *et al* (33) señala que esta etapa de colonización es favorece el crecimiento y protección de la planta. Mediante al reencuentro se determinó que durante los días 15, 30, 45, 60, 75 y 90 las interacciones intracelulares (iPGPR), intervienen cargas bacterias de  $3.00E+09$ ,  $1.83E+09$ ,  $1.45E+09$ ,  $1.50E+08$ ,  $1.89E+09$ ,  $2.50E+09$ ; respectivamente. De hecho, Acosta (20) señala que este amplio espectro de colonizar las especies vegetales, contribuye a la biofertilización y bioestimulación, mejorando los procesos de nutrición y resistencias bióticas o abióticas.

El uso de consorcios bacterianos favoreció en el ritmo de la emisión foliar determinando valores de 0.43 (tratamiento 1) resultado no muy alejado del tratamiento 4 (0.42). De misma forma sobre el conteo de número de hojas, indica tratamientos 1 y 2 (5.8 y 5.4); respectivamente. Estas interacciones intracelulares mejoran varios parámetros de la planta, no obstante, sobre la longitud y ancho de la hoja indicando que el tratamiento 4 mejora un 31.82 cm(longitud) y 15.82 cm (ancho), la publicación emitida por Afsharmanesh *et al.* (32) expresa estudios relevantes de *Pseudomonas* y *Bacillus* promueven el crecimiento de las plantas.

La presencia de comunidades bacterianas ayuda al sistema radicular portándole una mayor elongación por esta razón el tratamiento 3 superó con un promedio de 35.64 cm, pero esta extensión radicular no presento un peso adecuado. Los exudados secretados por las raíces como polisacáridos y aminoácidos son aprovechables por las rizobacterias según Afsharmanesh *et al.*

(32) de la misma forma expresa Mendoza *et al.* (28) sobre el estudio de la longitud radicular; cuantifica al sistema radicular a explorar el más la superficie subterránea en la busca de agua y nutriente.

Aplicaciones químicas reducen considerablemente el daño provocado por el nematodo *Radopholus similis* en las plántulas de banano (Tratamiento 4), permitiendo índices de 11.37 %, sin embargo no promueve eficientemente en la muerte del parásito (5 000 nematodos/ 100 g de raíz). Mientras que el empleo de bacterias PGPRs como biocontroladoras permite obtener índices de hasta 12.28 % con poblaciones de 1 000 nematodos (Tratamiento 1). De hecho, Verdesoto (21) declara mediante ensayos, la mortalidad de nematodos juveniles 2 con las cepas BMR 2-12, CHA0, PM 3-8. Además, Chaves *et al.* (29) menciona que la actividad antagonista hacia *R. similis* es dominada por la cepa CHA0 y reduce la eclosion de huevos de otros nematodos tales como: *Meloidogyne* spp y *M. javanica*, igualmente en la mortalidad de los estadios juveniles de *M. javanica*.

El consorcio bacteriano obtenido de diferentes medios hipoteticamente pudiese influir en la incidencia de daños y en la población de *R. similis*, ya que componentes emplados en cada formulación podría mejorar la secrecion de compuestos bioactivos producidos por la bacteria; tal como se presenta del tratamiento 3, que posee 4 000 nematodos y el porcentaje de incidencia de daños es el mas alto con 16.59 %, sin embargo la notable diferente del tratmiento 5 que presenta 13 000 nematodos y posee el 15.77 % de daños. La influencia del medio podria ser posible tal es el caso de los estudios realizados por Verdezoto (21) en donde demuestra la eficiencia del extracto celular y el sobrenandante (Compuestos bioactivos producidos por bacterias) individualmente a nivel in vitro expuestos al *R. similis*, cepas de *Pseudomonas protegens* (CHA0), *Acinetobacter calcoaceticus* (BMR 2-12), *Serratia marcescens* (PM 3-8) y *Enterobacter asburiae* (PM 3-14) determinaron presentar antagonismo.

Este trabajo se empleó PGPRs que son capaces de producir antibióticos y metabolitos secundarios como 2-4 DAPD. De hecho, Canchignia *et al.* (31) menciona que las cepas anteriormente indicadas se caracterizan por producir 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.

La concentración de clorofila muchas veces se ve aumentada tras la aplicación de abonos orgánico (biofertilizantes) tal como menciona Quinde (25). Sin embargo, Otero (26) indica que aplicaciones bacterianas no siempre es diferenciado sobre tratamientos químicos. El contenido de clorofila A revela que la utilización se consorcios bacterianos no fue mayor, dado que su función es promover un crecimiento en la biomasa de la planta, obteniendo valores de 9.37, 7.71 y 6.95 mg/cm<sup>2</sup> (Tratamiento 1, 2 y 3), tratamiento 4 (11.18 mg/cm<sup>2</sup>) y tratamiento 5 (10.72 mg/cm<sup>2</sup>). Mientras que las mayores concentraciones sobre la clorofila total son de los tratamientos 4 y 5, (16.35 y 16.36 mg/cm<sup>2</sup>) a diferencia sobre el estudio de Crespo (27).

**CAPÍTULO V**  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## 5.1 Conclusiones

El menor porcentaje de incidencia de daños provocados por *Radopholus similis* se obtuvo del tratamiento 4 (Control químico) con 11.37% en presencia de 5 000 nematodos, sin embargo, el empleo de consorcios bacterianos (Tratamiento 1) permitió obtener índices de 12.28% en presencia de 1 000 nematodos.

El tratamiento 1 mejoró varios parámetros morfológicos, determinando mayor emisión foliar (0.43), número de hojas (5.8), longitud radicular (31.12 cm), sin embargo, presenta semejanzas numéricas con el tratamiento 4 sobre algunos parámetros, inclusive presentó mejor contenido de clorofila A (11.18 mg/cm<sup>2</sup>) y clorofila total (16.35 mg/cm<sup>2</sup>).

La eficiencia nutricional aportadas por aplicaciones bacterianas en presencia de *Radopholus similis* reveló que el tratamiento 2 aportó un adecuado porcentaje en macronutrientes y micronutrientes, a excepción del azufre presentando concentraciones altas ( 0.40%), sin embargo el tratamiento 4 mostró un exceso de fósforo (0.33 %) y azufre (0.41 %) y unicamente una deficiencia de zinc ( 14 ppm).

## 5.2 Recomendaciones

Evaluar la eficiencia de las PGPRs como biocontroladoras de *Radopholus similis* en los retoños de plantaciones de banano establecidas.

Implementar el uso de bacterias PGPRs para la producción de cultivos hidropónicos en el mejoramiento fisiológico y morfológico del cultivar.

Establecer nuevos medios alternativos para la producción PGPRs a gran escala con la finalidad de conservar altas concentraciones microbianas en sistema intracelular de la planta mejorando el sistema de absorción de nutrientes.

**CAPÍTULO VI**  
**BIBLIOGRAFÍA**

## 6.1 Bibliografía

1. Araya M, Vargas A, Cheves A. Nematode distribution in roots of banana (*Musa AAA cv. Valery*) in relation to plant height, distance from the pseudostem and soil depth. *Nematology*. El 24 de agosto de 1999;1:6.
2. Cabrera Zhiminaicela JB, Quevedo Guerreño JN, García Batista RM. La producción de banano en la Provincial de El Oro y su impacto en la agrobiodiversidad. *S | Revista Científica Multidisciplinaria de la Universidad Metropolitana de Ecuador*. Septiembre de 2020;3(3):189–95.
3. Espinosa Velepucha Y, Guerrero Quevedo JN, García Batista RM. Determinación de la eficiencia de diferentes trampas para el control de picudo negro (*Cosmopolites sordidus G.*) En banano orgánico. *Agroecosistemas*. El 3 de mayo de 2019;7(1):171–80.
4. Acosta Martínez A, Salinas Cayón DG. Dinámica del crecimiento y desarrollo del banano (*Musa AAA Simmonds cvs. Gran Enano y Valery*). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* [Internet]. 06 - 10- 2011;64(2):6055–64. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v64n2/v64n2a03.pdf>
5. Campuzano Vera A. Efecto del Tipo de Producción de Banano Cavendish en su Comportamiento Poscosecha. *Revista Tecnológica ESPOL –RTE*. Noviembre de 2010;8.
6. Okonya J, Ocimati W, Nduwayezu A, Kantungeko D, Niko N, Blomme G, et al. Farmer Reported Pest and Disease Impacts on Root, Tuber, and Banana Crops and Livelihoods in Rwanda and Burundi. *Sustainable Agriculture*. El 15 de marzo de 2019;11:20.
7. Tumuhimbise R, Barekye A, Tendo R. NABIO808' (Syn. 'NAROBAN5'): A tasty cooking banana cultivar with resistance to pests and diseases. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* [Internet]. El 7 de Agosto de 2019;5. Disponible en:

<http://dx.doi.org/10.1590/1984-70332019v19n4c71>

8. Guevera Ramia RB. Analizar los costos de producción de una caja de banano convencional de la hacienda Los Tamarindos del sitio Jumón Santa Rosa. [Machala]: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA; 2015.
9. Velazco Chávez C, Figueroa Solórzano F, Vargas Araya M. Relación entre nematodos y la productividad del banano (*Musa AAA*) en Ecuador. *Agronomía mesoamericana*. 16 de Noviembre 2009;351–60.
10. Lazarova S, Coyne D, Rodríguez MG, Peteira B, Ciancio A. Functional Diversity of Soil Nematodes in Relation to the Impact of Agriculture—A Review. *Soil Nematodes Research* [Internet]. El 4 de febrero de 2021; Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/d13020064>
11. Tripath L, Atkinson H, Roderick H, Kubiriba J, Jaindra N. Genetically engineered bananas resistant to *Xanthomonas* wilt disease and nematodes. *Food and Energy Security* [Internet]. El 29 de marzo de 2017;6(2):37–47. Disponible en: <http://dx.doi.org/doi.org/10.1002/fes3.101>
12. Singh S, Singh B, Singh. Nematodes: A Threat to Sustainability of Agriculture. *Sciencedirect* [Internet]. 2. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.proenv.2015.07.270>
13. Riascos Ortíz D. Los nematodos fitopatógenos como inductores de estrés biótico en plantas. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* [Internet]. El 7 de enero de 2014;5(2):10. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22490/21456453.1341>
14. Chabrier C, Queneherve P. 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* [Internet]. 9 de Julio de 2002;22:7. Disponible en:

[http://dx.doi.org/10.1016/S0261-2194\(02\)00121-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0261-2194(02)00121-7)

15. Roosvelt Olea A. “Manejo integrado del nematodo (*Radopholus similis*) en el cultivo de banano (*Musa AAA*). [Babahoyo – Los Ríos – Ecuador]: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO; 2020.
16. Kosma P, Ambang Z, Begoude B, Ten Hoopen G, Kuate J, Akoa A. Assessment of nematicidal properties and phytochemical screening of neem seed formulations using *Radopholus similis*, parasitic nematode of plantain in Cameroon. *Crop protection* [Internet]. El 20 de febrero de 2011;30:6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2011.02.026>
17. George N. *Fitopatología-Planta Pathology*. 2010.
18. Ajay K, Singh A, Choudhary K. Role of Plant Growth Promoting Microorganisms in Sustainable Agriculture and Nanotechnology. *Sciencedirect* [Internet]. 20 de junio de 2019;(Woodhead Publishing). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/C2018-0-01338-9>
19. Cedeño Moreira ÁV. Identificación molecular de *Phytophthora* spp, mediante el empleo de marcadores moleculares (ITS)., y efecto antagonista de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) [Internet]. [Quevedo - Los Ríos - Ecuador]: UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO; 2018. Disponible en: <http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/3314>
20. Acosta Rodríguez JL. Evaluación de la cinética de crecimiento de PGPR y su actividad antagonista hacia *Meloidogyne incognita* “in vitro”. [Quevedo - Los Ríos - Ecuador]: UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO; 2018.
21. Verdesoto Valencia ÁV. “Evaluación del efecto de rizobacterias promotoras de crecimiento de plantas (pgprs) con actividad antagonista hacia el nematodo *Radopholus similis* en

el cultivo de banano in vitro”. [Quevedo - Los Ríos - Ecuador]: UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO; 2018.

22. Infostat [Internet]. Com.ar. [citado el 9 de abril de 2022]. Disponible en: <https://www.infostat.com.ar/>

23. Brun J. Thèse Doctor at d'Etat, Université de París. En: La Cercosporiose du bananier. 1963.

24. Venon LP. Spectrophotometric Determination of Chlorophylls and Pheophytins in Plant Extracts. Analytical Chemistry [Internet]. 01 de agosto de 1960;32(9):1144–50. Disponible en: <http://dx.doi.org/doi.org/10.1021/ac60165a029>

25. Quinde Ortiz F. “Evaluación de la incidencia de la aplicación foliar de un biofertilizante elaborado a base de frutas en el nivel de clorofila a y b y en la calidad del follaje de tomate riñón (*Solanum lycopersicum* L.), fresa (*Fragaria vesca*), y rosas (*Rosae* sp.)”. [Ambato-Ecuador]: UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO; 2014.

26. Otero Monserrat C. Interacción de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) con lechuga (*Lactuca sativa* L.). [México]: BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA; 2021.

27. Crespo Avila J. “Actividad antagonista de PGPR en nematodos fitoparásitos *Pratylenchus* spp. Y *Radopholus similis* en *Musa acuminata* (cavendish)”. [Quevedo - Los Ríos - Ecuador]: UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO; 2019.

28. Mendoza R A, Kiewnick S, Sikora A R. 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 [Internet]. El 28 de enero de 2008;18(4):377–89. Disponible en: <https://sci-hub.hkvisa.net/10.1080/09583150801952143>

29. Chaves P N, Pocasangre E L, Elango F, Rosales E F, Sikora R. Combining endophytic fungi and bacteria for the biocontrol of *Radopholus similis* (Cobb) Thorne and for effects on plant growth. *Sci Hortic (Amsterdam)* [Internet]. 2009;122(3):472–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2009.05.025>
30. Canchignia Martínez F, Barrera Álvarez A, Canchignia Malagón G, Morante Carriel J, Peñafiel Jaramillo M, Cruz Rosero N. Aplicación de rizobacterias que promueven el crecimiento en plantas (PGPR) del género *Pseudomonas* spp como controladores biológicos de insectos y nematodos-plagas. *Cienc tecnol* [Internet]. 2015;8(1):25–30. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.18779/cyt.v8i1.143>
31. Canchignia Martínez FH, Chávez Arteaga KT, Guato Molina JJ, Peñafiel Jaramillo MF, Mestanza Uquillas CA. Selección Bacterias fluorescentes productoras de metabolitos antagónicos de cultivares nativos de *Musa* sp. Y su diversidad filogenética al gen *arnr 16S*. *Cienc tecnol* [Internet]. 2018;11(2):17–29. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.18779/cyt.v11i2.204>
32. Afsharmanesh H, Ahmadzadeh M, Javan-Nikkhah M, Behboudi K. CHARACTERIZATION OF THE ANTAGONISTIC ACTIVITY OF A NEW INDIGENOUS STRAIN OF *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* ISOLATED FROM ONION RHIZOSPHERE. *Journal of Plant Pathology*. 2010;92(1):187–94.
33. Amogou O, Dagbénonbakin G, Nadège Adoukè A, Pacôme Agossou N, Pacôme Agossou N, Marcel Yévèdo A, et al. Applying Rhizobacteria on Maize Cultivation in Northern Benin: Effect on Growth and Yield. *Agricultural Sciences*. Junio de 2019;10(6):763.

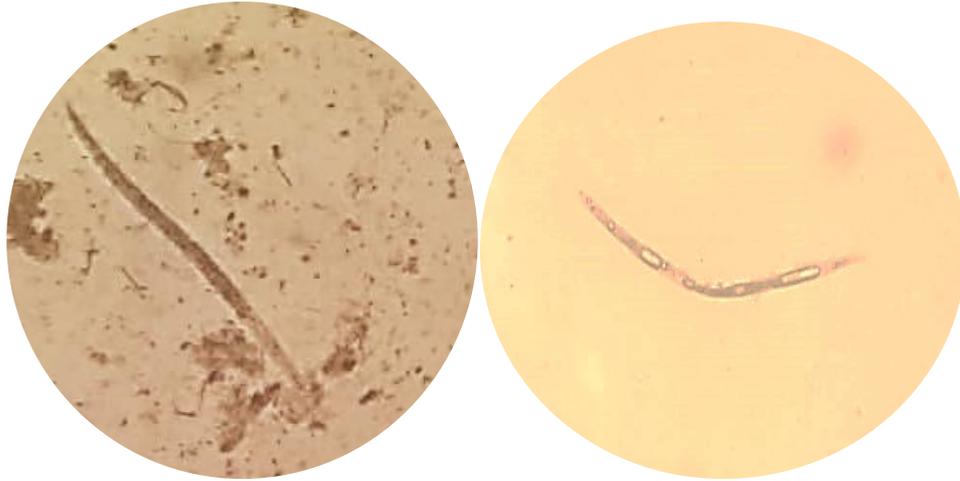
## **CAPÍTULO VII**

### **ANEXO**

## 7.1 Anexo

### Anexo 1

*Identificación morfológica de Radopholus similis.*



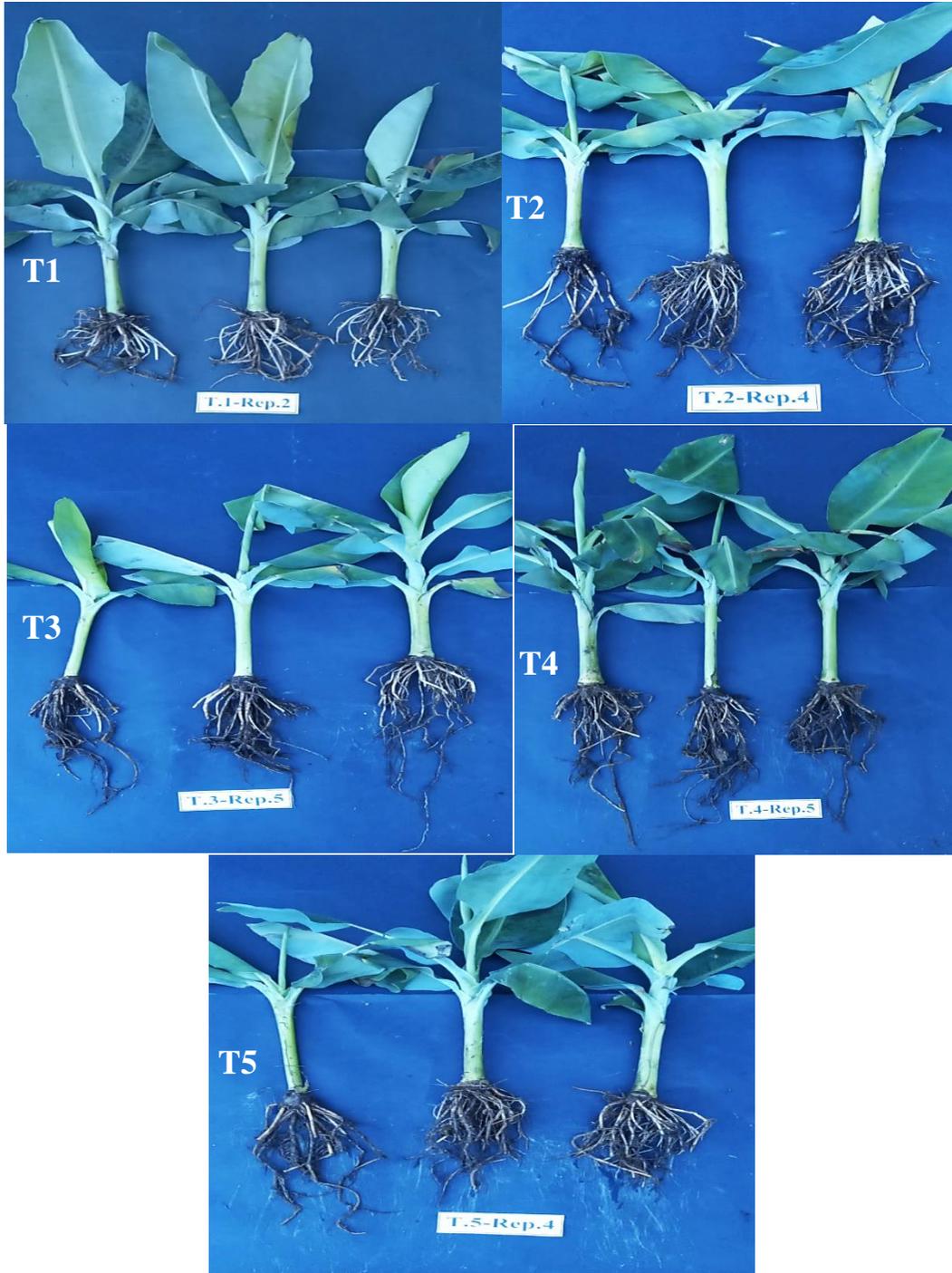
### Anexo 2

*Daños en las raíces de banano provocados por Radopholus similis.*



### Anexo 3

Plántulas de banano cultivar Williams. Tratamientos 1, 2 y 3 (Aplicaciones de bacterias PGPRs), tratamiento 4 (Control Químico) y tratamiento 5 ( Testigo absoluto).



#### Anexo 4

*Recolección de raíces de bananera establecida.*



#### Anexo 5

*Recolección de muestras foliar para el análisis de clorofila.*



## Anexo 6

*Aislamiento de bacterias endófitas del área foliar.*

