

## INFLUENCIA DE LA PLANTA HOSPEDANTE Y SU INTERACCIÓN CON *Meloidogyne incognita* SOBRE LA EFECTIVIDAD DE *Pochonia* *chlamydosporia* var. *catenulata*

Ana Puertas\* y L. Hidalgo-Díaz\*\*

\*Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Granma, Apdo. 21, Bayamo, Granma, Cuba. Correo electrónico: apuertas@udg.co.cu, apuertas2001@yahoo.com ;

\*\* Grupo de Plagas Agrícolas. Dirección de Protección de Plantas. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba.

**RESUMEN:** El efecto de las plantas hospedantes y su interacción con *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood sobre la efectividad de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* (Kamyscho ex Barron y Onions) Zare y Gams como agente de control biológico de nematodos formadores de agallas se estudió en condiciones de aisladores biológicos. Para el desarrollo de la experiencia se utilizaron diferentes especies de plantas que se cultivan en los sistemas intensivos de producción de hortalizas en Cuba y se evaluó la colonización de la rizosfera, a partir del conteo de UFC del hongo, en plantas sanas e infestadas por *M. incognita*. Los resultados demostraron que el crecimiento del hongo en la rizosfera varió en dependencia de la especie de planta. Entre los mejores hospedantes de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* estuvieron la col, coliflor y acelga china, cultivos resistentes a *M. incognita*. Las plantas infestadas por *M. incognita* mostraron mayores niveles de colonización del hongo que las plantas sanas y el cultivo de la habichuela resultó ser un buen hospedante, en presencia del nematodo. Se recomienda la utilización de estos cultivos dentro de esquemas de rotación que incluyan la aplicación de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* como agente de control biológico para el manejo de *M. incognita* en sistemas intensivos de producción de hortalizas.

(Palabras clave: *Meloidogyne incognita*; *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*; colonización de la rizosfera; agente de control biológico)

---

## INFLUENCE OF THE HOST PLANT AND ITS INTERACTION WITH *Meloidogyne* *incognita* ON THE EFFECTIVENESS OF *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*

**ABSTRACT:** The effect of the host plants and their interaction with *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood on the effectiveness of *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* (Kamyscho ex Barron and Onions) Zare and Gams as a biological control agent of root-knot nematodes was studied in glasshouse conditions. Different plant species from the Cuban Intensive Vegetable Production Systems were used to perform the experience. The growth of the fungus in the rhizosphere differed with the host plant. Among the best host plants of *P. chlamydosporia* var. *catenulata* were cabbage, salt-wort and cauliflower, resistant crops to *M. incognita*. The plants infested by *M. incognita* showed higher levels of fungus colonization than those healthy, and the kidney bean crop was a good host in the presence of the nematode. The use of these crops into rotation systems, with the application of *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* as biological control agent for the management of *M. incognita* on Intensive Vegetable Production Systems, was recommended.

(Key words: *Meloidogyne incognita*; *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*; rhizosphere colonization; biological control agent)

---

## INTRODUCCIÓN

Los nematodos formadores de agallas del género *Meloidogyne* constituyen el grupo de nematodos fitoparásitos más ampliamente distribuido y dañino, que abarca un gran número de plantas hospedantes (3, 4). Dentro de ellos, *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood es la especie de mayor incidencia en las regiones tropicales. En Cuba, se encuentra distribuida en todo el país y afecta muchas especies y variedades de plantas que se cultivan de forma intensiva en los sistemas de producción de hortalizas, condimentos, plantas medicinales y ornamentales (5, 7, 8).

La rizosfera es una zona importante para la actividad de estos fitonematodos y por tanto para sus antagonistas, entre los que se incluyen los hongos nematófagos. *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams, parásito facultativo de huevos de nematodos formadores de agallas y de quistes, tiene la capacidad de desarrollarse saprofiticamente en el suelo y colonizar las raíces de las plantas sin causarle lesiones, ni afectar su crecimiento (14).

Un prerrequisito para el éxito de *P. chlamydosporia* como agente de control biológico (ACB) es precisamente la capacidad de colonización de las raíces de las plantas hospedantes. Un crecimiento amplio de *P. chlamydosporia* en la rizosfera es esencial para el control de los nematodos (2). El hongo coloniza la superficie de las raíces e invade las masas de huevos que sobresalen hacia el exterior. La destrucción de los huevos y el consiguiente control de las poblaciones de nematodos dependen de dicha invasión (10).

Las especies de plantas presentan diferencias en cuanto a su capacidad de soportar el crecimiento de *P. chlamydosporia* (11). La densidad de *P. chlamydosporia* no aumenta significativamente en algunas especies de plantas que son pobres hospedantes del hongo, aunque se incrementen las concentraciones de inóculo (1), por tanto, las especies de plantas deben ser cuidadosamente seleccionadas si se desea obtener el máximo de efectividad del hongo.

El objetivo del trabajo fue determinar el efecto de la planta hospedante y la infestación por *M. incognita* sobre la capacidad de colonización de la rizosfera por *P. chlamydosporia* var. *catenulata*, para seleccionar los cultivos más apropiados a emplear dentro de un esquema de rotación para el manejo de este nematodo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Abundancia de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en la rizosfera de diferentes especies de cultivos hortícolas.

Para conocer la capacidad hospedante de diferentes especies de plantas, que se cultivan en la Agricultura Urbana, ante la colonización de sus raíces por *P. chlamydosporia* var. *catenulata*, se utilizaron cultivos y cultivares hortícolas, con diferentes respuestas al ataque de *M. incognita*, según Cuadra *et al.* (5), Fernández *et al.* (6) y Gómez, Lucila, comunicación personal (Tabla 1).

Se transplantó una plántula a cada maceta, que contenía 1 kg de sustrato conformado por una mezcla de suelo ferralítico rojo lixiviado (9) + materia orgánica (estiércol vacuno) en proporción 1:1, inoculado con 5000 clamidosporas de la cepa IMI SD 187 de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* / g de sustrato. Se realizaron cinco réplicas por cultivo, se dispusieron en un diseño completamente aleatorizado y se mantuvieron en aisladores biológicos en condiciones ambientales, durante 54 días. Transcurrido dicho período, se determinó la colonización de las raíces de las diferentes especies de plantas por el hongo, según la metodología descrita por Kerry y Bourne (13): las raíces se cortaron en secciones de 1 cm y se mezclaron para homogenizar la muestra. Se extrajo una submuestra de 1 g, la cual se maceró suavemente y se diluyó en 9 mL de una solución de agar al 0,05%. A partir de la suspensión obtenida se prepararon diluciones de  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ , de las que se tomaron 0,2 mL y se depositaron sobre dos placas Petri (9 cm) que contenían medio semiselectivo. Después de 21 días de incubadas las placas a 25°C se calculó la cantidad de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) / g de raíz. A partir de aquí, se calculó el área superficial para un peso conocido de raíz por el Método de Tennant (18) y se estimó la cantidad de UFC / cm<sup>2</sup> de raíz.

De acuerdo a la respuesta de la planta ante el crecimiento extensivo del hongo en las raíces, estas se clasificaron en: Buenos hospedantes (> 200 UFC por cm<sup>2</sup> de raíz), Hospedantes moderados (200-100 UFC por cm<sup>2</sup> de raíz) y Pobres hospedantes (< 100 UFC por cm<sup>2</sup> de raíz), según propone Kerry (11).

### Influencia de los nematodos sobre la colonización de la rizosfera por *P. chlamydosporia* var. *catenulata*.

Teniendo en cuenta los resultados del experimento anterior se escogieron los cultivos de habichuela,

**TABLA 1.** Especies hortícolas empleadas para determinar su capacidad hospedante ante la colonización de la rizosfera por *P. chlamydosporia* var. *catenulata*. / *Vegetable species used for determining their ability to support rizosphere colonization by P. chlamydosporia* var. *catenulata*.

Especies hortícolas	Nombre científico	Familia botánica	Cultivares	Respuesta a <i>M. incognita</i>
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill	Solanaceae	Amalia	Susceptible
Pimiento	<i>Capsicum annuum</i> L.	Solanaceae	Español	Susceptible
Berenjena	<i>Solanum melongena</i> L.	Solanaceae	FHB-1	Susceptible
Acelga	<i>Brassica rapa</i> L. subsp. <i>chinensis</i> (L.) Manelt.	Brassicaceae	PakChoi Canton	Resistente
Brócoli	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>italica</i> Plenek	Brassicaceae	Tropical F-8	Resistente
Col	<i>Brassica oleracea</i> L.	Brassicaceae	Hércules	Resistente
Coliflor	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.	Brassicaceae	Verano-6	Resistente
Habichuela	<i>Vigna unguiculata</i> (L) Walp.	Fabaceae	Lina	Susceptible
Pepino	<i>Cucumis sativus</i> L	Cucurbitaceae	Tropical SS-5	Susceptible
Quimbombó	<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench	Malvaceae	Tropical C-17	Susceptible
Espinaca	<i>Talinum triangulare</i> (Jacq) Willd.	Portulacaceae	Baracoa	Susceptible
Apio	<i>Apium graveolens</i> L.	Apiaceae	UTA	Susceptible
Perejil	<i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) Fuss.	Apiaceae	KD-77	Susceptible

tomate y quimbombó, susceptibles a *M. incognita* y con diferentes respuestas ante la colonización por el hongo para conocer el efecto de la infestación por el nematodo sobre la abundancia del hongo en la rizosfera de estos cultivos.

Para ello, se transplantaron plántulas con 25 días de germinadas en macetas que contenían 1 kg de sustrato conformado por una mezcla de suelo ferralítico rojo lixiviado (9) + materia orgánica (estiércol vacuno) en proporción 1:1, previamente inoculado con 5000 clamidosporas de la cepa IMI SD 187 de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* / g de sustrato. Cada maceta contenía una planta y por cada cultivo se realizaron 10 réplicas, de las cuales se inocularon la mitad a los 5 días después del trasplante con 1000 juveniles/huevos de *M. incognita* alrededor de las raíces de las plantas. Los tratamientos se dispusieron en un diseño completamente aleatorizado y se mantuvieron en aisladores biológicos, en condiciones ambientales durante 54 días. Al término de los cuales se evaluó la colonización de las raíces por *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en plantas sanas e infestadas con *M. incognita* de los cultivos evaluados y se estimó la cantidad de UFC por cm<sup>2</sup> de raíz, según la Metodología descrita en el experimento anterior.

Los tratamientos se compararon mediante la Prueba *t* de Student, a través del programa estadístico SAS (16); previa transformación de los datos de UFC, en  $\ln(x+1)$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Abundancia de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en la rizosfera de diferentes especies de cultivos hortícolas.

Al evaluar la capacidad de colonización de la rizosfera de diferentes especies hortícolas por *P. chlamydosporia* var. *catenulata*, se demostró que esta varía en dependencia de la especie utilizada. Los valores más altos de UFC / cm<sup>2</sup> de raíz se obtuvieron en la col, coliflor, acelga, tomate, pepino y pimiento que superaron las 200 UFC / cm<sup>2</sup> de raíz. Un crecimiento moderado del hongo se presentó en la habichuela, brócoli, berenjena y espinaca con valores entre 100 y 200 UFC / cm<sup>2</sup> de raíz. En los cultivos de quimbombó, perejil y apio se produjo un pobre crecimiento de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* con densidades menores de 100 UFC / cm<sup>2</sup> de raíz (Tabla 2).

Entre las especies que mostraron un mayor crecimiento de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en la rizosfera se encuentran algunas crucíferas como la col, coliflor y acelga coincidiendo con Bourne *et al.* (2) y Kerry y Bourne (12), al estudiar la respuesta de las crucíferas ante el crecimiento extensivo *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* en la superficie de sus raíces.

Teniendo en cuenta la reacción resistente (6) al ataque de *M. incognita* de las crucíferas y de ser buenas hospedantes del hongo, podrían ser utilizadas con éxito dentro de esquemas de rotación que incluyan

**TABLA 2.** Colonización de la rizosfera de diferentes especies hortícolas por *P. chlamydosporia* var. *catenulata*. / *Rhizosphere colonization of different vegetable species by P. chlamydosporia* var. *catenulata*.

Especie	Cultivar	Colonización de la rizosfera (UFC por cm <sup>2</sup> raíz)	Tipo de hospedante del hongo
Col	Hércules	619,57	Bueno
Coliflor	Verano-6	489,13	Bueno
Acelga	PakChoi Canton	452,55	Bueno
Tomate	Amalia	424,73	Bueno
Pepino	Tropical SS-5	261,31	Bueno
Pimiento	Español	251,32	Bueno
Habichuela	Lina	171,91	Moderado
Brócoli	Tropical F-8	155,74	Moderado
Berenjena	FHB-1	112,28	Moderado
Espinaca	Baracoa	110,00	Moderado
Quimbombó	Tropical C-17	73,04	Pobre
Apio	UTA	61,79	Pobre
Perejil	KD-77	60,38	Pobre

cultivos como pepino, tomate y pimiento, susceptibles a *M. incognita*, pero buenos hospedantes del hongo.

**Influencia de los nematodos sobre la colonización de la rizosfera por *P. chlamydosporia* var. *catenulata*.**

Los cultivos de tomate, habichuela y quimbombó, seleccionados a partir del ensayo anterior, por su diferente repuesta a la colonización por *P. chlamydosporia* var. *catenulata*, mostraron una mayor abundancia del hongo en las plantas infestadas, con diferencias significativas respecto a las plantas sanas (Tabla 3).

*P. chlamydosporia* no es dependiente de los huevos de nematodos para su nutrición, ya que se puede asociar a diversos sustratos como quitina, celulosa, oosporas fúngicas y huevos de babosas (17), así como es capaz de vivir y proliferar en las raíces de las plantas (14). Sin embargo, los resultados obtenidos para *P. chlamydosporia* var. *catenulata* indican que la estimulación del crecimiento fúngico en raíces infestadas puede ser resultado directo de la colonización de las masas de huevos y el parasitismo de los huevos de *M. incognita* o de la liberación de nutrientes por la rizosfera producto del daño causado por la emisión de las masas de huevos hacia la superficie de las raíces, tal y como ha sido sugerido por otros autores para *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* (2, 11).

Se destaca el hecho de que en la habichuela, aunque resultó un hospedante moderado de *P.*

*chlamydosporia* var. *catenulata* en el ensayo anterior, se llegan a alcanzar densidades por encima de las 200 UFC por cm<sup>2</sup> de raíz en las plantas infestadas con *M. incognita*. El cultivo de la habichuela puede ser considerado entonces, como un buen hospedante del hongo, según la escala establecida por Kerry (11).

Los resultados ofrecen una alternativa práctica para el empleo de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* como ACB en sistemas intensivos de producción de hortalizas, donde un gran número de cultivos son hospedantes de *M. incognita*. Quedó demostrado que cultivos resistentes a *M. incognita* como la col, coliflor y acelga son buenos hospedantes del hongo, por lo que podrían contribuir a su proliferación y sobrevivencia en el suelo. Por otra parte, la habichuela, que se utiliza comúnmente como cultivo de rotación con el objetivo de mejorar la fertilidad del suelo a partir de la fijación biológica del nitrógeno (15); mostró ser un buen hospedante del hongo en presencia de *M. incognita*.

Por tanto, la utilización de estos cultivos dentro de un esquema de rotación que incluya la aplicación de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* como ACB, puede proporcionar resultados satisfactorios en el manejo de *M. incognita* en sistemas intensivos de producción de hortalizas. No obstante, es recomendable evaluar el comportamiento de otras especies con el objetivo de ampliar las posibilidades de establecimiento de esquemas de rotación, teniendo en cuenta los sistemas generales de manejo de cultivos y los intereses del productor.

**TABLA 3.** Colonización de la rizosfera por *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en plantas sanas e infestadas por *M. incognita*. / *Rhizosphere colonization by P. chlamydosporia* var. *catenulata* on healthy plants and infested plants by *M. incognita*

Cultivos	Tipo de hospedante del hongo	Colonización de la rizosfera (UFC por cm <sup>2</sup> de raíz)			
		Plantas sanas		Plantas infestadas	
		Medias originales	Medias transformadas ± DS	Medias originales	Medias transformadas ± DS
Tomate	Bueno	440,61	6,08 ± 0,17b	604,97	6,40 ± 0,16a
Habichuela	Moderado	163,50	5,10 ± 0,08b	221,38	5,40 ± 0,12a
Quimbombó	Pobre	67,70	4,24 ± 0,16b	86,80	4,47 ± 0,08a

Medias con letras desiguales en las filas, difieren significativamente para ( $p < 0,05$ ).

## REFERENCIAS

- Bourne, Joanna y Kerry, B.R. (1999): Effect of the host plant on the efficacy of *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent of root-knot nematodes at different nematode densities and fungal application rates. *Soil Biol. Biochem.* 31(1): 75-84.
- Bourne, Joanna; Kerry, B.R. y de Leij, F. A. A. M. (1996): The importance of the host plant on the interaction between root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) and the nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium* (Goddard). *Biocontrol Sci. and Technol.* 6: 539-548.
- Castagnone-Sereno, P. (2002): Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes?. *Euphytica.* 124(2): 193-199.
- Castagnone-Sereno, P. (2002): Genetic variability in parthenogenetic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., and their ability to overcome plant resistance genes. *Nematology.* 4(5): 605-608.
- Cuadra, R.; Cruz, Xiomara; Zayas, Ma. de los Angeles y González, Nancy (2002): Incidencia de plagas en Policultivos de organopónicos. II. Nematodos Fitoparásitos. *Rev. Protección Veg.* 17(1): 54-58.
- Fernández, E.; Pérez, M.; Gandarilla, H.; Vázquez, R.; Fernández, M.; Peneque, M.; Acosta, O.; Basterrechea, M. y Cuadra, R. (1998): Guía para disminuir infestaciones de *Meloidogyne* spp. mediante el empleo de cultivos no susceptibles. *Boletín Técnico, Sanidad Vegetal.* 4(4): 1-18.
- Gandarilla, Hortensia (2005): Algunos aspectos sobre las principales especies de fitonemátodos asociadas a los cultivos de plantas ornamentales. *Fitosanidad.* 9(2): 49-57.
- Gandarilla, Hortensia y Fernández, E. (2002): Registro actualizado de fitonemátodos en plantas ornamentales de Cuba. *Fitosanidad.* 6(3): 9-27.
- Hernández, A.; Morell, F.; Ascanio, M.O.; Borges, Y.; Morales, M. y Yong, A. (2006): Cambios globales de los suelos ferralíticos rojos lixiviados (Nitisoles Ródicos Eútricos) de la provincia La Habana. *Revista Cultivos Tropicales.* 27(2): 41-50.
- Hirsch, P.R.; Atkins, S.D.; Mauchiline, T.H.; Morton, C.O.; Davies, K.G y Kerry, B.R. (2001): Methods for studying the nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* in the root environment. *Plant Soil.* 232: 21-30.
- Kerry, B.R. (2001): Exploitation of the Nematophagous Fungus *Verticillium chlamydosporium* Goddard for the Biological Control of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.) En: *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential.* Butt, T. M.; Jackson, C y Magan, N. (Eds), CAB International, Wallingford. Chapter 5: 155-168.
- Kerry, B.R. y Bourne, Joanna (1996): The importance of rhizosphere interactions in the biological control of plant parasitic nematodes-a case study using *Verticillium chlamydosporium*. *Pestic. Sci.* 47(1): 69-75.

13. Kerry, B.R. y Bourne, Joanna (Eds.) (2002): A Manual for Research on *Verticillium chlamydosporium*, a Potential Biological Control Agent for Root-Knot Nematodes. Kerry, B.R. y Bourne, J.M. (Eds.). *IOBC/WPRS*, University of Gent, 84 p.
14. López-Llorca, L.V.; Bordallo, J.J.; Salinas, J.; Monfort, M.L. y López-Serna, M.L. (2002): Use of light and scanning electron microscopy to examine colonization of barley rhizosphere by the nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium*. *Micron*. 33: 61-67.
15. Rodríguez, A. (2004): La agricultura Urbana en Cuba. Impactos económicos, sociales y productivos. *Revista Bimestre Cubana*, XCV(20): 115-137.
16. S.A.S (2001): Statistical Analysis System, Release 8.02. *SAS Institute Inc*, Cary, North Caroline, USA.
17. Stirling, G.R.; Licastro, K.R.; West, L.M. y Smith, L.J. (1998): Development of commercially acceptable formulations of the nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium*. *Biol. Control*. 11: 217-223.
18. Tennant, D. (1975): A test of the modified line intercept method of estimating root length. *J. Ecol.* 63: 995-100.

(Recibido 11-1-2007; Aceptado 9-4-2007)

Huevos de *Meloidogyne* spp. infectados por:

***Pochonia chlamydosporia***

**KlamiC**  
BIONEMATICIDA  
BIOPREPARADO PARA EL CONTROL DE NEMATODOS AGALLEROS

**La solución ideal al problema de los nematodos agalleros**

*KlamiC* es un producto desarrollado a base de una cepa nativa seleccionada del hongo ***Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*** cepa **IMI SD 187**. Este hongo actúa como parásito de huevos de nematodos formadores de agallas (*Meloidogyne* spp.), los cuales constituyen una plaga de gran importancia en los sistemas intensivos de producción de hortalizas.

La elevada patogenicidad de la cepa seleccionada, junto a su capacidad para producir clamidosporas y colonizar la rizosfera de una amplia gama de cultivos hortícolas, lo hacen una alternativa ideal para el manejo de los nematodos formadores de agallas.

Del CENSA,  
un producto...

