

Evaluación de la actividad biocontroladora de *Arthrobotrys sp.* y *Paecilomyces sp.* sobre *Meloidogyne javanica* *in vitro* y bajo condiciones de invernadero en crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Anderson)

Evaluation of activity biocontroller of *Arthrobotrys sp.* and *Paecilomyces sp.* on *Meloidogyne javanica* under *in vitro* and greenhouse conditions in chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Anderson)

Lida Dávila¹ y Juan Clímaco Hío²

Resumen: Para evaluar la acción biocontroladora de *Arthrobotrys sp.* y *Paecilomyces sp.* sobre huevos y larvas de *Meloidogyne javanica* en crisantemo, se realizaron pruebas *in vitro* y en invernadero. Se tomaron 500 larvas y 500 huevos del nematodo contenidos en suspensiones de agua estéril y se trataron con concentraciones de $1,3 \cdot 10^6$; $1,4 \cdot 10^7$ y $6,4 \cdot 10^6$; $1,14 \cdot 10^7$ conidias/mL de *Arthrobotrys sp.* y *Paecilomyces sp.* Se observó bajo estereoscopia cada 24 horas, mientras la acción de los hongos sobre *M. javanica* se cuantificó a las 72 horas de incubación, con un índice de control mayor de 50% sobre larvas y huevos. En invernadero se sembraron esquejes en suelo con compost estéril bajo un diseño estadístico de bloques completos al azar. Los tratamientos fueron: hongos de forma individual y combinada; compost sólo y combinado con cada hongo; carbofuran (Furadan®); testigo patógeno y testigo absoluto. A los 45 días después de la inoculación se evaluó el peso fresco de la raíz, la longitud de la raíz, el número de nódulos y el de individuos de *M. javanica* ambulatorios en 100 g de suelo. Mediante la prueba de Duncan (5%) se determinó que el tratamiento de hongos en forma combinada controló a *M. javanica*, con un promedio de 18 nódulos en raíz, y fue menos eficiente comparado con el control individual, con un promedio de 7 y 8 nódulos en raíz respectivamente a los 45 días de transcurrida la infección. El compost no ejerció control sobre *M. javanica* pues presentó un promedio de 50 nódulos en raíz; el tratamiento (Furadan®) exhibió un promedio de 25 nódulos en raíz, mostrando diferencias significativas respecto a los tratamientos con los hongos nematófagos.

Palabras clave adicionales: Control biológico, compost, hongos nematófagos, nematodos.

Abstract: *In vitro* and greenhouse tests were carried out for evaluating *Arthrobotrys sp.* and *Paecilomyces sp.* biocontrol on *Meloidogyne javanica* eggs and larvae on chrysanthemum plants. 500 nematode larvae and 500 eggs were collected and placed in sterile water suspensions; they were then treated with $1,3 \cdot 10^6$; $1,4 \cdot 10^7$ y $6,4 \cdot 10^6$; $1,14 \cdot 10^7$ conidia/mL *Arthrobotrys sp.* and *Paecilomyces sp.* concentrations. Evaluations were made by stereoscope every 24 hours. The effect of fungi on *M. javanica* was quantified 72 hours after incubation, with a control above 50% on larvae and eggs. A random statistical design was employed for plants in soil and sterile compost in a greenhouse. Treatment was applied as follows: individually and combined together; compost alone and inoculated with each fungus; Furadan®; pathogenic target and absolute target. The following variables were evaluated 45 days after inoculation: fresh root weight, length, number of nodules and ambulatory *M. javanica* nematode juveniles in 100 g soil. The Duncan test (5%) determined that combined fungi controlled *M. javanica*, having an average of 18 nodules per root, being less efficient when compared to the individual control (an average of 7 and 8 nodules per root, respectively, 45 days after infection). Compost did not control *M. javanica*, presenting an average of 50 nodules per root. Furadan® treatment presented an average of 25 nodules per root, presenting significant statistical differences respecting treatment with the nematophagous fungi.

Additional key words: Biological control, compost, nematophagous fungi, nematode.

Fecha de recepción: 14 de diciembre de 2004
Aceptado para publicación: 27 de mayo de 2005

1 Bioecológicos Ltda., Sopó (Cundinamarca). e-mail: lidaskiper@yahoo.com

2 Investigador, Laboratorio Fitopatología, Programa de Manejo Integrado de Plagas, CORPOICA, C.I. Tibaitatá, Mosquera (Cundinamarca). e-mail: jhio469@hotmail.com

Introducción

EL CULTIVO DE CRISANTEMO en Colombia tiene un carácter intensivo por lo que está expuesto a muchos problemas fitosanitarios; entre ellos se cuenta la infestación por nematodos formadores de nódulos en raíz como *Meloidogyne sp.*, que ocasiona daños y pérdidas en cultivos de flores ornamentales los cuales afectan la calidad y la producción de la flor tipo exportación (Navarro y Gaviria, 1998). El método de control usual se realiza mediante el uso de nematicidas de síntesis química, los cuales generan contaminación ambiental y toxicidad en otros organismos biológicos, además de ocasionar grandes erogaciones a los floricultores.

Ante este problema se han encontrado métodos de control variados, como las cuarentenas, la erradicación de focos, las prácticas de higiene y otras medidas como la desinfección de semillas, la aplicación de materia orgánica como el compost y de microorganismos benéficos que habitan el suelo, los cuales disminuyen la población de nematodos, sobre la raíz en el estado de huevo y en suelo como adultos de vida libre.

El hongo depredador *Arthrobotrys sp.* desarrolla micelios en forma de argolla capaces de capturar los nematodos; así mismo, segrega una sustancia adhesiva en la superficie de las hifas que ayuda a la captura. A medida que crece el hongo se forman redes de hifas y anillos que constituyen verdaderas trampas para los nematodos que pasan cerca (Varón, 2000). Persson y Jansson (1999) concluyeron que los tratamientos con *Arthrobotrys dactyloides* en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum*), en Estados Unidos, disminuyeron el grado de nodulación ocasionado por el nematodo *Meloidogyne sp.* y redujeron su población en el suelo. Por otra parte, el hongo *Paecilomyces sp.* se caracteriza por ser parásito de huevos y otros estados larvales de nematodos; en almácigos de café, ha mostrado resultados efectivos sobre el género *Meloidogyne sp.*, pues redujo el número de estados juveniles infectivos (J3) del nematodo presente en las raíces de las plantas entre 32% y 49% para los tratamientos inoculados con 25 y 50 g del hongo en vehículo arroz, respectivamente (Giraldo *et al.*, 1997).

El compost, componente proveniente de diferentes materiales vegetales, que se incorpora al suelo a manera de regulador orgánico de las propiedades físico-químicas y microbiológicas del suelo, puede tener efecto de control sobre nematodos fitopatógenos, ya que ofrece nutrientes orgánicos de baja liberación y poblaciones

de biocontroladores (Goyal *et al.*, 1993, citado por Asocflores, 1994); así mismo, durante la degradación de materiales orgánicos puede liberar sustancias tóxicas y nematicidas que contribuyen al control de los nematodos (Esnard, 1998, cit. por Chen *et al.*, 2000).

Teniendo en cuenta que los hongos *Arthrobotrys sp.* y *Paecilomyces sp.* tienen actividad nematófaga y se desarrollan en materia orgánica, y que los estudios para el control de *Meloidogyne sp.* en el cultivo de crisantemo en la Sabana de Bogotá han sido escasos, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad biocontroladora de dichos hongos, multiplicados en compost vegetal, sobre el nematodo *Meloidogyne javanica*, tanto en suelo como en un sustrato combinado 50% de suelo y 50% de compost, bajo condiciones de invernadero.

Materiales y métodos

El experimento se realizó en el laboratorio y el invernadero de Fitopatología del Programa Manejo Integrado de Plagas de CORPOICA (C.I. Tibaitatá), localizado en el municipio de Mosquera, Cundinamarca. El compost utilizado provino de desechos de cosecha de cultivos de *Gypsophila* y pompón con un período de maduración de 16 semanas de la empresa Cultivos del Norte S.A.

Para la obtención del material vegetal afectado por *Meloidogyne javanica*, organismo que se aisló e identificó morfológica y taxonómicamente, se realizó un muestreo en un cultivo de crisantemo, tomando plantas de variedad susceptible al nematodo, a partir de pequeños focos producidos por el mismo en las camas de producción. El material muestreado se colocó en bolsas plásticas y fue llevado al invernadero del Departamento de Microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana, a fin de conservar y reproducir la población de inóculo del nematodo como cultivo puro bajo condiciones de invernadero en materos a temperatura de 25° C y humedad entre 60% y 70%.

La cepa del hongo *Arthrobotrys sp.* fue donada por el cepario del Laboratorio de Fitopatología de CORPOICA (C.I. Tibaitatá) y la cepa de *Paecilomyces sp.* fue proporcionada por el cepario de hongos del Laboratorio de Micología del Departamento de Microbiología de la Pontificia Universidad Javeriana. La purificación de las cepas se hizo en el medio harina de maíz al 1% recomendado por Solange *et al.* (1996) y por Sandoval y Sarmiento (2000).

Prueba de actividad nematófaga in vitro

La prueba *in vitro* consistió en determinar la actividad biocontroladora de los hongos *Arthrobotrys sp.* y *Paecilomyces sp.* sobre larvas y huevos del nematodo fitopatógeno *Meloidogyne javanica*. A partir de las colonias de *Arthrobotrys sp.* y *Paecilomyces sp.*, se obtuvo una suspensión madre de conidias ajustada a concentraciones de 10^6 y 10^7 conidias/mL de cada hongo en 25 mL de agua destilada.

La extracción de los nematodos se hizo a partir de 10 gramos de raíces de crisantemo con nódulos visibles de *Meloidogyne javanica*; para la extracción de huevos y larvas se utilizó la metodología propuesta por Dropkin (1989) y por Cabanillas *et al.* (1989): una vez picadas las raíces en fragmentos de 1 cm, se maceraron y el contenido se extrajo en un beaker a través de un tamiz fino (No. 60) para permitir el paso de los huevos y larvas; allí se dejó decantar el concentrado durante una hora para purificar los nematodos del sobrenadante. Finalmente, se colocaron 5 mL de esta suspensión en una siracusa de vidrio y se realizó el conteo de huevos y larvas bajo estereoscopio con el fin de determinar el promedio total por campo (Hío, 2002).

Para el montaje de la prueba *in vitro* se tomaron 30 siracusas en las cuales se depositó una suspensión de 500 larvas en primer y segundo estados junto con 500 huevos en 5 mL de agua destilada estéril. En seguida se adicionó la suspensión de los hongos contenidos en 2 mL de agua destilada estéril, distribuyendo al azar cinco tratamientos cada uno con seis repeticiones, así:

- T1: $1,3 \cdot 10^6$ conidias/mL de *Arthrobotrys sp.*
- T2: $1,4 \cdot 10^7$ conidias/mL de *Arthrobotrys sp.*
- T3: $6,4 \cdot 10^6$ conidias/mL de *Paecilomyces sp.*
- T4: $1,14 \cdot 10^7$ conidias/mL de *Paecilomyces sp.*
- T5: Nematodos no tratados (control)

Las muestras se incubaron en oscuridad y a temperatura de 25°C, condiciones óptimas para el desarrollo de los hongos y su hospedero; se realizaron observaciones bajo estereoscopio cada 4 horas durante 3 días. Finalmente, se hicieron montajes en láminas con larvas y huevos afectados, para determinar bajo microscopio el efecto de las dos especies de hongos sobre los nematodos Hío (2002).

Identificación de la especie mediante corte perineal

Para identificar la especie de *Meloidogyne* que afecta el cultivo de crisantemo, se utilizaron patrones perineales de hembras adultas y jóvenes. Las hembras fueron extraídas con agujas de disección, a partir de nódulos maduros visibles de raíces afectadas bajo estereoscopio, las cuales se colocaron en un recipiente de Seinhors con agua estéril y luego se realizaron varios cortes en la parte posterior de cada hembra. El corte se limpió con una solución TAF y se colocó en una lámina con una gota de azul de algodón para ser observado bajo microscopio con aumento de 65X. Cada montaje fue comparado morfológica y taxonómicamente, determinando rasgos morfométricos de los patrones perineales presentes en cada hembra mediante el uso de las claves de Taylor y Sasser (1983) e Hío (2002).

Método para la propagación masiva de Arthrobotrys sp. y Paecilomyces sp. a partir de compost vegetal

El inóculo para realizar la multiplicación masiva de los hongos se obtuvo a partir de cajas de petri con crecimiento masivo de los hongos en medio harina de maíz al 1%. El sustrato se preparó en recipientes de aluminio cubiertos y en recipientes de vidrio de 500 cc de capacidad, en donde se adicionaron 125 g de compost vegetal y un volumen de 110 mL de agua destilada con melaza al 1% y se esterilizaron durante 30 minutos a 121°C y 15 psi. Posteriormente, se inoculó con cada uno de los hongos y se incubó a 25°C en oscuridad por diez días.

Evaluación en invernadero

Para la prueba en invernadero se emplearon materos de fibrocemento (Eternit®) de 2 kg; el suelo utilizado se esterilizó y mezcló con cascarilla de arroz en una proporción 3:1. Para los tratamientos que requerían compost vegetal se preparó un sustrato con una proporción de 50% de suelo con cascarilla y 50% de compost vegetal. El ensayo se realizó bajo condiciones de invernadero con una temperatura de 25°C y una humedad relativa de 70%.

Posteriormente se tomaron 25 g de sustrato compost con crecimiento masivo de los hongos, los cuales se incorporaron en el suelo a una profundidad de 5 cm, manteniendo la humedad a capacidad de campo. Se esperó un período de ocho días para que los hongos se

establecieron en el suelo, antes de la inoculación de los nematodos y el transplante de los esquejes de crisantemo (Hío, 2002). La concentración inoculada de *Arthrobotrys sp.* y *Paecilomyces sp.* fue de $6,5 \cdot 10^6$ conidias/mL y $25 \cdot 10^6$ conidias/mL, respectivamente, lo cual fue definido de acuerdo con el ensayo *in vitro*.

A partir de raíces con nódulos visibles, procedentes de la cría de nematodos conservados y multiplicados en plantas de crisantemo, se realizó la extracción de huevos mediante el método descrito por Dropkin (1989) y por Cabanillas *et al.* (1989). Se inocularon 2.000 huevos del nematodo suspendidos en 10 mL de agua estéril en la raíz de la planta en la misma área donde fueron inoculados los hongos (Hío, 2002); enseguida se sembraron los esquejes de crisantemo (variedad Vero) con dos meses de desarrollo lo cuales se mantuvieron con riego constante.

Diseño experimental

La unidad experimental la conformó una planta de crisantemo sembrada en un matero. Se empleó un diseño de bloques completamente al azar, con nueve tratamientos y 16 repeticiones por tratamiento, así:

- T1: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.*
- T2: *M. javanica* + *Arthrobotrys sp.*
- T3: *M. javanica* + control químico (Furadan®): control (+)
- T4: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.* + *Arthrobotrys sp.*
- T5: *Paecilomyces sp.* + *Arthrobotrys sp.*
- T6: *M. javanica* (testigo patógeno): control (-)
- T7: *M. javanica* + *Arthrobotrys sp.* + compost
- T8: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.* + compost
- T9: *M. javanica* + compost
- T10: Testigo absoluto: planta + suelo

Transcurridos 30 y 45 días, se evaluaron las variables de tipo cuantitativo, según Ferreira (2000) y Freitas *et al.* (1999): longitud de la raíz (cm), peso fresco de la raíz (g), número de nódulos en la raíz y número de nematodos en el suelo (100 g). También se evaluó la abundancia o escasez de raíces en la plantas, ya que se presentó estimulación de la emisión de raíces por efecto del compost. En la primera y segunda evaluación (30 días y 45 días) se realizó un muestreo de forma destructiva, tomando al azar ocho plantas por cada tratamiento. Para la extracción de nematodos presentes en suelo se utilizó el método de elutriación con el levigador de Oostembrink (Figura 1), a partir de 100 g de suelo, según Southey (1970).



Figura 1. Levigador de Oostembrink utilizado para aislar los nematodos de muestras de suelo.

Los resultados se procesaron mediante análisis de varianza con comparación de promedios y análisis de correlación entre variables usando el programa estadístico SAS®.

Resultados y discusión

Identificación de la especie mediante corte perineal

Los patrones obtenidos a partir de cortes perineales de los nematodos hembra, procedentes de las raíces afectadas de plantas de crisantemo, corresponden a la especie *Meloidogyne javanica*, lo cual se confirmó mediante confrontación realizada con esquemas de patrones registrados para esta especie (Figura 2). *Meloidogyne javanica* y *Meloidogyne hapla* son las dos especies de este género de nematodo que se encuentran con frecuencia en cultivos de crisantemo, como lo reportan Navarro y Gaviria (1998) en Rionegro, Antioquia.

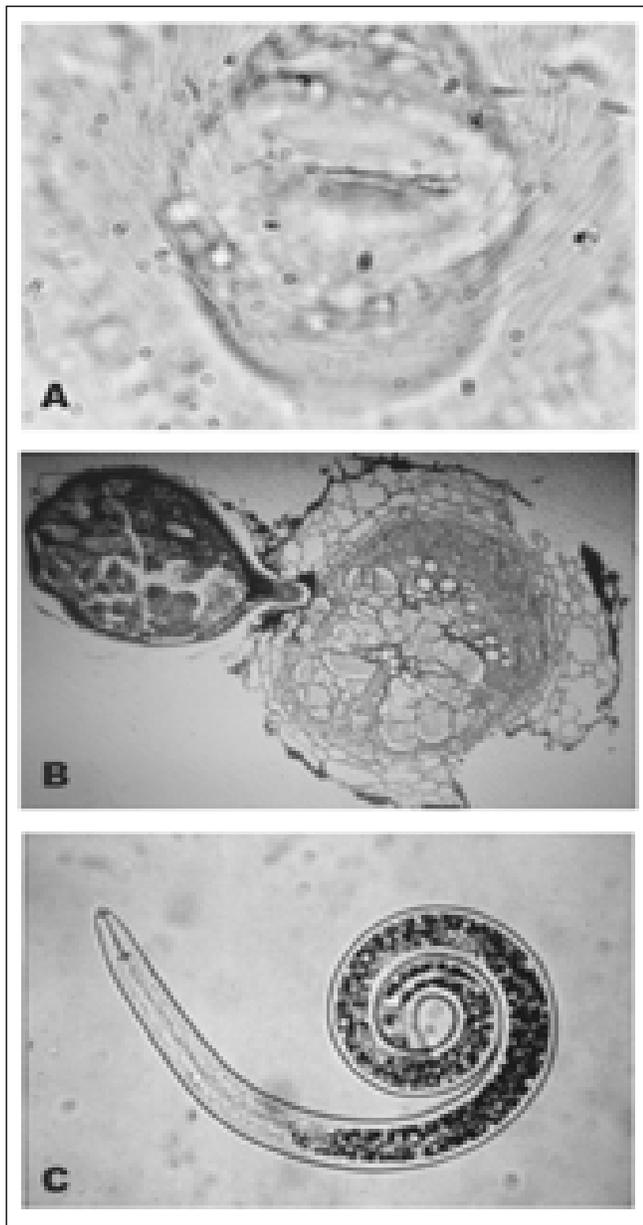


Figura 2. A: Corte perineal de *Meloidogyne javanica* obtenido a partir de hembras extraídas de raíces de crisantemo con coloración azul de algodón y 65X de aumento. Identificado por Hío (2002). B: Ubicación de la hembra de *Meloidogyne javanica* dentro del tejido de la planta; C: macho adulto de *Meloidogyne javanica*.

Actividad nematófaga in vitro de los hongos sobre *M. javanica*

En esta prueba se observó que, al cabo de 72 horas de incubación, hubo control de más del 50% de la población del nematodo en los tratamientos 1 y 2 (concentraciones de 10^6 y 10^7 conidias/mL de *Arthrobotrys sp.*), así como en los tratamientos 3 y 4 (concentraciones de 10^6

y 10^7 conidias/mL de *Paecilomyces sp.*), comparados con el tratamiento 5 (control).

Se logró evidenciar que *Arthrobotrys sp.* desarrolló crecimiento micelial en forma de pequeñas argollas que causaron ulceraciones sobre los nematodos en estado larval (Figura 3), a la vez que se depositaron esporas de este hongo en los huevos del nematodo. En los tratamientos con *Paecilomyces sp.* se observó crecimiento micelial sobre el cuerpo de los nematodos y rompimiento de la cutícula de los huevos, con posterior crecimiento micelial dentro de los mismos (Figura 4).

Ensayos *in vitro* realizados por Vakblad Voor de Bloemisterij (1996) y Giraldo *et al.* (1997), mostraron que *Arthrobotrys sp.* atrapa en forma eficiente al nematodo *Meloidogyne* en cajas de petri con agar; así mismo, que

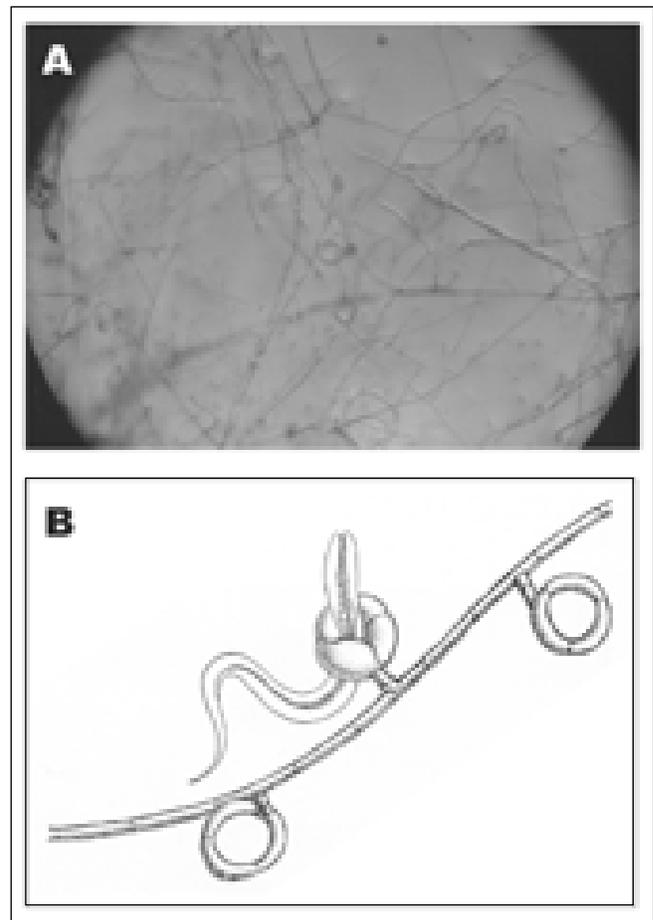


Figura 3. A: Crecimiento micelial en forma de argollas por *Arthrobotrys sp.* (Foto: Hío, 2002). B: Mecanismo que permite al hongo nematófago atrapar a su presa. *Adaptado de* Maio, J. 1975. Predatory fungi. pp. 20-23. En: Eisner, T. y E.O. Wilson (eds.). Animal Behavior, readings from Scientific American, 19th ed. W.H. Freeman and Company, San Francisco. 339 p.

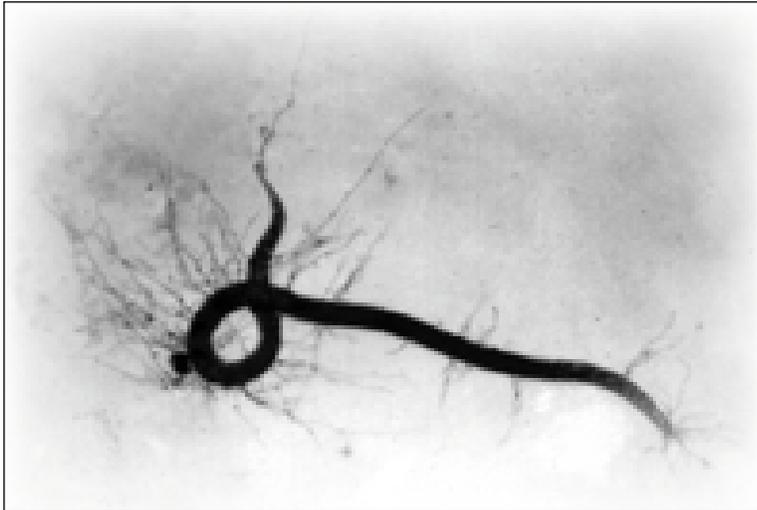


Figura 4. Crecimiento micelial de *Paecilomyces sp.* sobre una larva de *M. javanica* (Foto: Hío, 2002).

Paecilomyces sp. posee un efecto parasítico sobre los huevos de *Meloidogyne*.

Evaluación en invernadero

Los datos obtenidos en la prueba de invernadero, a los 30 y 45 días de transcurrido el ensayo, se analizaron estadísticamente y de forma conjunta para identificar diferencias en las variables evaluadas.

Los resultados mostraron aumento del peso fresco de la raíz en el tratamiento (T8) de *Paecilomyces sp.* con la enmienda orgánica (compost) y el patógeno, con un promedio de 2,417 g; el compost con el patógeno (T9) mostró un incremento del peso de la raíz promedio de 2,259 g, mientras en el tratamiento (T7) de *Arthrobotrys sp.* con el compost y el patógeno, el peso fresco no difirió significativamente del testigo absoluto (T10) (Figura 4).

Los resultados anteriores se relacionan con los obtenidos en la variable longitud de raíz, donde los mismos tratamientos presentaron promedios de 10,938 cm; 10,906 cm; 10,7 cm y 11,750 cm respectivamente (Figura 5); ello se reflejó en el buen desarrollo radical que tuvieron las plantas. Este resultado señala el efecto estimulante del compost sobre el desarrollo radicular de la planta, debido a que la enmienda orgánica posee alto contenido de nutrientes y propiedades físico-químicas y biológicas que propician el crecimiento vegetal en general (Asocolflores, 1994).

Con relación al testigo patógeno (control negativo, T6), no se observó disminución drástica ni en el peso fresco de la raíz (promedio de 2,226 g), ni en su longi-

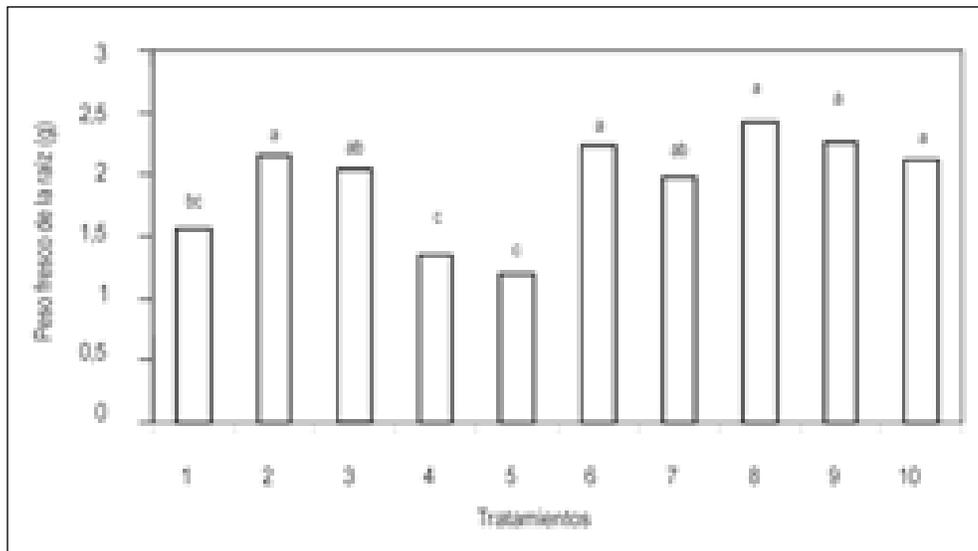


Figura 5. Comparación de medias mediante la prueba de Duncan ($P < 0,05$) para la variable peso fresco de la raíz (g) en la primera evaluación (30 días) y la segunda evaluación (45 días). Medias de ocho repeticiones. Tratamientos: T1: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.*; T2: *M. javanica* + *Arthrobotrys sp.*; T3: *M. javanica* + control químico (Furadan®); T4: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.* + *Arthrobotrys sp.*; T5: *Paecilomyces sp.* + *Arthrobotrys sp.*; T6: *M. javanica* (testigo patógeno); T7: *M. javanica* + *Arthrobotrys sp.* + compost; T8: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.* + Compost; T9: *M. javanica* + compost; T10: Testigo absoluto: planta + suelo. Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($P < 0,05$).

tud (promedio de 10,656 cm), y no se presentaron diferencias estadísticas respecto del testigo absoluto (T10), lo cual demuestra que el nematodo *Meloidogyne* puede favorecer el desarrollo radicular de la planta para incrementar de esta forma su área de infección, por estímulo en la emisión de ramificaciones cortas de la raíz (Agrios, 1999). Adicionalmente, Giraldo *et al.* (1998) describe que en otras investigaciones realizadas con *Meloidogyne* se ha observado que el agallamiento puede aumentar o disminuir el peso de las raíces de aquellas plantas afectadas, siendo una característica influida por condiciones nutricionales y ambientales de la planta.

Los tratamientos que presentaron reducción drástica del peso fresco de la raíz correspondieron a: (T1) *Paecilomyces sp.* sólo con el patógeno; (T4) *Arthrobotrys sp.* combinado con *Paecilomyces sp.* y el patógeno; y (T5) los dos hongos sin el patógeno, con promedios de 1,561 g, 1,349 g y 1,196 g respectivamente (Figura 4). Ello se relaciona con una disminución de la longitud de la raíz, con promedios de 8,250 cm, 7,312 cm y 8,500 cm, respectivamente (Figura 5). Estos resultados indican, no sólo un efecto inhibitorio sobre la producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal, sino también posiblemente que el compost tenía alta concentración de materia orgánica (MO), pues se sabe que la adición de grandes cantidades de MO promueve la rápida multiplicación de microorganismos heterótrofos que afectan

el desarrollo radicular; ello se refleja en la reducción del peso fresco del tallo y la raíz de la planta, producto de la competencia entre la planta y los microorganismos por el nitrógeno disponible en el suelo, según Malavolta, 1976 (citado por Freitas *et al.*, 1999).

Según la comparación de promedios realizada mediante la prueba de Duncan para la variable peso fresco de la raíz, se presentaron diferencias significativas entre la primera y segunda evaluación, siendo el promedio más alto en la primera lectura. Esto se debió a que en los primeros 30 días de transcurrido el ensayo el nematodo infectó las plantas pero éstas aún no presentaban síntomas muy notorios; por tanto, su desarrollo fue bueno a nivel general comparado con la evaluación realizada a los 45 días después de la siembra, cuando los efectos del ataque se hicieron más evidentes.

Para la variable número de nódulos en la raíz, se presentaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos de acuerdo con el análisis de varianza y la prueba de Duncan (Figura 7), siendo el tratamiento (T2) con *Arthrobotrys sp.* el más efectivo (Figura 8) con 7 nodulaciones por raíz y un bajo número de estados larvales en suelo (promedio de 9 individuos); la población saprofítica fue alta, lo que indica que *Arthrobotrys sp.* no controla poblaciones saprofíticas debido a su gran

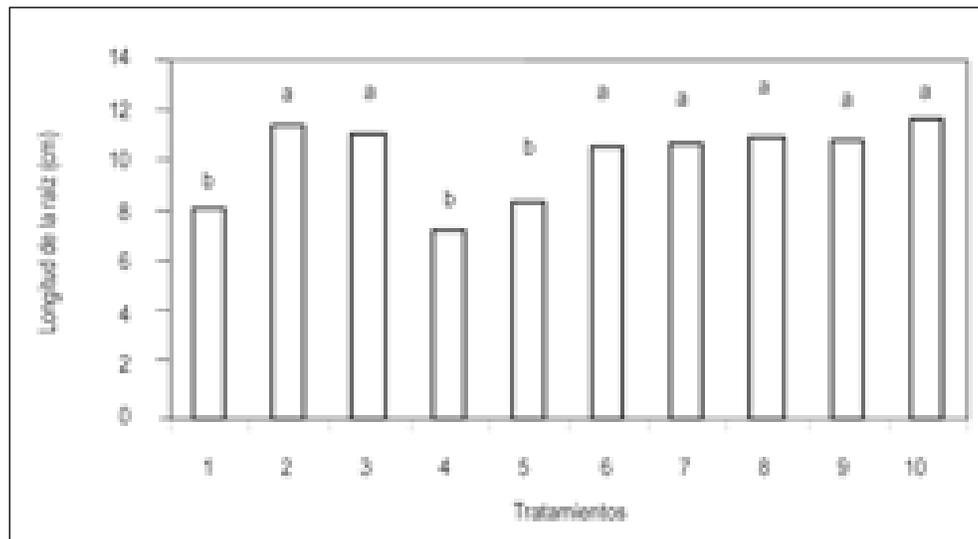


Figura 6. Comparación de medias por la prueba de Duncan para la variable longitud de la raíz (cm) en la primera evaluación (30 días) y la segunda evaluación (45 días). Medias de ocho repeticiones. Tratamientos: T1: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.*; T2: *M. javanica* + *Arthrobotrys sp.*; T3: *M. javanica* + control químico (Furadán®); T4: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.* + *Arthrobotrys sp.*; T5: *Paecilomyces sp.* + *Arthrobotrys sp.*; T6: *M. javanica* (testigo patógeno); T7: *M. javanica* + *Arthrobotrys sp.* + compost; T8: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.* + Compost; T9: *M. javanica* + compost; T10: Testigo absoluto: planta + suelo. Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($P < 0,05$).

movilidad. Lo anterior demuestra la capacidad de *Arthrobotrys sp.* para capturar y controlar estados larvales de nematodos patógenos debido a su poca movilidad y la capacidad de sus redes argollas miceliales, resultado que se refleja en la disminución del número de nódulos. Este resultado coincide con lo reportado por (Persson y Jansson (1999).

Pese a que el tratamiento con *Arthrobotrys sp.* (T2) presentó el menor promedio de nódulos en raíz, se aclara que no existen diferencias significativas con respecto al tratamiento realizado con *Paecilomyces* (T1), que obtuvo un promedio de 8 nódulos. Éste último es el tratamiento que muestra al hongo más promisorio para reducir el número de agallas en el sistema radical de la planta (Figura 9), ya que tiene la capacidad de infestar hembras y huevos de *Meloidogyne*, mediante el uso de enzimas quitinolíticas y proteolíticas que le permiten degradar el recubrimiento exterior de los huevos que se componen de quitina, según Stirling (1991) citado por Giraldo *et al.* (1997).

Estos resultados coinciden con un estudio realizado en plantas de tomate, donde el hongo aplicado en granos de arroz, redujo el número de agallas por gramo de raíz en un 61,1% comparado con el tratamiento control (Freitas *et al.*, 1999). En relación con el número de nematodos en suelo, en el tratamiento (T1) se presentó una población de 18 en promedio con una presencia alta de nematodos saprófitos.

En el tratamiento T4, en el cual se inocularon *Arthrobotrys sp.*, *Paecilomyces sp.* y el nemátodo, se obtuvo un promedio de 18 nódulos en la raíz y hubo diferencias estadísticas respecto de los tratamientos T1 y T2. No obstante, con relación al número de nematodos en el suelo, se presentó un promedio de 7 individuos móviles en estado larval y una población baja de nematodos saprófitos; posiblemente esta reducción se presentó por cumplirse el ciclo biológico de los hongos y no por su acción sobre la población saprofítica, lo cual no evidencia población móvil en el suelo al momento de realizar las evaluaciones. Esto indica que *Arthrobotrys sp.* y *Paecilomyces sp.* ejercen control de forma combinada sobre *M. javanica*, control que no es eficiente si se compara con los tratamientos individuales T1 y T2; posiblemente, puede existir algún tipo de relación antagonica entre los dos hongos.

Como se observa en las Figuras 6 y 7, el tratamiento (T3) que corresponde al control químico con Furadan®

presentó un número mayor de nodulaciones y nematodos en suelo con un promedio de 25 y 39, respectivamente; también presentó diferencias significativas al ser comparado con el testigo patógeno (T6). Con estos resultados se puede concluir que este producto no es tan efectivo en el control del nematodo *M. javanica* (Figura 10); por otro lado, se verificó que la población saprofítica presente en el suelo disminuyó por efecto de la acción química del Furadán®.

En el tratamiento (T7), en el que *Arthrobotrys sp.* se combinó con compost, se evidenció un bajo número de nódulos en raíz (promedio de 10) sin ninguna diferencia significativa con el tratamiento (T2) en el que el hongo estaba establecido en el suelo. Esto indica que la enmienda orgánica no aumentó la capacidad nematófaga del hongo, pero tampoco la afectó, ya que el compost vegetal posee propiedades de carácter físico, químico y microbiano que impidieron que *Arthrobotrys sp.* aumentara su actividad depredadora. En cuanto al número de nematodos en suelo, este tratamiento presentó un promedio de 9 individuos en estado larval, lo cual no difirió del tratamiento (T2).

En el tratamiento (T8), en el que se inoculó *Paecilomyces sp.* con compost, se obtuvo un promedio de 12 nódulos en raíz, resultado que fue bueno al compararlo con el testigo patógeno (T6), pero no con respecto al tratamiento (T1) en el que este hongo estaba en el suelo, pues presentó diferencias significativas entre promedios. Posiblemente, el compost vegetal tampoco aumentó la capacidad controladora de este hongo, pero sí permitió que *Paecilomyces sp.* presentara un buen establecimiento en ese sustrato. Para la variable del número de nemátodos en el suelo, este tratamiento presentó un promedio de 10 individuos en estado larval, lo cual fue mejor a lo obtenido en el tratamiento (T1), posiblemente debido a la acción antagonica ejercida por otros organismos presentes en la microflora del compost sobre los nematodos.

El tratamiento (T9), donde se incorporó sólo compost, mostró un alto número de nodulaciones, con promedios de 50 nódulos en raíz y de 11 en el número de nematodos en estado larval sobre el suelo, con una población abundante de saprófitos; ello indica que esta enmienda orgánica no es tan eficiente para el control de *M. javanica*, pero ejerce un efecto indirecto, ya que las plantas presentaron buen aspecto del área foliar y mejora de las condiciones nutricionales en la planta huésped, haciéndola más vigorosa y tolerante frente al ataque del nematodo, sin verse tan afectada.

La comparación de promedios realizada para la variable número de nódulos en la raíz, con la prueba de Duncan, demostró que hubo diferencias significativas entre la primera y segunda evaluación, siendo el promedio más alto en la segunda lectura (45 días) para todos los tratamientos.

La comparación de promedios para la variable número de nematodos en el suelo, mediante la prueba de Duncan, mostró diferencias significativas entre tratamientos (Figura 7). Los datos observados para esta variable, son el resultado de la segunda evaluación, ya que en la primera se observó que las hembras de *Meloidogyne javanica* contenidas en los nódulos se encontraban aún inmaduras y, por tanto, la producción de huevos fue muy escasa.

A nivel general, en esta prueba se logró determinar que a los 25 días de inoculado el nematodo se presentaron infecciones en las raíces de crisantemo, comprobando de esta manera que dicho periodo se encuentra dentro del rango del ciclo de vida de este patógeno que dura entre 25 y 40 días; la mayoría de las nodulaciones se ubicaron muy cerca del cuello de la raíz, donde se presentaron los brotes de raicillas.

Conclusiones

Los hongos *Arthrobotrys sp.* y *Paecilomyces sp.* tienen actividad biocontroladora sobre *M. javanica* en concentraciones de 10^6 y 10^7 conidias/mL, pues ejercieron control *in vitro* por encima del

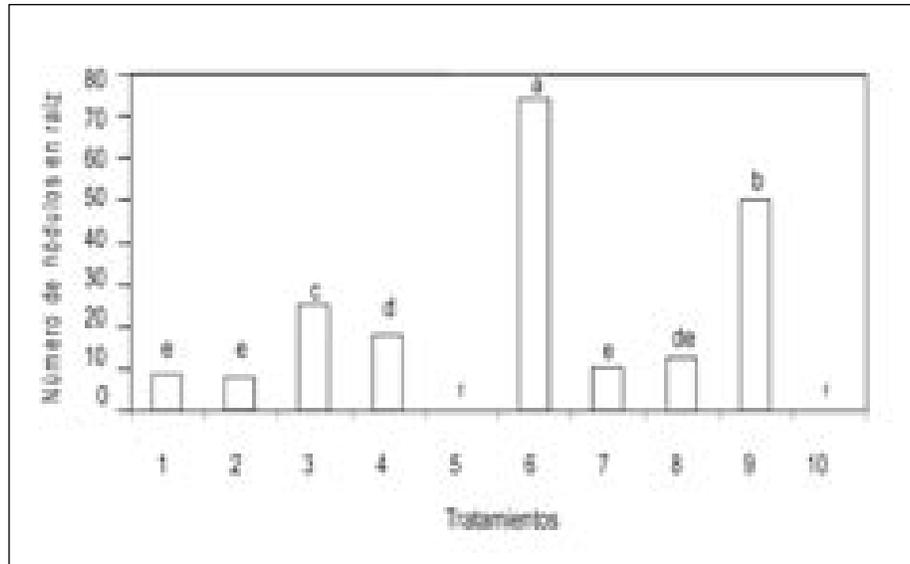


Figura 7. Comparación de medias por la Prueba de Duncan para la variable número de nódulos en la raíz en la primera evaluación (30 días) y en la segunda evaluación (45 días). Medias de ocho repeticiones. Tratamientos: T1: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.*; T2: *M. javanica* + *Arthrobotrys sp.*; T3: *M. javanica* + control químico (Furadán®); T4: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.* + *Arthrobotrys sp.*; T5: *Paecilomyces sp.* + *Arthrobotrys sp.*; T6: *M. javanica* (testigo patógeno); T7: *M. javanica* + *Arthrobotrys sp.* + compost; T8: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.* + Compost; T9: *M. javanica* + compost; T10: Testigo absoluto: planta + suelo. Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($P < 0,05$).

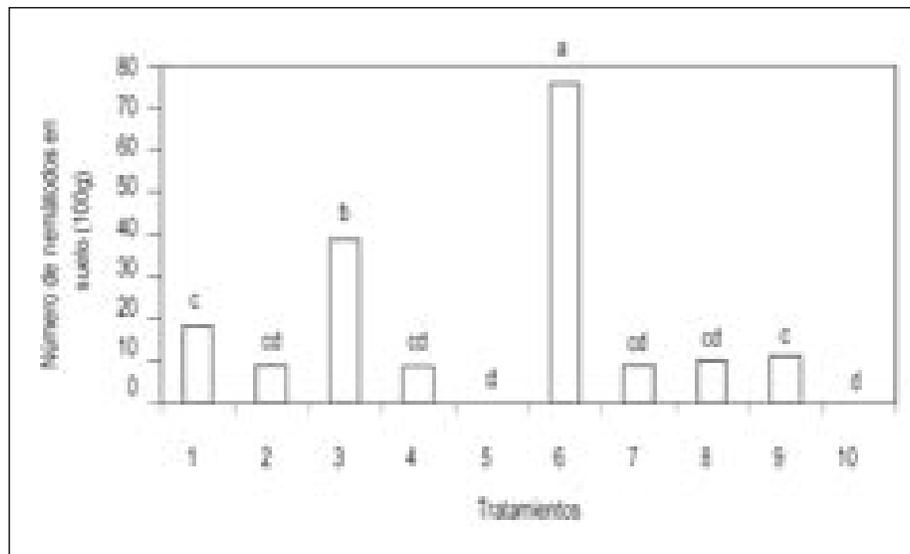


Figura 8. Comparación de medias por la Prueba de Duncan para la variable número de nematodos en suelo (100 g) en la segunda lectura (45 días). Medias de ocho repeticiones. Tratamientos: T1: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.*; T2: *M. javanica* + *Arthrobotrys sp.*; T3: *M. javanica* + control químico (Furadán®); T4: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.* + *Arthrobotrys sp.*; T5: *Paecilomyces sp.* + *Arthrobotrys sp.*; T6: *M. javanica* (testigo patógeno); T7: *M. javanica* + *Arthrobotrys sp.* + compost; T8: *M. javanica* + *Paecilomyces sp.* + Compost; T9: *M. javanica* + compost; T10: Testigo absoluto: planta + suelo. Medias con letras diferentes presentan diferencias significativas ($P < 0,05$).



Figura 9. Testigo absoluto (izquierda), testigo patógeno (centro) y tratamiento con *Arthrobotrys sp.* (derecha), correspondientes a la segunda evaluación (Foto: Hío y Dávila, 2003).

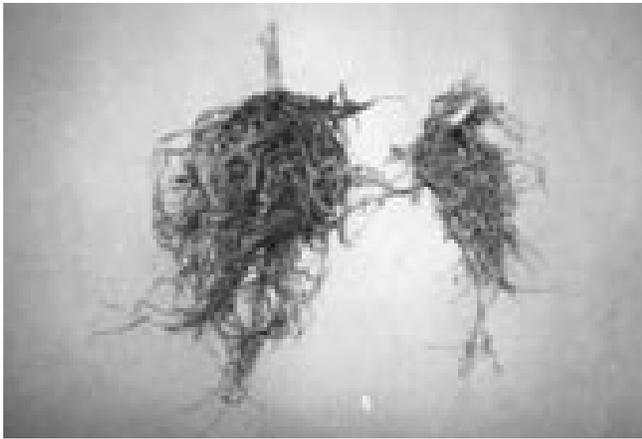


Figura 10. Testigo absoluto (izquierda) y tratamiento con *Paecilomyces sp.* (derecha), correspondientes a la segunda evaluación (Foto: Hío y Dávila, 2003).

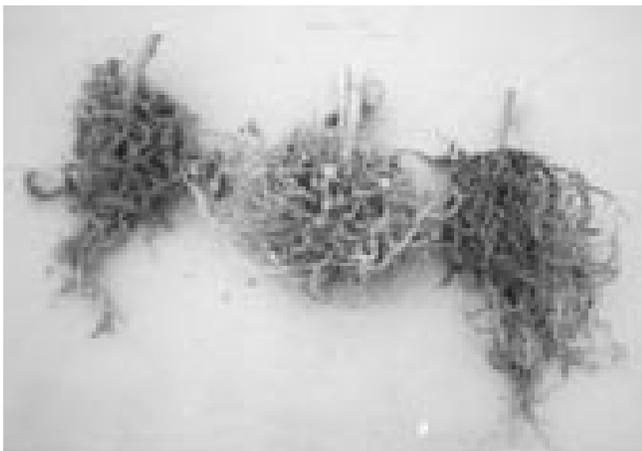


Figura 11. Control químico con Furadan® (izquierda), testigo patógeno (centro) y testigo absoluto (derecha) correspondientes a la segunda evaluación (Foto: Hío y Dávila, 2003).

50% en larvas y huevos a las 72 horas de incubación bajo condiciones controladas, después aplicados los tratamientos.

Arthrobotrys sp. y *Paecilomyces sp.* aplicados en combinación no controlaron a *M. javanica*, pues presentaron 18 nódulos por cada raíz. Si se compara la acción de cada hongo por separado, se hallan diferencias significativas ya que presentaron un promedio de nodulación entre 7 para *Arthrobotrys sp.* y 8 nódulos por raíz para *Paecilomyces sp.* en plantas de crisantemo, a los 45 días después de aplicados los tratamientos bajo condiciones de invernadero.

El tratamiento químico (Furadan®), no fue efectivo sobre nodulaciones de *M. javanica* por presentar un promedio de 25 nódulos en raíz, con diferencias significativas respecto al control *Arthrobotrys sp.* y *Paecilomyces sp.* en combinación y de forma individual a los 45 días después del tratamiento.

Las evaluaciones finales determinaron que el compost vegetal, no controló el número de nódulos de *M. javanica* en raíces de crisantemo, presentándose un promedio de 50 nódulos en raíz; pero si ejerció una activación enzimática que permitió el mejor desarrollo de las plantas tratadas.

Agradecimientos

Al Dr. Iván Valbuena del Programa de Recursos Genéticos Vegetales en el C.I. Tibaitatá de CORPOICA; así mismo, a la empresa Cultivos del Norte (Tocancipá, Cundinamarca) por el suministro del compost.

Literatura citada

- Agrios, G. 1999. Fitopatología. Segunda edición. Editorial Limusa, México D.C. pp. 745-749.
- Asocolflores. 1994. Compost: ¿alternativa sostenible? Boletín Informativo Asocolflores 39, 11-18.
- Cabanillas, E. y K. Barrer. 1989. Impact of *Paecilomyces lilacinus* inoculum level and application time on control of *Meloidogyne incognita* on tomato. Journal of Nematology 21(1), 115-120.
- Chen, J.; G. Abawi y B. Zuckerman. 2000. Efficacy of *Bacillus thuringiensis*, *Paecilomyces marquandii* and *Streptomyces costaricanus* with and without organic amendments against *Meloidogyne hapla* infecting lettuce. Journal of Nematology 32(1), 70-77.
- Dropkin, V. 1989. Introduction to plant nematology. Second edition. A Wille Interscience Publication, Canadá. pp. 57-71; 159-167; 283-290.

- Ferreira, K. 2000. Generación de alternativas para el control biológico de *Meloidogyne sp.* Trabajo de grado. Carrera de Microbiología Agrícola y Veterinaria, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 93 p.
- Giraldo, M.; J. Leguizamón y B. Chávez. 1997. Evaluación de *Paecilomyces lilacinus* (Thom). Samson. para el control de *Meloidogyne sp.* Goeldi. en almácigos de café (*Coffea arabica* L.) variedad catúrra. Fitopatología Colombiana 21(2), 104-116.
- Giraldo, M.; J. Leguizamón y B. Chávez. 1998. Control biológico de *Meloidogyne sp.* Goeldi. con el hongo *P. lilacinus* (Thom). Samson. en plantas de estropajo (*Luffa cilíndrica* L.) Fitopatología Colombiana 20(1), 20-25.
- Hío, J. 2000. Efecto biocontrolador del hongo depredador *Arthrobotrys sp.* sobre el fitonematodo *Meloidogyne sp.* En: Taller Internacional de Control Biológico. Memorias. CORPOICA. Bogotá, pp. 28-31.
- Florverde. 2002. Florverde en línea <http://www.cnpml.org/PDF/Florverde%20CNPML%202002%20GH.pdf>; consulta: noviembre 2002.
- Freitas, L.; S. Feraz y A. Almeida. 1999. Controle de *Meloidogyne javanica* em tomateiro pela productio de mudas em sustrato infestado com *Paecilomyces lilacinus*. Nematologia Brasileira 23(1), 65-73.
- Navarro, A. y G. Gaviria. 1998. Diagnóstico de la nematofauna asociada a cultivos de crisantemo en Antioquia. Asocoflores-Universidad Católica del Oriente, Unidad de Biotecnología Vegetal. Rionegro. pp. 6-23.
- Persson, C. y H. Jansson. 1999. Rhizosphere Colonization and Control of *Meloidogyne sp.* by nematode-trapping fungi. Journal of Nematology 31(2), 164-171.
- Sandoval, J. y S. Sarmiento. 2000. Aislamiento, identificación y evaluación de la actividad antagonista de hongos predadores contra nematodos gastrointestinales en rumiantes. Trabajo de grado. Carrera de Microbiología Industrial, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. 99 p.
- Solange, M.; J. Silva y R. Carneiro. 1996. Avaliação de quatro métodos de conservação relativos á sobrevivência de *Paecilomyces lilacinus* e *Arthrobotrys oligospora*. Nematologia Brasileira 20(2), 63-67.
- Southey, F. 1970. Technical bulletin 2: Laboratory Methods for Work with plant and soil nematodes. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. London. pp. 45-60.
- Varon, A. 2000. Algunas consideraciones sobre el control biológico de nemátodos. En: Taller Internacional de Control Biológico. Memorias. CORPOICA, Bogotá. pp. 46-53.
- Volcy, C. 1998. Problemática de nemátodos fitoparásitos de crisantemo en el Oriente Antioqueño. En: Perspectivas sobre nemátodos fitopatogénos y entomopatogénos en Colombia. Memorias, Socolen. pp. 19-24.
- Vakblad Voor de Bloemisterij. 1996. Hongos como alternativa biológica para el control de nematodos. Revista Floricultura (35) 14-15.
- Taylor, A. y J. Sasser. 1983. Biología, identificación y control de los nematodos del nódulo de la raíz (especies de *Meloidogyne*). Carolina del Norte, USA. pp. 1-11.