

EFFECTOS DE LA APLICACIÓN DE *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* Kamyscho ex Barron y Onions (Zare y Gams) SOBRE EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)

W. Ceiro*, Ana Puertas*, Jersys Arévalo**, L. Hidalgo-Díaz**

*Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Granma, Km 17½ carretera de Manzanillo, Bayamo, Granma, Cuba. Correo electrónico: wilson@censa.edu.cu, wceiroc@udg.co.cu;

**Dirección de Protección de Plantas, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

RESUMEN: La cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* Kamyscho ex Barron y Onions (Zare y Gams), es un eficaz agente de control biológico de *Meloidogyne* spp.; sin embargo se desconocen aspectos importantes como el efecto de esta sobre el desarrollo de plántulas. La investigación se realizó con el objetivo de evaluar el efecto de la aplicación de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* sobre algunas variables del desarrollo de plántulas de tomate en la fase de crecimiento en cepellón. Los tratamientos se conformaron a partir de dos cepellones, uno con inoculación del hongo y el otro sin inocular, con 104 plántulas cada uno. Las variables fúngicas evaluadas fueron UFC.g raíz⁻¹ y UFC.g sustrato⁻¹, se evaluó además dinámica de altura, grosor del tallo, longitud de la raíz, cantidad de hojas activas, masa seca, contenido de humedad en las hojas y tasa de crecimiento absoluta de las plántulas. Aunque en el tratamiento inoculado existió menor crecimiento en la fase final del cepellón, el hongo se estableció en el sustrato y sistema radical de las plántulas, sin provocar afectaciones severas sobre las variables del desarrollo evaluadas, por lo tanto, es posible utilizar esta forma de inoculación, en la metodología actual de aplicación contra *Meloidogyne* spp.

(Palabras clave: *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*; control biológico; tomate)

EFFECTS OF APPLICATIONS OF *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* Kamyscho ex Barron y Onions (Zare y Gams) ON THE DEVELOPMENT OF TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.) SEEDLINGS

ABSTRACT: The strain IMI SD 187 of *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* Kamyscho ex Barron y Onions (Zare y Gams), is an effective biological control agent of *Meloidogyne* spp.; however, important aspects, such as its effect on seedling development, are unknown. This study was carried out to evaluate the effect of applying *P. chlamydosporia* var. *catenulate* on some development parameters in tomato seedlings cv. Vyta at the root-ball growth stage. The treatments were conformed taking two trays containing 104 root-balled seedlings each one; one of the trays inoculated with the fungus and the other one left uninoculated. The fungal parameters evaluated were CFU.g root⁻¹ and CFU.g substrate⁻¹. The plant parameters evaluated were height dynamics, stem thickness, number of active leaves, dry weight, moisture content of leaves, and absolute seedling growth rate. Although a lesser growth was observed in the inoculated treatment at the end of root-ball stage, the fungus established well in the substrate and seedling roots, without affecting severely the development parameters evaluated; therefore, it is possible to use this inoculation form in the present methodology of application against *Meloidogyne* spp.

(Key words: *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulate*; biological control; tomato)

INTRODUCCIÓN

Los nematodos formadores de agallas constituyen factores limitantes para la producción de tomate, tanto en condiciones de campo abierto (1) como en la producción protegida de hortalizas (2).

Las tendencias actuales para contrarrestar a *Meloidogyne* spp., están basadas en el uso del Manejo Integrado de Nematodos (MIN) (3), ocupando un lugar importante el uso de agentes de control biológico (ACB).

Entre los agentes microbianos para el control de nematodos formadores de agallas a nivel internacional, el hongo parásito facultativo de huevos de nematodos *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y W. Gams (ex *Verticillium chlamydosporium* Goddard), ha mostrado ser uno de los organismos más promisorios para este fin (4).

En Cuba, se evaluaron aislamientos nativos de *P. chlamydosporia* y se seleccionó la cepa IMI SD 187 de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* como potencial ACB de *Meloidogyne* spp. (5). Posteriormente se propuso la metodología de aplicación del hongo en sistemas intensivos de producción de hortalizas (6), aunque no se estudió el efecto sobre el desarrollo de las plántulas en condiciones de cepellón.

Actualmente, se desconocen los efectos de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* sobre el desarrollo de plántulas en la fase de crecimiento en cepellón y los beneficios que puede aportar el uso práctico de este método de inoculación, para incorporarlo a la metodología actual de aplicación de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en sistemas intensivos de producción de hortalizas.

El trabajo tuvo como objetivo, evaluar el efecto de la aplicación de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* sobre algunas variables del desarrollo de plántulas de tomate en la fase de crecimiento en cepellón.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Cuba, en aisladores biológicos bajo condiciones ambientales, en el periodo comprendido del 17 de noviembre/2008 al 27 de enero/2009.

Semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Vyta con 90% de germinación, se sembraron en cepellones de 104 alvéolos, con capacidad de 32,5cm² cada uno. Estos contenían sustrato compuesto por compost vegetal (50%), humus de lombriz (25%) y cascarilla de arroz (25%), sin esterilizar. Al mismo se

le realizó un análisis inicial que descartó la presencia de *P. chlamydosporia* var. *catenulata*.

Por cada gramo de sustrato utilizado, se inocularon 5×10^3 clamidosporas de la cepa IMI SD 187 de *P. chlamydosporia* var. *catenulata*, a partir del biopreparado KlamiC[®], lote 111008, obtenido en el laboratorio de producción de agentes de control biológico del CENSA, el que tenía la siguiente viabilidad: $2,30 \times 10^7$ clamidosporas. g producto⁻¹ y germinación de 90%.

Se colocaron dos semillas por cada alveolo. Los tratamientos consistieron en utilizar un cepellón con inoculación de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* y otro sin inocular, con 104 plántulas por cada tratamiento. El experimento fue repetido dos veces, tomando el valor promedio para expresar los resultados.

A los 25 días posteriores a la siembra, se evaluaron 20 plántulas por cada tratamiento a las cuales se les determinó: UFC.g raíz⁻¹ y UFC.g sustrato⁻¹. Las raíces fueron lavadas cuidadosamente y se secaron con papel de filtro Whatman No.4. Estas se cortaron en secciones de 1cm y se mezclaron para homogenizarlas. Se tomó una submuestra de 1g, la cual fue macerada suavemente y homogenizada en 9mL de una solución de agar al 0,05%. A partir de la suspensión obtenida se preparó una dilución de 10⁻¹, de la que se tomaron 0,2mL y se depositaron sobre dos placas Petri (9cm) que contenían medio semiselectivo (7). A los 21 días de incubadas las placas a 25°C, se calculó la cantidad de UFC.g raíz⁻¹.

Para la colonización del sustrato, se tomó 1g y se adicionó a 9mL de una solución de agar al 0,05%. A continuación se preparó una dilución de 10⁻² de la cual se tomaron 0,2mL y se depositaron sobre dos placas Petri (9cm) que contenían medio semiselectivo. A los 21 días de incubadas las placas a 25°C, se calculó la cantidad de UFC.g sustrato⁻¹.

Para realizar las evaluaciones sobre el desarrollo, se tomaron otras 20 plántulas por cada tratamiento a las cuales se les evaluó a los 25 días:

Grosor del tallo (mm): con pie de rey en la zona media del tallo.

Longitud de la raíz (cm): con regla milimetrada, desde el cuello de la raíz hasta la cofia.

Cantidad de hojas activas: se realizó el conteo de las mismas por cada plántula.

Masa seca de las plántulas (g): determinada luego de ser sometidas las muestras a temperatura de 80°C durante 72 horas, en una estufa.

Contenido de humedad en las hojas (%): para ello se tomaron tres muestras de 1g de hojas proce-

dentados de cada tratamiento, las cuales fueron seccionadas en pequeños segmentos y procesadas en un analizador de humedad electrónico marca SARTORIUS modelo MA 45.

Otras evaluaciones realizadas:

Tasa de crecimiento absoluta (TCA) ($\text{mg}\cdot\text{día}^{-1}$): las evaluaciones destructivas se realizaron a los 18 y 25 días posteriores a la siembra, según el procedimiento descrito por Vázquez y Torres (8), mediante la siguiente ecuación:

$$\text{TCA}(\text{mg}\cdot\text{día}) = \text{P2} - \text{P1}/\text{T2} - \text{T1}$$

P2. Peso seco (25 días)

P1. Peso seco (18 días)

T2. Tiempo final (25 días)

T1. Tiempo inicial (18 días)

Dinámica de altura (cm): se realizó a los 10, 15, 20 y 25 días posteriores a la siembra, con regla milimetrada, desde la base del tallo a ras de suelo, hasta el meristemo apical.

Los resultados se compararon utilizando la prueba t de Student (5%), a través del programa estadístico SAS 8.02, los valores que aparecen en porcentaje fueron transformados por $\arcsen \sqrt{x}$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar el hongo en el sustrato y sistema radical del tomate, se obtuvo que se desarrolló, tanto en el sistema radical de las plántulas inoculadas; como en el sustrato (Tabla 1).

TABLA 1. Colonización de las raíces y del sustrato por *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en el cepellón./ *Substrate and roots colonization by P. chlamydosporia* var. *catenulata* in root-ball stage

Tratamientos	UFC ($\text{g}\cdot\text{raíz}^{-1}$)	UFC ($\text{g}\cdot\text{sustrato}^{-1}$)
Inoculado	4,75E+02	8,51E+03
Sin inocular	0,00	0,00

Resultados obtenidos en tan breve período de tiempo, indican un adecuado poder de colonización de *P. chlamydosporia* var. *catenulata*, coincidiendo con resultados informados por García *et al.* (9), los que obtuvieron a los 21 días valores de $1,5 \times 10^2$ UFC.g raíz⁻¹ y 5×10^3 UFC.g suelo⁻¹ en maíz y 10^2 UFC.g raíz⁻¹ y $3,9 \times 10^3$ UFC.g suelo⁻¹ en frijol.

La variable altura de las plántulas a los 10 y 15 días no mostró diferencias significativas entre los tratamien-

tos. Sin embargo, a los 20 y 25 días se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$), correspondiendo el menor crecimiento, donde fue inoculado el hongo (Figura 1), lo que pudiera estar relacionado, con la respuesta de las plántulas frente a la presencia del hongo en su sistema radical.

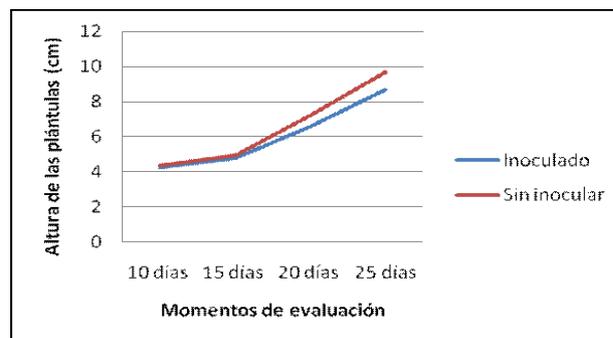


FIGURA 1. Dinámica de altura en plántulas de tomate cv. Vyta inoculadas con *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en cepellón./ *Dynamics of height in tomato seedlings cv. Vyta inoculated with P. chlamydosporia* var. *catenulata* at the root-ball stage. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Estos resultados no coincidieron con los informados por otros autores (10, 11, 12), los cuales señalaron que hongos colonizadores de las raíces estimulaban el desarrollo de las plantas.

Al evaluar las variables grosor del tallo y longitud de la raíz, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p \leq 0,05$) (Tabla 2).

TABLA 2. Comportamiento de algunas variables del desarrollo en plántulas de tomate cv. Vyta inoculadas con *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en cepellón./ *Behaviour of some development parameters in tomato seedlings cv. Vyta inoculated with P. chlamydosporia* var. *catenulata* in root-ball stage

Tratamientos	GT (mm)	LR (cm)
Inoculado	2,15	4,26
Sin inocular	2,10	4,34
ESx	0,05	0,08

GT: grosor del tallo, LR: longitud de la raíz

Las demás variables (Tabla 3), tampoco presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0,05$). Estas mostraron un comportamiento similar, demostrando que la presencia del hongo en el sistema radical de las plántulas en la etapa de cepellón, no afectó la actividad fisiológica de las mismas.

TABLA 3. Comportamiento de variables fisiológicas en plántulas de tomate cv. Vyta inoculadas con *P. chlamydosporia* var. *catenulata* en cepellón./ *Behaviour of physiological parameters in tomato seedlings cv. Vyta inoculated with P. chlamydosporia* var. *catenulata* at the root-ball stage

Tratamientos	CHA	MS (g)	TCA (mg.día ⁻¹)	CAH (%)	
				X	X _t
Inoculado	4,15	0,06	26,57	90,67	1,26
Sin inocular	4,15	0,06	27,02	91,93	1,28
ESx	0,05	0,05	1,41	0,30	

CHA: cantidad de hojas activas, MS: masa seca, TCA: tasa de crecimiento absoluta, CAH: contenido de agua en las hojas.

Gamboa (10), planteó que los hongos son microorganismos con gran capacidad de influir en el destino y disponibilidad de nutrientes en un ecosistema, por lo que es posible pensar que su presencia tenga disímiles repercusiones en las plantas hospedantes.

El uso del hongo *P. chlamydosporia* var. *catenulata*, en la etapa de crecimiento en cepellón no causó afectaciones severas sobre las variables del desarrollo del tomate que fueron evaluadas, por lo tanto, es posible utilizar esta forma de inoculación, en la metodología actual de aplicación contra *Meloidogyne* spp; en este cultivo sin afectar la calidad de las plántulas.

Referencias

- Sikora RA, Fernández E. Nematode Parasites of Vegetables. Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture (Luc M, Sikora RA, Bridge J. Eds). CAB International, Wallingford, UK. Chapter 9:319-392.2005.
- Gómez L, Rodríguez MG, Enrique R, Miranda, González E. Factores limitantes de los rendimientos y calidad de las cosechas en la producción protegida de hortalizas en Cuba. Rev. Protección Veg. 2009;24(2):117-122.
- Rodríguez MG, Sánchez L, Gómez L, Hidalgo-Díaz L, González E, Gómez M, et al. *Meloidogyne* sp., plagas de las hortalizas: alternativas para su manejo en sistemas de cultivo protegido. Rev Protección Veg. 2005;20(1):1-10.
- Bourne JM. Making a soil suppressive to root-knot nematodes by applications of *Verticillium chlamydosporium*. *Tri-trophic Interactions in the Rhizosphere*. IOBC/WPRS Bulletin. 2001;24(1):5-30.
- Montes de Oca N, Arévalos J, Acosta N, Hidalgo-Díaz L. Herramientas para el control de la calidad de la cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* (Kamyscho ex Barron y Onions) Zare y W. Gams. *Rev. Protección Veg.* 2005;20(2):86-92.
- Puertas A. Uso de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* (Kamyscho ex Barron y Onions) Zare y Gams como agente de control biológico de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en cultivos hortícolas. Tesis en opción al grado científico de doctor en ciencias agrícolas. Universidad Agraria de la Habana Fructuoso Rodríguez Pérez - Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. La Habana, Cuba. 2007;1-93.
- Kerry BR, Kirkwood IA, de Leij FA, Barba J, Leidjens MB, Brookes PC. Growth and survival of *Verticillium chlamydosporium* Goddard, a parasite of nematodes in soil. *Biocontrol Sci. Technol.* 1993;3:355-365.
- Vázquez E, Torres SG. Fisiología vegetal. Part 2. Ed. Félix Varela. La Habana. 2006;56-75.
- García L, Melchor G, Arévalos J, Hidalgo-Díaz L. Evaluación de la fitotoxicidad de la cepa IMI SD 187 de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* sobre *Zea mayz* L. y *Phaseolus vulgaris* L. *Rev. Protección Veg.* 2008;23(1):38-42.
- Gamboa MA. Hongos endófitos tropicales: conocimiento actual y perspectivas. *Ecol Lett.* 2006;3:268-279.
- Abello JF, Segenet K. Hongos endófitos: ventajas adaptativas que habitan en el interior de las plantas. *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria.* 2006;7(2):55-57.
- Crozier J, Thomas S, Aime M, Evans H, Holmes K. Molecular characterization of fungal endophytic morphospecies isolated from stems and pods of *Theobroma cacao*. *Plant Pathology.* 2006;55:783-791.

(Recibido 1-3-2011; Aceptado 16-3-2011)