

RESEARCH/ INVESTIGACIÓN

***POCHONIA CHLAMYDOSPORIA* NO CONTROLE DO NEMATOIDE DE GALHAS EM BANANEIRA**

R. T. Barbosa^{1,2}, T. S. A. Monteiro^{2,*}, R. R. Coutinho², J. G. Silva², L. G. Freitas².

¹Parte da dissertação da primeira autora, para pós-graduação em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa- UFV; ²Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa (UFV), CEP 36570-900, Minas Gerais, Brazil; ⁶Departamento de Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa (UFV), CEP 36570-900, Minas Gerais, Brazil; *Corresponding author: thalita.monteiro@ufv.br

RESUMO

Barbosa, R. T., T. S. A. Monteiro, R. R. Coutinho, J. G. Silva, e L. G. Freitas. 2019. *Pochonia chlamydosporia* no controle do nematoide de galhas em bananeira. *Nematropica* 49:99-106.

A bananicultura sofre grandes perdas econômicas com danos causados por nematoides, em especial os nematoides de galhas. Esses nematoides são de difícil manejo e o controle biológico tem sido utilizado a fim de minimizar os prejuízos gerados por esses patógenos. Sendo assim, foi avaliada a capacidade do fungo *Pochonia chlamydosporia* controlar o nematoide *Meloidogyne javanica*, promover o crescimento e colonizar o sistema radicular de mudas de banana. Um produto comercial, à base do isolado Pc-10 do fungo *P. chlamydosporia*, foi aplicado em mudas micropropagadas de bananeira durante o período de aclimação e no momento do plantio nas concentrações de 2.000, 3.000, 4.000 e 5.000 clamidósporos/g de substrato. As diferentes concentrações do fungo testadas resultaram em redução do número de ovos de *M. javanica* por grama de raiz de bananeira, sendo que na concentração de 5.000 clamidósporos/g e essa variável foi reduzida em 67%, em relação ao tratamento controle. A altura da parte aérea, massa da parte aérea seca, diâmetro do pseudocaule e massa da raiz fresca de bananeira tiveram maior incremento na concentração de 5.000 clamidósporos/g de substrato quando comparado ao controle. O fungo foi detectado associado às raízes das plantas bem como no substrato ao final dos experimentos, mostrando sua capacidade de se estabelecer, multiplicar e sobreviver no ambiente da muda micropropagada. *Pochonia chlamydosporia* foi eficiente na redução dos danos causados por *M. javanica* e na promoção do crescimento das mudas de bananeira.

Palavras-chave: Fungo nematófago, *Meloidogyne javanica*, promoção de crescimento

ABSTRACT

Barbosa, R. T., T. S. A. Monteiro, R. R. Coutinho, J. G. Silva, and L. G. Freitas. 2019. *Pochonia chlamydosporia* for controlling root-knot nematode in banana. *Nematropica* 49:99-106.

Nematodes, especially root-knot nematodes, cause important damages in banana plants. These nematodes are difficult to manage and biological control has been used to minimize the losses generated by these pathogens. Thus, we assessed the ability of the fungus *Pochonia chlamydosporia* to control *Meloidogyne javanica*, promote banana growth, and colonize the root system of banana seedlings. A

commercial product based on *P. chlamydosporia* Pc-10 isolate was applied to micropropagated banana plants during the acclimatization period and at planting in concentrations of 2,000, 3,000, 4,000 and 5,000 chlamydoespores/g of substrate. The different concentrations of the fungus resulted in a reduction in the number of eggs of *M. javanica*/g of root. The number of eggs of *M. javanica*/g of roots, at the concentration of 5,000 chlamydoespores/g substrate, was reduced to 67%, relative to the control treatment. Shoot height, dry shoot mass, pseudostem diameter, and fresh mass of banana roots were greatest in those plants treated with 5,000 chlamydoespores/g substrate when compared to the control. The fungus was detected in association with the roots of the plants and the substrate at the end of the experiment, showing its ability to establish, multiply, and survive in the micropropagated seedlings. *Pochonia chlamydosporia* is efficient in reducing the damage caused by *M. javanica* and in promoting the growth of banana seedlings.

Key words: Growth promotion, *Meloidogyne javanica*, nematophagous fungus

INTRODUÇÃO

A banana (*Musa* spp.) é o fruto tropical mais consumido no mundo e o Brasil é o quinto maior produtor mundial, atrás da Índia, China, Filipinas e Equador (FAO, 2015), produzindo cerca de 7 milhões de toneladas em cerca de 500 mil hectares plantados (IBGE, 2016). A banana, o arroz, trigo e o milho são considerados as principais fontes de alimento do mundo (Perrier *et al.*, 2011).

Atualmente, essa fruteira tem sido cultivada por meio de micropropagação que garante a eliminação de possíveis fitopatógenos e o transplante de material vegetativo sadio. Além disso, permite maior produção em menor tempo e espaço físico (Crócomo, 1986), tornando essa prática cada vez mais presente no sistema de produção. A qualidade da muda é o fator mais importante, pois possibilita uma uniformidade no plantel, maior produção, produtividade e sanidade do bananal (Couceiro *et al.*, 2001).

A bananeira é hospedeira de diferentes patógenos que afetam a sua produtividade. Dentre eles, destacam-se *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, que causa o Mal do Panamá, *Mycosphaerella fijiensis* e *M. musicola*, que causam as manchas foliares de sigatoka e os nematoides parasitas de raízes, principalmente *Radopholus similis*, *Pratylenchus coffeae*, *Helicotylenchus multicinctus* e *Meloidogyne* spp.. As espécies de nematoides de galhas mais frequentes nas regiões brasileiras produtoras de banana são *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* (Cofcewicz *et al.*, 2004). Uma única prática de manejo não é suficiente no controle de fitonematoides, bem como do ematoide de galhas,

sendo necessária a implantação do manejo integrado.

Dentro do manejo integrado, o controle biológico tem ganhado destaque por ser uma prática sustentável e, atualmente, serem disponibilizados, pela indústria, organismos eficientes na redução dos danos causados por esse patógenos. Dentre os organismos conhecidos como agentes de controle biológico de fitonematoides, destaca-se o fungo *Pochonia chlamydosporia*. Esse gênero foi descrito pela primeira vez após seu isolamento de amostras de solo coletadas no Nordeste brasileiro (Batista and Fonseca, 1965). No entanto, o primeiro relato como antagonista de fitonematoides ocorreu por Willcox and Tribe (1974), após ter sido isolado de ovos de *Heterodera schachtii* e *Heterodera avenae* (Kerry, 1975). Esse organismo é parasita de ovos de nematoides e possui ainda a capacidade de colonizar o sistema radicular de espécies cultivadas, promover o crescimento vegetal e solubilizar P (ManzanillaLópez *et al.*, 2013; Gouveia *et al.*, 2018).

Diante da eficiência de *P. chlamydosporia* como agente de controle biológico de fitonematoides, da importância da bananicultura ao Brasil bem como dos danos que os nematoides de galhas causam a essa cultura, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do fungo no controle de *M. javanica* em bananeira Prata Anã e na promoção de desenvolvimento vegetal.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do inóculo de Meloidogyne javanica

Ovos do nematoide *M. javanica* foram obtidos de raízes de tomateiros e extraídos pela técnica de Hussey e Barker (1973). A suspensão aquosa foi vertida em duas peneiras granulométricas sobrepostas, sendo a superior com abertura de malha de 0,074 mm (200 mesh) e a inferior com abertura de 0,025 mm (500 mesh). Os ovos retidos na última peneira foram lavados em água corrente e, com o auxílio de uma piseta, recolhidos em um béquer com capacidade de 250 mL. Posteriormente, a concentração do inóculo foi ajustada para 5000 ovos por ml utilizando uma câmara de Peters.

Preparo da concentração do fungo Pochonia chlamydosporia à base do isolado Pc-10

O isolado Pc-10 de *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* é o componente ativo do produto Rizotec® (Rizoflora Biotecnologia). O produto é formulado em pó e constituído de clamidósporos do fungo, que foram suspensos em água e a suspensão ajustada nas concentrações 2.000, 3.000, 4.000 e 5.000 clamidósporos/g de substrato.

Preparo de mudas micropropagadas

As mudas micropropagadas utilizadas foram do cultivar Prata Anã clone Gorutuba, oriundas de meristemas retirados de mudas do tipo “chifrinho”. Os meristemas foram estabelecidos, *in vitro*, em meio de cultura de Murashige and Skoog-(MS) (Murashige and Skoog, 1962), previamente gelificado com 6 g/L de ágar, acrescentado 30 g/L de sacarose e 4 mg/L da citocinina BAP (6-benzilaminopurina). A cada mês foram realizados subcultivos, totalizando cinco subcultivos, mantidos no mesmo meio de cultura MS, em sala de crescimento com temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, e com fotoperíodo de 12 horas.

A partir do quinto subcultivo, as gemas foram individualizadas e estabelecidas em frascos de 250 mL contendo 50 mL de meio de cultura MS, previamente autoclavado, suplementado com 0,1 mg/L de auxina ANA (ácido naftaleno acético), 0,1 mg/L inositol e acrescido de 30 g/L de sacarose e a presença de 0,3 g/L de carvão ativado, gelificado com 9,7 g/L de ágar e o pH foi ajustado para 5,8. Posteriormente, os frascos de cultivo com as gemas estabelecidas foram mantidos nas mesmas condições da etapa anterior por um período de 30

dias.

Após essa fase de enraizamento, as mudas apresentaram cerca de 5,5 cm de altura, com três folhas definitivas e raízes bem formadas. Em seguida, na fase de aclimação, foram transplantadas individualmente para vasos plásticos (500 mL) contendo 300 mL de substrato comercial Tropstrato HT e receberam as suspensões com concentrações de 0, 2.000, 3.000, 4.000 ou 5.000 clamidósporos do fungo por g de substrato. As parcelas experimentais foram cobertas com saco plástico transparente, transferidas para câmara de crescimento a 28°C , dispostas em blocos casualizados e armazenadas por 15 dias. Após esse período, os sacos foram removidos, as mudas foram cultivadas durante 30 dias e foram transferidas para casa de vegetação.

Condução dos experimentos em casa de vegetação

O experimento foi conduzido em duas épocas. O primeiro foi conduzido no final do outono e durante inverno, com média das temperaturas máximas de $26,6^\circ\text{C}$ e média das temperaturas mínimas de $17,9^\circ\text{C}$. O segundo ensaio ocorreu no final do inverno e durante primavera, com a média das temperaturas máximas de $37,3^\circ\text{C}$ e a média das temperaturas mínimas de $20,4^\circ\text{C}$. Ambos os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação. Vasos plásticos foram preenchidos com 5 L de mistura de solo de barranco e areia, na proporção 1:1 (v:v), previamente esterilizado com Basamid®. O fungo foi aplicado ao substrato de cada vaso em concentrações de 0, 2.000, 3.000, 4.000 ou 5.000 clamidósporos/g de substrato. Em seguida, 5 ml de suspensão com 5.000 ovos de *M. javanica*, foram distribuídos em quatro cavidades de 5 cm de profundidade no substrato. Após 15 dias de infestação do substrato com o fungo e com o nematoide, as mudas provenientes da fase de aclimação foram transplantadas para cada vaso.

O cultivo da bananeira foi conduzido por 60 dias após o transplantio. Posteriormente, foram avaliadas as seguintes variáveis: altura de parte aérea, massa da parte aérea seca, diâmetro do pseudocaule, massa da raiz fresca e número de ovos de nematoide por grama de raiz de bananeira. Para a extração dos ovos utilizou a técnica de Hussey e Barker (1973) e o número de ovos foi estimado utilizando o microscópio estereoscópio com auxílio de câmara de Peters.

O delineamento experimental adotado foi em blocos ao acaso (DBC) com sete blocos e cinco tratamentos, representando as concentrações de clamidósporos por grama de substrato para o controle de *M. javanica* em plantas de bananeira. A unidade experimental foi constituída por um vaso de 5 L com uma planta.

A avaliação da população de Pc-10 no solo ao final do experimento foi realizada por meio da quantificação das unidades formadoras de colônia (UFC). No final do experimento, foi coletado 1 g de substrato de cada vaso e realizado o plaqueamento em meio semi-seletivo, conforme Gaspard *et al.* (1990), com três repetições por tratamento.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste LSD e regressão linear em 5% e 1% de significância.

Análise da colonização endofítica em raízes de banana

Ao final da fase de aclimação das mudas micropropagadas, 0,5 g de fragmento de raízes de bananeira de 1-2 cm de comprimento foi coletado em todas as parcelas. Nesse ensaio, foram utilizadas apenas raízes dos tratamentos testemunha (0 clamidósporos/g) e 5.000 clamidósporos/g de substrato. Posteriormente, as raízes foram diafanizadas em KOH 10% (p:v) por 12 horas, submetidas a sucessivas lavagens e acidificadas com HCl 1% (p:v) por 5 min., Em seguida adicionou-se o azul de tripano 0,05% em lactoglicerol (p:v), à 70°C por 60 min, e as raízes permaneceram estocadas em lactoglicerol (Phillips and Hayman, 1970; Brundett *et al.*, 1996). Para a confirmação da presença do fungo, foram montadas preparações de lâmina e laminula com água e feitas observações em microscópio de luz (modelo AX-70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japão) acoplado à câmera fotográfica digital (modelo Zeiss AxioCam HRc, Göttinger Alemanha) e microcomputador com o programa de captura de imagens Axion Vision.

RESULTADOS

Doses crescentes de clamidósporos de *P. chlamydosporia* por grama de substrato reduziram

o número de ovos de *M. javanica* por grama de raiz de bananeira (Fig. 1). Na maior concentração, 5.000 clamidósporos/g de substrato, a redução foi em média de 67%.

A aplicação de Pc-10 resultou em incremento das variáveis altura da parte aérea, massa da parte aérea seca, diâmetro do pseudocaule e massa da raiz fresca de bananeira a medida que aumentava a concentração do fungo (Figs. 2 e 3). Com o aumento das doses, houve um melhor desenvolvimento das mudas.

Para o número de UFC de Pc-10 por grama de substrato, verificou-se que houve efeito significativo nas diferentes concentrações do fungo. Ocorreu um efeito linear crescente no número de UFC de Pc-10 no substrato (Fig. 4) em ambos os experimentos.

Quando avaliou-se a colonização de *P. chlamydosporia* em raízes de bananeira Prata Anã, foi constatado que o fungo associou-se às raízes (Fig. 5).

DISCUSSÃO

A utilização do fungo *P. chlamydosporia* na fase de aclimação das mudas de bananeira Prata Anã, produzidas em cultura de tecido, e adição ao substrato protegeram as plantas contra o nematoide de galhas, *M. javanica*. Esse fungo é um eficiente parasita de ovos de nematoides. Na fase de ovo, o nematoide de galhas encontra-se mais suscetível ao ataque de antagonistas, devido ao fato dos ovos estarem localizados geralmente sobre a superfície das raízes e, assim, ficam expostos mais facilmente ao parasitismo de fungos, como a exemplo de *P. chlamydosporia*.

A aplicação de *P. chlamydosporia* proporcionou efeito significativo na redução do nematoide com o aumento das doses de clamidósporos do fungo. A maior dose aplicada (5.000 cl/g de solo) favoreceu o maior controle de *M. javanica*. Nessa mesma dose, foi observado maior número de UFC do fungo no solo. Resultado semelhante foi encontrado por Bourne and Kerry (1999) que verificaram que aplicação de doses crescentes de *P. chlamydosporia* (5.000, 10.000 e 50.000 clamidósporos/g de solo) aumenta a colonização do solo e da rizosfera de diferentes plantas hospedeiras pelo fungo. Segundo De Leij and Kerry (1991), a concentração de *P.*

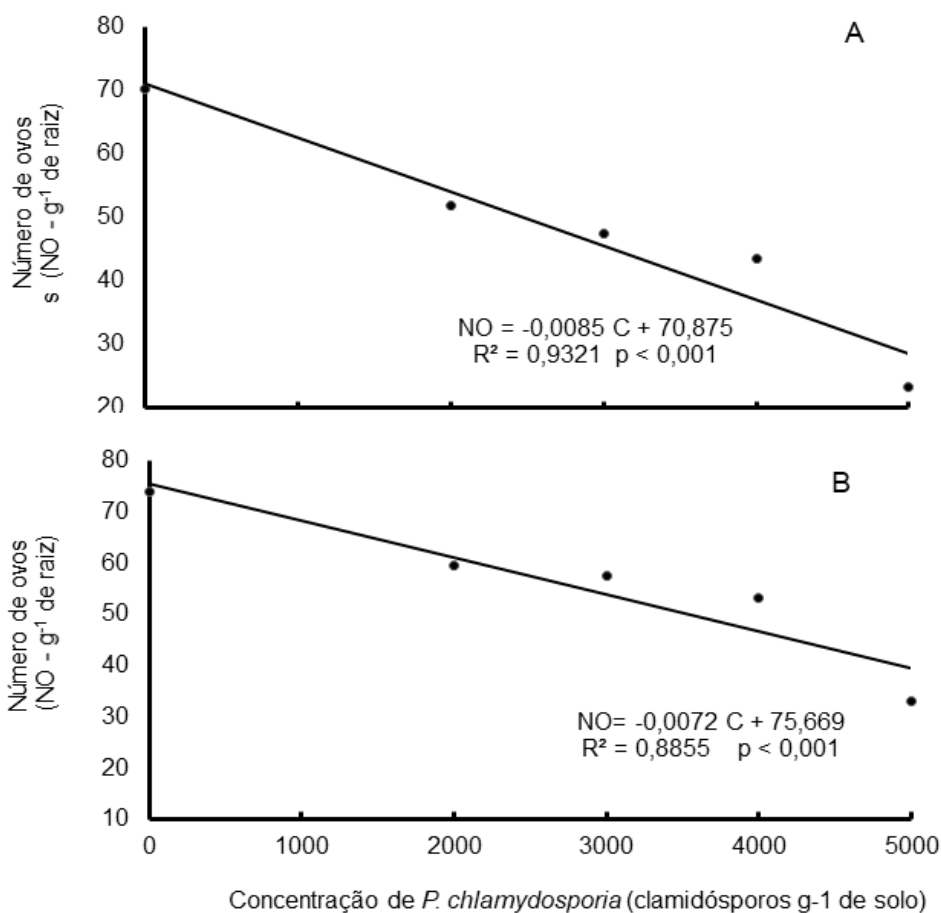


Figura 1. Número de ovos *Meloidogyne javanica* em raízes de bananeira tratadas com 1.000, 2.000, 3.000, 4.000 e 5.000 clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* por grama de solo. Experimento 1 (A) e 2 (B).

chlamydosporia no solo pode aumentar de 10^4 para 10^5 UFC/g de solo, no decorrer de um período de 30 dias, principalmente em raízes com presença de galhas, uma vez que a intensa liberação de exsudatos pelas raízes infectadas por nematoides estimula o desenvolvimento do fungo.

Além de ser parasita de ovos de nematoides, *P. chlamydosporia* é capaz de crescer na rizosfera de diferentes plantas como endofítico. (Bourne *et al.*, 1996; Bordallo *et al.*, 2002; Dallemole-Giaretta *et al.*, 2015; Monteiro *et al.*, 2018). Nesse trabalho, observamos pela primeira vez a presença de clamidósporos associados a raízes de bananeira.

Além da habilidade de parasitismo de ovos e colonização de raízes esse fungo tem a capacidade

de solubilizar P, aumentar o conteúdo de nutrientes em plantas e produzir hormônios importantes para o desenvolvimento vegetal, como auxina (Zavala-Gonzales *et al.*, 2015; Monteiro *et al.*, 2018; Gouveia *et al.*, 2019). Essas ações de *P. chlamydosporia* somadas à redução da população do nematoide podem ter melhorado o desenvolvimento das plantas.

CONCLUSÕES

Esses estudos preliminares indicam que fungo *P. chlamydosporia* pode ser utilizado na cultura da banana no controle do nematoide de galhas bem como para melhoria do desenvolvimento das

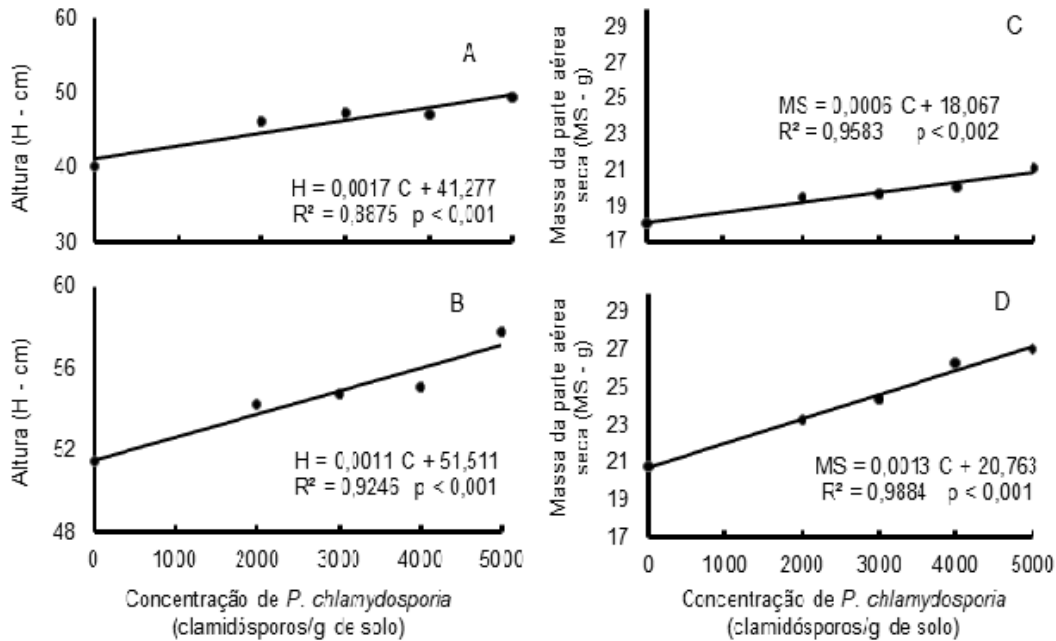


Figura 2. Altura e massa da parte aérea seca das plantas de bananeira tratadas com 1.000, 2.000, 3.000, 4.000 e 5.000 clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* por grama de solo. Experimento 1 (A e C) e 2 (B e D).

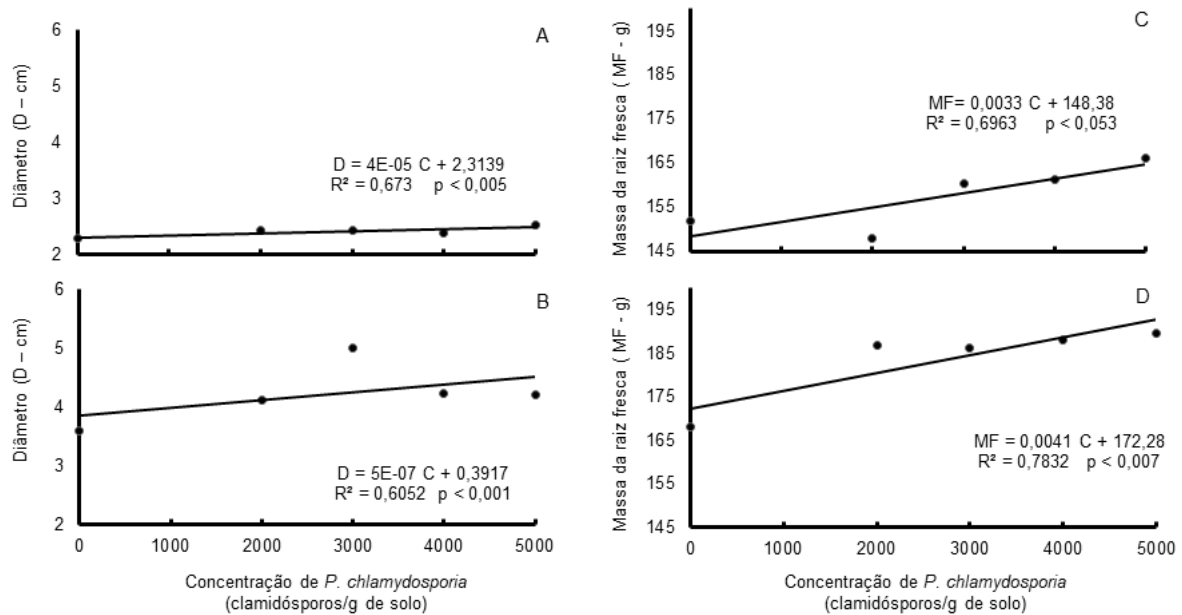


Figura 3. Diâmetro do pseudocaule e massa da raiz fresca das plantas de bananeira tratadas com 1.000, 2.000, 3.000, 4.000 e 5.000 clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* por grama de solo. Experimento 1 (A e C) e 2 (B e D).

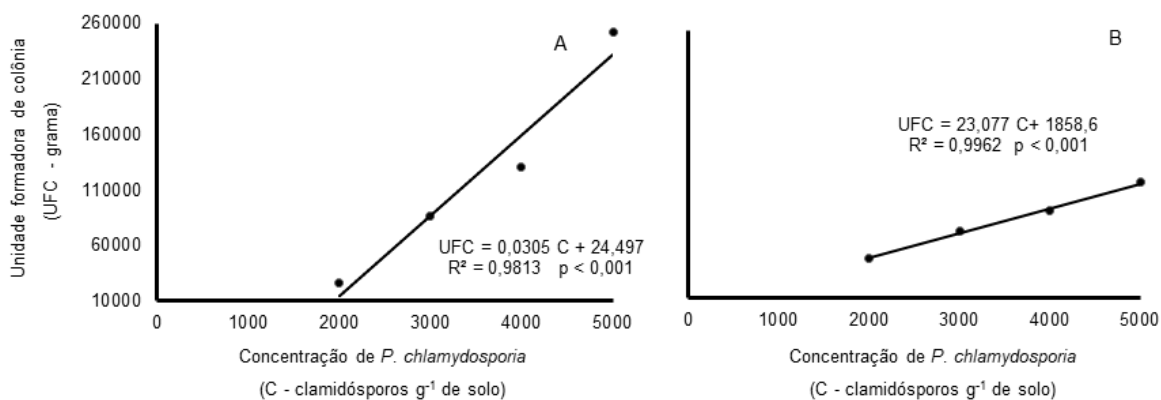


Figura 4. Unidades formadoras de colônias de *Pochonia chlamydosporia* no solo cultivado com banana e tratado com 1.000, 2.000, 3.000, 4.000 ou 5.000 clamidósporos de fungo por grama de solo. Experimento 1 (A) e 2 (B).

plantas. A facilidade de associar as raízes, beneficiar as plantas, se desenvolver no solo, além da ação sobre fitonematoides, facilitam a utilização desse fungo como a gente de controle biológico.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional do Desenvolvimento

Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

LITERATURA CITADA

- Batista, A. C., and O. J. M. Fonsêca. 1965. *Pochonia humicola* n. gen. e n. sp., uma curiosa entidade fúngica dos solos do Nordeste do Brasil. Publicações do Instituto de Micologia da Universidade do Recife 462:1-11.
- Bordallo, J. J., L. V. Lopez-Llorca, H. B. Jansson, J. Salinas, L. Persmark, and L. Asensio. 2002. Colonization of plant roots by egg-parasitic and nematode-trapping fungi. *New Phytologist* 154:491-499.
- Bourne, J. M., and B. R. Kerry. 1999. Effect of the host plant on the efficacy of *Verticillium chlamydosporia* as a biological control agent of root-knot nematodes at different nematode densities and fungal application rates. *Soil Biology and Biochemistry* 31:75-84.
- Bourne, J. M., B. R. Kerry, and F. A. A. M. De Leij. 1996. The importance of the host plant on the interaction between root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) and the nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium* Goddard. *Biocontrol Science and Technology* 6:539-548.
- Cofcewicz, E. T., R. M. D. G. Carneiro, C. M. T. Cordeiro, P. Quénéhervé, and J. L. C. Faria.

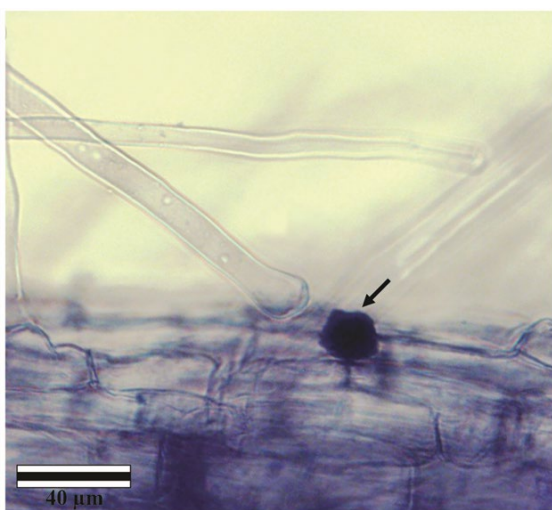


Figura 5. Associação de *Pochonia chlamydosporia* em raiz de banana coradas com azul de tripano. Seta indica presença de clamidósporo na superfície da raiz.

2004. Reação de cultivares de bananeira (*Musa* spp.) a diferentes espécies de nematóides das galhas. *Nematologia Brasileira* 28:11-22.
- Couceiro, M. A., D. L. Siqueira, W. E. Pereira, and L. M. Neves. 2001. Crescimento de explantes *in vitro* e de mudas de bananeira cv. Maçã submetidas a doses de sacarose nas fases de enraizamento e aclimatação. *Revista Ceres* 48:615-627.
- Crócomo, O. J. 1986. Plant biotechnology in the agriculture and development in Brazil. *in* Simpósio Anual da Academia de Ciência de São Paulo. Anais. São Paulo, 11:53-71.
- Dallemole-Giaretta, R., L. G. Freitas, E. A. Lopes, M. C. S. Silva, M. C. M. Kasuya, and S. Ferraz. 2015. *Pochonia chlamydosporia* promotes the growth of tomato and lettuce plants. *Acta Scientiarum Agronomy* 37:417-423.
- De Leij, F. A. A. M., and B. R. Kerry. 1991. The nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* as biological a potential control agent for *Meloidogyne arenaria*. *Revue de Nematologie* 14:157-164.
- FAO 2015. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. Comércio: bananas. Disponível em: http://www.fao.org/economic/est/est-ommodities/bananas/bananafacts/en/#.Wp_HRS8KOM. Acesso em: 07 de março de 2018.
- Gaspard, T., B. A. Jaffee, and H. Ferris. 1990. Association of *Verticillium chlamydosporium* and *Paecilomyces lilacinus* with root-knot nematode infested soil. *Journal of Nematology* 22:207.
- Gouveia, A. D. S., T. S. A. Monteiro, S. V. Valadares, B. L. Sufiate, L. G. de Freitas, H. J. D. O. Ramos, and J. H. de Queiroz. 2019. Understanding How *Pochonia chlamydosporia* Increases Phosphorus Availability. *Geomicrobiology Journal*, 1-5.
- Hussey, R. S., and K. R. Barker. 1973. Comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57:1025-1028.
- IBGE 2016. Estatística de produção agrícola. Disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/default.asp>. Acesso em: 07 de março de 2018.
- Kerry, B. R. 1975. Fungi and the decrease of cereal cyst nematode populations in cereal monoculture1. *EPPO Bulletin* 5:353-361
- Manzanilla-Lopez, R. H., I. Esteves, M. M. Finetti-Sialer, P. R. Hirsch, E. Ward, J. Devonshire, and L. Hidalgo-Diaz. 2013. *Pochonia chlamydosporia*: Advances and challenges to improve its performance as a biological control agent of sedentary endo- parasitic nematodes. *Journal of Nematology* 45:1-7.
- Monteiro, T. S. A., S. V. Valadares, I. N. K. de Mello, B. C. Moreira, M. C. M. Kasuya, J. V. de Araújo, and de Freitas, L. G. 2018. Nematophagus fungi increasing phosphorus uptake and promoting plant growth. *Biological Control* 123:71-75.
- Murashige, T., and F. A. Skoog. 1962. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497.
- Perrier, X., E. De. Langheb, M. Donohuec, C. Lentferd, L. Yrydaghs, F. Bakry, F. Carreel, I. Hippolvte, J. P. Horry, C. Jenny; V. Lebot, A. M. Risterucci, K. Tomekpe, H. Doutrelepont, T. Bali, J. Manwaring, P. Maret, and T. Denham. 2011. Multidisciplinary perspectives on banana (*Musa* spp.) domestication. *PNAS Early Edition*, Panamá 108:11311-11318.
- Phillips, J. M., and D. S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55:158-161.
- Zavala-Gonzalez, E. A., N. Escudero, F. Lopez-Moya, A. Aranda-Martinez, A. Exposito, J. Ricaño-Rodríguez, M. A. Naranjo-Ortiz, M. Ramírez-Lepe, and L. V. Lopez-Llorca. 2015. Some isolates of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* promote root growth and reduce flowering time of tomato. *Annals of Applied Biology* 166:472-483.
- Willcox, J., and H. T. Tribe. 1974. Fungal parasitism in cysts of *Heterodera*. I. Preliminary investigations. *Transactions of the British Mycological Society* 62:585-594.

Received:

11/IV/2018

Accepted for publication:

18/IX/2018

Recibido:

Aceptado para publicación: