

ARTÍCULO ORIGINAL

Efectividad de hongos nematófagos sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en tomate en condiciones de campo, Loja, Ecuador

**Tulio F. Solano Castillo^{I*}, Marcia L. Castillo Ávila^I, José V. Medina Medina^I,
Elio M. del Pozo Núñez^{II}**

^IUniversidad Nacional de Loja, Ciudad Universitaria Guillermo Falconí Espinosa, Loja, Ecuador, PBX: 072547252.

^{II}Universidad Agraria de la Habana, Autopista Nacional km 23^{1/2}, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de varios aislamientos autóctonos de los hongos *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams (Hypocreales: Clavicipitaceae) y *Purpureocillium lilacinum* Luansa-ard *et al.* (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae) en el control de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood, en tomate, en condiciones de campo. Se utilizaron seis aislamientos fúngicos y un control sin aplicación, distribuidos según un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas. Las aplicaciones de los hongos lograron reducir el índice de agallamiento por *M. incognita*, así como las poblaciones de juveniles infestivos (J_2) en el suelo y en las raíces del cultivo, a la vez que se observó un estímulo en las variables agronómicas número de frutos, masa de los frutos y rendimiento agrícola. Estos resultados constituyen una contribución a la solución del problema de los nematodos formadores de agalla, en el cultivo del tomate en las condiciones de Loja, Ecuador, con recursos locales, no agresivos al medio ambiente.

Palabras clave: hongos nematófagos, *Meloidogyne incognita*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum*, tomate.

Effectiveness of nematophagous fungi on *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood on tomato in field conditions in Loja, Ecuador

ABSTRACT: This work was aimed to evaluate the effect of isolates of the fungi *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare and Gams (Hypocreales: Clavicipitaceae) and *Purpureocillium lilacinum* Luansa-ard *et al.* (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae) in the *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood control in tomato in field conditions. The assay comprised six fungic isolates and a control without fungi, in a randomized block design. In treated plants the gall index and the nematode population in roots and in the soil were reduced in comparison with the untreated plots. The number of fruits, the weight of fruits and yields were enhanced in the plots treated with the fungi. These results are a contribution to the solution of the root-knot nematode problem in the conditions of Loja, Ecuador, with local resources and no harmful to the environment.

Key words: nematophagous fungi, *Meloidogyne incognita*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum*, tomato.

INTRODUCCIÓN

Los nematodos formadores de agallas en las raíces, pertenecientes al género *Meloidogyne* Göldi, se encuentran ampliamente distribuidos en los países tropicales y subtropicales, y ocasionan severas pérdidas económicas, fundamentalmente en los cultivos

hortícolas, entre ellos, el tomate, *Solanum lycopersicum* L. (1, 2).

La creciente preocupación de los agricultores por los nematodos agalladores y las limitaciones de los nematicidas químicos, debido a sus efectos negativos en los agroecosistemas, requieren desarrollar alterna-

*Autor para correspondencia: Tulio F. Solano Castillo. E-mail: tulio_solano@yahoo.es.

tivas para resolver esta problemática (2, 3), dentro de las cuales se le atribuye una gran importancia al uso de agentes de control biológico, ya sea solos o integrados con otras estrategias de manejo (4,5).

Varias especies de hongos se evaluaron para el control de nematodos, pero las más prometedoras son *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams (Hypocreales: Clavicipitaceae) y *Purpureocillium lilacinum* Luangsa-ard *et al.* (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae), tanto por su efecto de control, como por la relativa facilidad con que se producen masivamente (6, 7, 8,9).

P. chlamydosporia es un hongo del suelo ampliamente distribuido, con gran capacidad para infectar y destruir huevos y hembras de nematodos, además de ser capaz de colonizar endofíticamente las raíces de cultivos importantes, estimulando el crecimiento y las defensas de las plantas (10). Por su parte, *P. lilacinum* infecta huevos y hembras de *Meloidogyne* spp. y causa la muerte de los embriones en 5-7 días. Este hongo ofreció excelentes resultados en diferentes condiciones (4).

En Ecuador, y en la provincia de Loja en particular, resulta muy escasa la información relativa al uso de hongos nematófagos para el control de *Meloidogyne* spp., por lo que se hace necesario realizar ensayos que permitan descubrir las potencialidades de estos agentes en las condiciones específicas de la región.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de diferentes aislamientos autóctonos de los hongos nematófagos *P. chlamydosporia* y *P. lilacinum*, en el control de *M. incognita* en el cultivo del tomate, en condiciones de campo, en la provincia de Loja, Ecuador.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se desarrolló en la provincia de Loja, Ecuador, en la zona de valles interandinos donde tradicionalmente se cultiva el tomate. En muestras de raíces agalladas de un cultivo previo de tomate en el área experimental (583 m²), mediante la técnica de los cortes perineales (11) y la comparación con las descripciones y patrones disponibles (12), se identificó la especie presente como *M. incognita*. Además, se tomaron muestras de suelo en cinco puntos representativos y se determinó una población natural de juveniles infestivos de 2755±37 J₂/100 cm³ de suelo mediante la técnica de platos calados, una modificación del método de Baerman (13), con el auxilio de un microscopio Olympus con aumento de 100X.

Se utilizaron plantas de la especie *S. lycopersicum* cv. Caribe y la siembra se realizó en forma directa; se garantizó el manejo agronómico tradicional para el cultivo en la zona de estudio y se mantuvo la humedad en el suelo a la capacidad de campo durante todo el experimento.

Se utilizaron los aislamientos fúngicos: Pch-001, Pch-005, PI-001, PI-002, PI-004 y PI-005; los dos primeros de la especie *P. chlamydosporia*, y los restantes de *P. lilacinum*, aislados a partir de material de la zona de estudio, identificados de acuerdo a descripciones y claves para géneros y especies (14, 15,16) y conservados en el cepario del Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional de Loja, Ecuador.

Para la obtención del material necesario para las aplicaciones, los hongos fueron propagados según la metodología referida por Montes de Oca *et al.* (17), en frascos planos de vidrio, en un sustrato a base de arroz. Después de dos semanas, el sustrato colonizado por el hongo se secó sobre bandejas metálicas en una incubadora a 30°C ±1°C, se trituró con un molino manual y se determinó la concentración de conidios en cámara de Neubauer.

A partir de la concentración obtenida, se realizaron los ajustes para aplicar 6 x 10⁸ conidios por planta. La cantidad necesaria de sustrato molido se mezcló con 100 g de suelo y se incorporó manualmente en el sitio de siembra de la semilla, o en la zona de la rizosfera de la planta. Se realizaron tres aplicaciones: en el momento de la siembra y a los 15 y 45 días después de la misma.

El ensayo se estableció según un diseño de bloques al azar, con siete tratamientos (seis aislamientos y un control) y cuatro réplicas. Cada réplica se conformó con 20 plantas de las cuales se evaluaron 10.

La evaluación final del ensayo se realizó a los cuatro meses de edad, al 50% de la fructificación. Se determinó el índice de agallamiento, con la escala de 10 grados de Bridge y Page (18) y la población del nematodo (juveniles/100 cm³ de sustrato y juveniles/10 g de raíces) mediante el procedimiento indicado anteriormente (13). Además, se cuantificó el número de frutos por planta, la masa promedio de los frutos (g) y el rendimiento (kg/planta).

Los datos de agallamiento se transformaron según la expresión $(x+1)^{1/2}$ y los de población según la expresión $(x)^{1/2}$. En todos los casos los datos fueron sometidos a un análisis de varianza de clasificación doble, y para la comparación de las medias se utilizó la Prueba de Tukey (19).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se produjeron diferencias significativas entre los tratamientos en lo relativo al índice de agallamiento. Solo el aislamiento PI-004 no difirió del control, donde no se aplicó hongo. Los restantes sí lo hicieron, y fueron estadísticamente similares entre ellos (Tabla 1).

Los dos aislamientos de *P. chlamydosporia* tuvieron un efecto similar, mientras que en el caso de *P. lilacinum* se produjo variabilidad intraespecífica en relación con el índice evaluado, característica muy frecuente en los hongos nematófagos (20,21).

La reducción del índice de agallamiento estuvo entre 25 y 54,3%, correspondiendo el mayor efecto al aislamiento Pch-001 de *P. chlamydosporia*, y el menor, al aislamiento PI-004 de *P. lilacinum*. Esta reducción está dentro de los intervalos informados en diversos trabajos para estas especies de hongos (7, 9, 21, 22).

Con relación a la población de juveniles, se produjeron diferencias significativas entre los tratamientos, para las dos variables evaluadas. Los dos aislamientos de *P. chlamydosporia*, así como los aislamientos PI-002 y PI-004 de *P. lilacinum*, presentaron los valores más bajos de juveniles en el suelo, sin diferencias estadísticas entre ellos, mientras que las poblaciones más altas correspondieron a los otros aislamientos de la última especie, aunque en todos los casos difirieron del control (Tabla 1).

Es de destacar que aunque los valores de población de juveniles donde se aplicaron los hongos son relativamente altos, todos los tratamientos provocaron

una sensible reducción con relación al control, desde 77,3% en el aislamiento PI-005 hasta el 84,6% en Pch-001. Igualmente, los tratamientos con los hongos lograron reducir la población inicial del nematodo en el suelo, reducción que alcanzó 77,4% en el caso del aislamiento Pch-001, mientras que en el control la población se incrementó en 1,46 veces durante los 4 meses que se mantuvo el cultivo en el campo. En ese período, *M. incognita* es capaz de desarrollar alrededor de cuatro generaciones, pues su ciclo es de unos 24 días en el cultivo del tomate (23).

Al analizar la población de juveniles en las raíces, se apreció que los valores de los tratamientos con los hongos también difirieron estadísticamente del control, pero entre ellos no, con excepción del aislamiento PI-002. La reducción de la población en las raíces estuvo entre 45,8% para PI-002 y 65,6% para Pch-005, valores muy similares a los informados para estas especies en otros trabajos (24, 25, 26), y se confirmó lo expresado por algunos autores en relación a que el cultivo del tomate resulta un buen hospedante para *P. chlamydosporia* (20).

Las tres variables agronómicas evaluadas evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos. Las aplicaciones de los hongos influyeron en el número de frutos por planta, donde se destacaron los dos aislamientos de *P. chlamydosporia* y el PI-001 de *P. lilacinum*, con los valores más altos, sin diferencias entre ellos. Los restantes aislamientos de esta última especie no difirieron entre ellos, y el PI-004 tampoco lo hizo con relación al control (Tabla 2).

TABLA 1. Efecto de aislamientos fúngicos sobre la formación de agallas y la población de *M. incognita* en tomate, en condiciones de campo. / *Effect of fungic isolates on gall formation and population of M. incognita in tomato, in field conditions.*

Aislamientos	Índice de agallamiento (Bridge y Page, 1980)		# de J ₂ /100 cm ³ suelo		# de J ₂ /10 g de raíz	
	X orig.	X transf.	X orig.	X transf.	X orig.	X transf.
Pch-001	4,2	2,3 c	621,5	24,88 d	5785,3	75,60 c
PI-001	4,7	2,4 c	876,0	29,50 b	5156,0	70,41 c
Pch-005	4,7	2,4 c	792,9	28,14 bcd	4816,3	69,37 c
PI-002	4,9	2,4bc	698,5	26,40 cd	7604,7	87,16 b
PI-004	6,9	2,8 ab	726,5	26,90 cd	5072,0	70,78 c
PI-005	5,5	2,5 bc	913,0	30,20 bc	4885,3	69,88 c
Control	9,2	3,2 a	4026,6	62,92 a	14018,5	118,31 a
ESx		0,01*		0,95*		1,62*
C.V. (%)		7.42		5,76		4,02

Medias con letras iguales, dentro de cada columna, no difieren significativamente, según Tukey (p≤0.05)

TABLA 2. Efecto de aislamientos fúngicos sobre variables agronómicas del tomate, en condiciones de campo./ *Effect of fungic isolates on tomato agronomic indicators in field conditions.*

Aislamientos	No. de frutos/planta	Masa de los frutos (g)	Rendimiento (kg/planta)
Pch-001	6,8 a	212,1 a	1,44 a
PI-001	5,8 abc	216,3 a	1,26 abc
Pch-005	6,2 ab	220,0 a	1,36 ab
PI-002	5,6 bc	209,6 ab	1,15 bc
PI-004	5,0 cd	211,3 a	1,05 c
PI-005	5,7 bc	211,6 a	1,19 abc
Control	4,1 d	186,2 b	0,76 d
ESx	0,23*	5,18*	0,056*
C.V. (%)	8,07	4,94	9,50

Medias con letras iguales, dentro de cada columna, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0,05$)

Las medias de la masa de los frutos fueron estadísticamente similares en todos los tratamientos con los hongos, y difirieron del testigo, con excepción del aislamiento PI-002, que mostró el valor más bajo.

Con relación al rendimiento, todas las variantes donde se aplicaron los hongos fueron diferentes del testigo; se destacan los dos aislamientos de *P. chlamydosporia* y el PI-001 y PI-005 de *P. lilacinum* con los valores más altos, que fueron hasta de 1,89 veces superior al testigo en el aislamiento Pch-001. El efecto de estímulo que pueden tener los hongos nematófagos en general, y estas dos especies, en particular, sobre variables del desarrollo y productivas de los cultivos, fue referido anteriormente (7, 10, 25).

A modo de conclusión, se puede afirmar que las aplicaciones de aislamientos autóctonos de las especies *P. chlamydosporia* y *P. lilacinum* en las condiciones de los valles subtropicales de la provincia de Loja, Ecuador, lograron reducir el índice de agallamiento por *M. incognita*, así como las poblaciones de juveniles infestivos (J_2) en el suelo y en raíces de tomate en condiciones de campo, a la vez que se observó un estímulo en las variables agronómicas número de frutos, masa de los frutos y rendimiento agrícola del cultivo del tomate. Lo anterior constituye una alternativa válida, con recursos locales no agresivos al medio ambiente, que pudieran ser incluidos en programas de manejo de los nematodos formadores de agalla, en las condiciones particulares de esos agroecosistemas.

REFERENCIAS

- Gómez L, González E, Enrique R, Hernández MA, Rodríguez MG. Uso de la biofumigación para el manejo de *Meloidogyne* spp., en la producción protegida de hortalizas. *Rev Protección Veg.* 2010;25(2):119-123.
- Collange B, Navarrete M, Peyre G, Mateille T, Tchamitchian M. Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: The challenge of an agronomic system analysis. *Crop Prot.* 2011;30(10):1251-1262.
- Kayani MZ, Mukhtar T, Hussain MA. Evaluation of nematicidal effects of *Cannabis sativa* L. and *Zanthoxylum alatum* Roxb. against root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita*. *Crop Prot.* 2012;31(1):52-56.
- Mukhtar T, Hussain MA, Kayani MZ. Biocontrol potential of *Pasteuria penetrans*, *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus* and *Trichoderma harzianum* against *Meloidogyne incognita* in okra. *Phytopathol Medit.* 2013;52(1):66-76.
- Timper P. Utilization of biological control for managing plant-parasitic nematodes. En: Davies K, Spiegel Y. (Eds). *Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes: Building Coherence Between Microbial Ecology and Molecular Mechanisms*, Progress in Biological Control 11. Springer Dordrecht Heidelberg, London New York. 2011; pp 259-289.
- Moosavi M, Zare R, Zamanizadeh H, Fatemy S. Pathogenicity of *Pochonia* species on eggs of *Meloidogyne javanica*. *J Invertebr Pathol.* 2010;104(2):125-133.
- Hashem M, Abo-Elyousr K. Management of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato with combinations of different biocontrol organisms. *Crop Prot.* 2011;30(3):285-292.
- López C, Carrión G, Núñez A. Isolation of fungi associated with *Criconeoides* sp. and their potential

- use in the biological control of ectoparasitic and semiendoparasitic nematodes in sugar cane. *Australian Journal of Crop Science*. 2014;8(3):389-396.
9. Viggiano J, Freitas LG, Lopes EA. Use of *Pochonia chlamydosporia* to control *Meloidogyne javanica* in cucumber. *Biol Control*. 2014;69(1):72-77.
 10. Larriba E, Jaime M, Carbonell J, Conesa A, Dopazo J, Nislow C, et al. Sequencing and functional analysis of the genome of a nematode egg-parasitic fungus, *Pochonia chlamydosporia*. *Fungal Genet Biol*. 2014;65(1):69-80.
 11. Taylor AL, Sasser JN. Biology, Identification and Control of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species). Department of Plant Pathology, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina, USA; 1978.
 12. Hunt DJ, Handoo ZA. Taxonomy, Identification and Principal Species. En: Perry RN, Moens M, Starr JL (Eds.) *Root-knot Nematodes*. CAB International, Wallingford, U.K. 2009; pp 55-97.
 13. Duncan LW, Phillips MS. Sampling Root-knot Nematodes. En: Perry RN, Moens M, Starr JL. (Eds.). *Root-knot Nematodes*. CAB International, Wallingford, U.K. 2009; pp 275-300.
 14. Zare R, Gams W, Evans HC. A revision of *Verticillium* section *Prostrata*. V. The genus *Pochonia*, with notes on *Rotiferophthora*. *Nova Hedwigia*. 2001;73:51-86.
 15. Kozakiewicz Z. *Paecilomyces lilacinus*. IMI Descriptions of Fungi and Bacteria No. 1426. CAB International, Egham, Surrey, UK; 2001.
 16. Luangsa-ard JJ, Houbraken J, van Doorn T, Hong SB, Borman AM, et al. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiol Lett*. 2011;321:141-149.
 17. Montes de Oca N, Arevalo J, Acosta N, Peteira B, Hidalgo L, Kerry B R. Estabilidad de la cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*. Parte I. Indicadores morfológicos, productivos y patogénicos. *Rev. Protección Veg*. 2005; .20(2): 93-100.
 18. Bridge J, Page SLJ. Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a rating chart. *Tropical Pest Management*. 1980;26:296-298.
 19. SAS Institute. SAS/STAT 9.1 User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, N.C. 2004.
 20. Manzanilla-López RH, Esteves I, Finetti MM, Hirsch PR, Ward E, et al. *Pochonia chlamydosporia*: Advances and Challenges to Improve Its Performance as a Biological Control Agent of Sedentary Endoparasitic Nematodes. *J Nematol*. 2013;45(1):1-7.
 21. Singh S, Pandey RK, Goswami BK. Bio-control activity of *Purpureocillium lilacinum* strains in managing root-knot disease of tomato caused by *Meloidogyne incognita*. *Biocontrol Sci Tech*. 2013;23(12):1469-1489.
 22. Dallemole R, Freitas LG, Cavallin IC, Marmentini GA, Faria CM, Resende JT. Evaluation of a *Pochonia chlamydosporia* based product, for the control of *Meloidogyne javanica* in carrot field. *Portuguese Nematropica*. 2013;43(1):131-137.
 23. Hernández-Ochardía D, Arias Y, Gómez L, Peteira B, Miranda I, Rodríguez MG. Elementos del ciclo de vida de una población cubana de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en *Solanum lycopersicum* L. *Rev Protección Veg*. 2012;27(3):188-193.
 24. Lora DM, Betancourt GC. Evaluación de los hongos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus* en el control de *Meloidogyne* spp. en lulo *Solanum quitoense* y tomate de árbol *Solanum betacea*. *Fitosanidad*. 2010;14(1):59.
 25. Abd Fattah AI, Shalaby NM, Wafa MA. Impact of two bio-products on *Meloidogyne javanica* and their influence on yield components of some sugar beet varieties. *J Applied Sciences Research*. 2013;9(8):4627-4637.
 26. Sabet OM, Sharifnabi B, Tehrani AA. Biological control of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* by four isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Isaria farinosa* on tomato plants. *Iranian J Plant Pathol*. 2013;49(2):215-228.

Recibido: 20-6-2014.

Aceptado: 12-10-2014.