

ARTÍCULO ORIGINAL

***Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams como potencial agente de control biológico de *Meloidogyne enterolobii* (Yang y Eisenback) en cultivos hortícolas**

Jersys Arévalo^I, S.D. Silva^{II}, Marina D.G. Carneiro^{III}, R.B. Lopes^{III}, Regina M.D.G. Carneiro^{III}, Myrian S. Tigano^{III}, L. Hidalgo-Díaz^I

^ICentro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

Correo electrónico: jersys@censa.edu.cu; ^{II}Universidad de Brasilia UnB, Brasilia-DF, Brasil.

^{III}Embrapa- Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasilia-DF, Brasil

RESUMEN: Recientemente se informaron aislamientos de *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams parasitando huevos de *Meloidogyne enterolobii* Yang y Eisenback (syn. jun. *Meloidogyne mayaguensis* Rammah y Hirschmann) en plantaciones de guayaba (*Psidium guajava* L.), al nordeste de Brasil. Teniendo en cuenta el peligro potencial de esta plaga para numerosos cultivos incluyendo las hortalizas, se realizó un experimento en casa de vegetación con dos repeticiones en el tiempo. El objetivo fue evaluar las actividades saprofítica y patogénica de tres cepas brasileñas (CG1003, CG1006 y CG1041) y una cubana (IMI SD 187) de *P. chlamydosporia* frente a *M. enterolobii*, en una sucesión de cultivos tomate (*Solanum lycopersicum* L.)- lechuga (*Lactuca sativa* L.). Al finalizar el ciclo de los cultivos, 6 meses después de la aplicación, se comprobó que la colonización de *P. chlamydosporia* se mantuvo en el orden de 10^4 UFC.g⁻¹ de suelo y mayor de 10^3 UFC.g⁻¹ en las raíces, excepto para la cepa CG1041 (10^2 UFC.g⁻¹ de raíz). El porcentaje de colonización de estos hongos sobre las masas de huevos fue superior al 60% en todos los tratamientos, mientras que los porcentajes de parasitismo de huevos estuvieron entre 45 y 55%. Estos resultados validaron la cepa cubana frente a una diana y en condiciones diferentes a las que es originaria y se demostró que las cepas brasileñas son potenciales biocontroladores de *M. enterolobii*, abriéndose así futuras perspectivas de investigación como agentes de control biológico integrados para el manejo de este nematodo.

Palabras clave: hongos nematófagos, nematodos formadores de agallas, hortalizas.

***Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams as potential biological control agent of *Meloidogyne enterolobii* (Yang & Eisenback) in vegetable crops**

ABSTRACT: Recently, *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams was isolated from parasitized eggs of *Meloidogyne enterolobii* Yang y Eisenback (syn. jun. *Meloidogyne mayaguensis* Rammah y Hirschmann) in guava (*Psidium guajava* L.) plantations, at the northeast of Brazil. Due to the potential danger of this pest for a large group of crops, including vegetable crops, a greenhouse experiment was conducted with two repetitions in time. The aim was to evaluate the saprophytic and parasitic activities of three brazilian strains (CG1003, CG1006 and CG1041) and the cuban strain (IMI SD 187) of *P. chlamydosporia* against *M. enterolobii* in a tomato (*Solanum lycopersicum* L.)- lettuce (*Lactuca sativa* L.) crop sequence. At the end of the cultivation, 6 month after the application, colonization of *P. chlamydosporia* was in the order of 10^4 CFU.g⁻¹ of soil and 10^3 CFU.g⁻¹ of root, with exception of the strain CG1041 (10^2 CFU.g⁻¹ of root). Egg mass percentage was higher than 60% in all treatments, while parasitized egg percentage was between 45-55%. These results validated the cuban strain against a nematode target under different conditions from those it originally came from; the brazilian strain potential as biocontroler of *M. enterolobii* was also demonstred. Future investigation perspectives with those fungi are opened for their use as biological control agents for nematode pest management strategies.

Key words: nematophagous fungi, root-knot nematodes, vegetable.

INTRODUCCIÓN

El nematodo formador de agallas *Meloidogyne enterolobii* Yang y Eisenback (syn. jun. *Meloidogyne mayaguensis* Rammah y Hirschmann) constituye una importante plaga en países de las zonas tropical y subtropical, donde parasita de manera natural más de 30 especies de plantas como guayaba (*Psidium guajava* L.), cafeto (*Coffea* spp.), hortalizas, ornamentales y arvenses. Se considera una de las especies más peligrosas del género por su habilidad de reproducirse en plantas que poseen genes de resistencia a *Meloidogyne* spp. Su distribución ocurrió relativamente rápido debido a factores antropogénicos y puede hallarse en poblaciones concomitantes junto a *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood, *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood y *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood (1), lo que hace complejo su diagnóstico y manejo.

En Brasil, este nematodo se ha encontrado en áreas agrícolas (2) y forestales (3). Su diseminación a través de diversos estados, en cultivos de importancia económica, ocasionó pérdidas millonarias en la fruticultura de este país (4). En Cuba se confirmó su presencia en plantaciones de café de la región oriental del país, posteriormente se informó afectando tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en la región occidental y en sistemas de producción protegida de hortalizas en el centro del país (1). Para su manejo se trabaja en la evaluación de medidas efectivas y compatibles con el ambiente, entre las que el control biológico resulta importante (5,6).

El hongo nematófago *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams (ex *Verticillium chlamydosporium* Goddard), es un parásito facultativo de huevos de nematodos de quistes y formadores de agallas presente en suelos supresores de nematodos (7). Su potencial como agente de control biológico para el manejo de *Meloidogyne* spp. se ha estudiado ampliamente (8, 9).

En Cuba, Hidalgo *et al.* (10) informaron el aislamiento de cepas autóctonas a partir de huevos de *M. incognita* y seleccionaron entre ellas, la cepa IMI SD

187 de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* (Kamyscho ex Barron y Onions) Zare y Gams. Esta cepa constituye el ingrediente activo del bionemático KiamiC®, registrado en el país (11) y cuya efectividad en el manejo de nematodos formadores de agallas se ha comprobado en condiciones de producción de cultivos protegidos y campo (12, 13).

En Brasil, recientemente se obtuvieron aislamientos nativos de *P. chlamydosporia* parasitando huevos de *M. enterolobii* en una plantación de guayaba severamente afectada, en condiciones de clima semiárido y altas temperaturas (5).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar las actividades saprofítica y parasítica de cuatro cepas de *P. chlamydosporia* frente a *M. enterolobii* en una sucesión de cultivos tomate- lechuga (*Lactuca sativa* L.)

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron las actividades saprofítica y patogénica de cuatro cepas de *P. chlamydosporia* (Tabla 1), frente a *M. enterolobii* en una sucesión de cultivos tomate (*Solanum lycopersicum* L.)- lechuga (*Lactuca sativa* L.). El experimento se realizó en casa de vegetación durante seis meses, con dos repeticiones en el tiempo. Se establecieron cinco tratamientos, correspondientes a cada cepa probada y uno control (sin *P. chlamydosporia*), con 8 réplicas por tratamiento, colocadas completamente al azar.

El inóculo fúngico de cada cepa se obtuvo mediante Fermentación en Estado Sólido (FES) (14). El experimento se realizó en bolsas de polietileno con 4kg de sustrato esterilizado (suelo y abono orgánico en proporción 1: 1 v/v). En cada bolsa se trasplantó una plántula de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Santa Clara de 30 días de germinada. Al momento del trasplante, se inoculó una suspensión de 5000 clamidosporas viables por cada gramo de sustrato, suspendidas en 100mL de agua potable esterilizada, en el hueco de siembra de cada plántula. Transcurridos 10 días posteriores al trasplante se inoculó una suspensión de 5000 huevos de *M. enterolobii* alrededor de la raíz de cada planta. Después de cuatro meses, se

TABLA 1. Cepas de *P. chlamydosporia* evaluadas frente a *M. enterolobii*./ *Strains of P. chlamydosporia* evaluated against *M. enterolobii*.

Código	Variiedad	Aisladas de:	Estado o Provincia/ País de origen
CG1003	<i>chlamydosporia</i>	Huevos (<i>M. enterolobii</i>)	Petrolina-PE/ Brasil
CG1006	<i>catenulata</i>	Huevos (<i>M. enterolobii</i>)	Petrolina-PE/ Brasil
CG1041	<i>chlamydosporia</i>	Huevos (<i>Meloidogyne</i> spp.)	Brazilandia-DF/ Brasil
IMI SD 187	<i>catenulata</i>	Huevos (<i>M. incognita</i>)	Stgo de Cuba/ Cuba

removieron las plantas de tomate de cada bolsa y se sembró en el mismo sitio una plántula de lechuga (*Lactuca sativa* L.) cv. Crespa de 20 días de germinada, la cual se mantuvo durante los dos meses siguientes.

Se utilizaron cuatro bolsas de cada tratamiento para evaluar la colonización de *P. chlamydosporia* en el suelo y las raíces, mediante el método de dilución y siembra en medio semiselectivo (15). Durante el ciclo de tomate, se extrajo una muestra de 1g de suelo de cada bolsa a intervalos de 30 días y al final de ambos cultivos (120 días tomate y 60 días lechuga) y se determinó la dinámica de colonización del hongo en el suelo de la rizosfera durante los 180 días del experimento. En las raíces se analizó la colonización final en ambos cultivos.

Al finalizar el cultivo de tomate, se extrajeron 50 masas de huevos de cada planta con ayuda de un estéreo microscopio. Las masas se colocaron en un eppendorf con un mL de agua destilada y se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Se sembraron 20 masas de huevos en dos placas Petri que contenían Agar Agua con Antibiótico (AAA) (Agar Técnico: 15g.L⁻¹, Cloranfenicol: 50mg.L⁻¹, Tetraciclina: 50mg.L⁻¹ y Sulfato de Estreptomina: 50mg.L⁻¹) a razón de 10 masas de huevos por placa. Las placas se incubaron durante 5 días a 25°C. Luego se evaluó el porcentaje de colonización de cada cepa de *P. chlamydosporia*. Con el resto de las masas de huevos se preparó una suspensión de huevos en 1mL de agua esterilizada -mediante ruptura mecánica de las masas. De esta se tomó una alícuota de 0,2mL y se colocó en placas con AAA y se incubó durante 24-48h a 25°C. Posteriormente se contaron 30 huevos (parasitados y no parasitados) en cada placa y se determinó el porcentaje de huevos parasitados.

Al final de cada cultivo, las raíces de las cuatro réplicas restantes, se lavaron cuidadosamente con agua corriente para retirar los restos de suelo y se colocaron sobre papel absorbente para eliminar el exceso de agua. Inmediatamente se determinó su masa fresca y el índice de agallamiento, mediante la escala de 0 a 5 grados propuesta por Taylor y Sasser (16). Los huevos de *M. enterolobii* de cada raíz se extrajeron con hipoclorito al 1 % (17) y se colectaron en un tamiz de 500 Mesh en un volumen de 100mL de agua. Posteriormente se realizó el conteo de huevos en cámara de Peter por planta en el microscopio óptico (4X) y se determinó el número de huevos por gramo de raíz. Finalmente se estimó el número de huevos sanos en las raíces, según Sorribas *et al.* (18).

Los resultados de la concentración del hongo en suelo y raíces (UFC.g⁻¹) se transformaron en LOG(x+1).

La fórmula $\arcseno\sqrt{(x/100)}$ se utilizó para transformar los valores del porcentaje de colonización de *P. chlamydosporia* sobre las masas de huevos y el parasitismo de huevos. Se realizó un ANOVA Simple y para conocer si existían diferencias significativas se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan (nivel de significación $p \leq 0,05$). Los análisis se realizaron mediante el paquete estadístico InfoStat versión 1.1 (19).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se muestran los resultados de la dinámica de la concentración de *P. chlamydosporia* en suelo en la sucesión de cultivo tomate-lechuga. Todas las cepas evaluadas demostraron su habilidad para desarrollarse saprofiticamente en el suelo. Los mayores valores de colonización en el tomate se alcanzaron a los 60 días después de la inoculación. Se comprobó la persistencia de estos hongos en el orden de 10⁴ UFC.g⁻¹ de suelo, después de 6 meses de su aplicación. La colonización de la cepa CG1041 al final del ciclo del tomate (120 días) fue significativamente inferior al resto; sin embargo no hubo diferencias significativas en la concentración de las cuatro cepas al final del cultivo de la lechuga (180 días).

En cuanto a la colonización de la raíz de ambos cultivos, los resultados se relacionan con los anteriores, ya que la cepa CG1041 alcanzó valores significativamente bajos (2,50x10² UFC.g⁻¹ de raíz) en el cultivo del tomate, mostrando un incremento a 6,69x10² UFC.g⁻¹ de raíz en la lechuga. El resto de las cepas mantuvo la colonización en el orden de 10³ UFC.g⁻¹ de raíces (Figura 2).

Respecto al porcentaje de colonización de los hongos sobre las masas de huevos de *M. enterolobii*, éste fue superior al 60% en todas las cepas, sobresaliendo CG1006 y CG1003 (Brasil) que alcanzaron más de 80% de colonización. Mientras que los porcentajes de parasitismo de huevos de cada cepa no mostraron diferencias significativas y oscilaron entre 44 y 55%. La cepa nativa CG1041 presentó los menores porcentajes de colonización de masas de huevos y parasitismo sobre los huevos del nematodo (Tabla 2).

Al estimar el número de huevos sanos en las raíces de tomate, se comprobó que aunque las cepas CG1003, CG1006 e IMI SD 187 lograron una reducción respecto al control sin *P. chlamydosporia*, las diferencias no fueron significativas. Por su parte, la cepa CG1041 no redujo la cantidad de huevos sanos, valor que fue superior al de otras cepas y el control (Tabla 2).

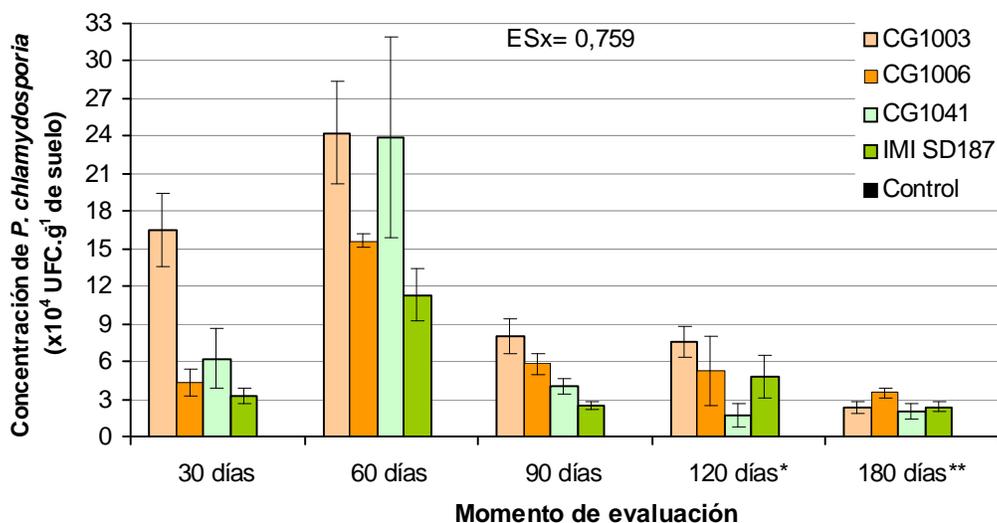


FIGURA 1. Dinámica de la colonización de *P. chlamydosporia* en el suelo en la secuencia de cultivo tomate* (120 días)-lechuga** (60 días)./ *Dynamics of P. chlamydosporia* soil colonization in a crop sequence tomato* (120 days)- lettuce** (60 days).

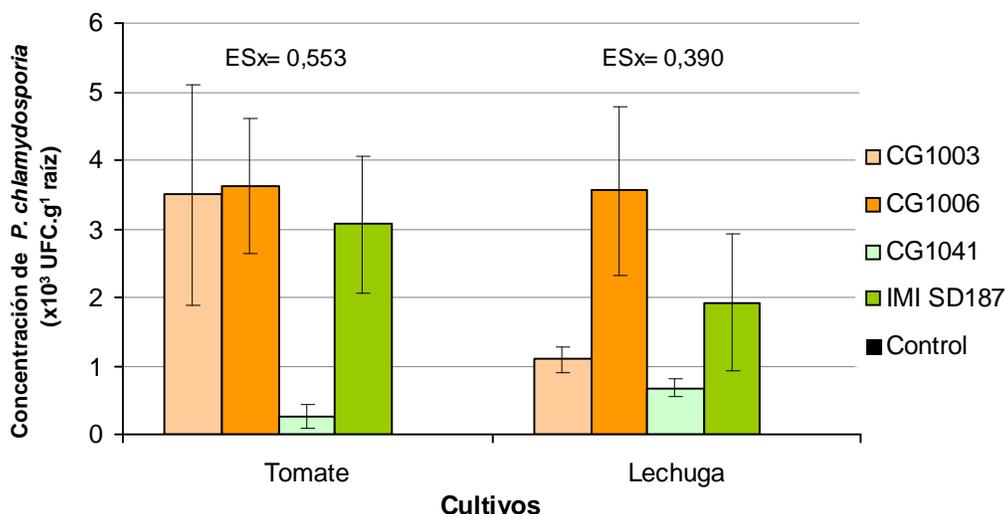


FIGURA 2. Colonización de *P. chlamydosporia* en la raíz al final de cada cultivo (tomate-lechuga)./ *Root colonization of P. chlamydosporia* at the end of each crop (tomato-lettuce).

TABLA 2. Actividad parasítica de *P. chlamydosporia* sobre *M. enterolobii* al final del cultivo de tomate./ *Parasitic activity of P. chlamydosporia* against *M. enterolobii* at the end of tomato cultivation.

Tratamiento	Cultivo 1 (Tomate)		
	Colonización de masas de huevos (%)	Parasitismo de huevos (%)	No. de huevos * (Huevos.g ⁻¹ raíz)
CG1003	82,47±5,16 b	55,00±7,63 a	142,8±20,66 a
CG1006	81,60±4,81 ab	53,78±2,73 a	144,9±77,41 a
CG1041	64,65±6,04 a	44,05±2,44 a	300,6±32,31 b
IMI SD 187	75,50±4,14 ab	47,40±3,54 a	169,4±51,96 ab
Control	-	-	277,0±48,6 ab

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos para cada parámetro evaluado (columnas) (Media ± ES).

* Se excluyen los huevos parasitados.

Las cepas de *P. chlamydosporia* no redujeron significativamente el índice de agallamiento sobre los cultivos durante la sucesión tomate-lechuga. La infestación de *M. enterolobii* alcanzó grados de 4-5 en el tomate y 4-4,8 en la lechuga, sin diferencias significativas respecto al control sin hongo.

Los resultados obtenidos confirman el potencial como agentes de control biológico, de cepas originarias de Cuba y Brasil de *Pochonia chlamydosporia* frente a *M. enterolobii* en una sucesión de cultivos tomate-lechuga con una sola aplicación inicial de 5000 clamidosporas.g⁻¹ de suelo. La colonización de estas cepas, en el orden de 10⁴UFC.g⁻¹ en suelo y 10³ UFC.g⁻¹ en las raíces, coinciden con resultados informados para la cepa IMI SD 187, cuyos valores de colonización de masas de huevos y parasitismo de huevos sobre *M. incognita* fueron superiores al 80 % (20). Peteira *et al.* (21) obtuvieron similares resultados de parasitismo (72%) con igual dosis de aplicación, después de dos ciclos de tomate.

Es de resaltar que la cepa CG1006 mantuvo elevada colonización sobre las raíces en ambos cultivos. Sin embargo la colonización de la cepa CG1003 fue menor en las raíces de lechuga que en tomate; contrario a lo observado con CG1041. La habilidad de los aislamientos de colonizar la rizosfera de las plantas constituye un elemento clave en la selección de cepas promisorias y el establecimiento de una adecuada secuencia de cultivos (22,23).

Las actividades saprofitica y patogénica de las cepas nativas CG1003 y CG1006 frente a *M. enterolobii* no mostraron diferencias significativas al final del ciclo de cada cultivo en comparación con la cepa foránea IMI SD 187, de una región distinta y aislada de un hospedante diferente; esta cepa presentó un 75 % de colonización sobre las masas de huevos y un 47,4% de parasitismo sobre huevos. El hecho de contar con cepas seleccionadas que tengan alta patogenicidad sobre varias especies de *Meloidogyne* y que estas pudieran co-inocularse como sugiere Atkins *et al.* (24), podría resultar muy útil en el manejo de poblaciones concomitantes de *Meloidogyne* spp.

A pesar de que las cepas tuvieron buena capacidad para establecerse en la rizosfera de los cultivos hortícolas evaluados y mostraron índices de parasitismo satisfactorios (50%) no se redujo la población de *M. enterolobii*. Esto pudiera deberse al alto porcentaje de juveniles que escapan a la infección y que pueden completar alrededor de 4 generaciones en cultivos susceptibles (15) (4 meses tomate y 2 meses lechuga). Por otra parte, un agente de control biológico por sí solo no alcanza re-

sultados inmediatos en la reducción de las poblaciones de nematodos, sino como parte de una estrategia integrada de manejo (9). Para Sorribas *et al.* (18), el recurrir a múltiples aplicaciones del hongo en un mismo cultivo pueden reducir el índice de agallas.

Las plantas de lechuga tuvieron un pobre desarrollo radicular durante el experimento, como resultado de la alta susceptibilidad del cultivo al nematodo (15). Al finalizar el cultivo, el peso de las raíces estuvo entre 4-5 gramos, siendo el material escaso para evaluar la colonización de las cepas de *P. chlamydosporia* sobre las masas de huevos y el parasitismo de huevos de *M. enterolobii*.

Los resultados mostraron que la cepa cubana es efectiva frente a una diana y en condiciones diferentes de las que se aisló. Se demostraron además las potencialidades de las cepas brasileñas frente a *M. enterolobii* en cultivos hortícolas. Finalmente y tomando en cuenta que tanto el contenido de abono orgánico-fuente adicional de nutrientes- como la microbiota natural de un suelo pueden hacer a éste más receptivo para aislamientos nativos de *Pochonia* e influir en su actividad nematófaga (25, 26), es necesario evaluar el efecto de tales factores sobre el desarrollo saprofito y parasítico de las cepas de *P. chlamydosporia* frente a poblaciones de nematodos en suelo natural. Dicha evaluación es importante para la selección, uso e integración de agentes de control biológico dentro de estrategias de manejo de *Meloidogyne* spp.

REFERENCIAS

1. Rodríguez MG, Gómez L, Peteira B. *Meloidogyne mayaguensis* Rammah y Hirschmann, plaga emergente para la agricultura tropical y subtropical. Rev Protección Veg. 2007;22(3):183-198.
2. Carneiro RMDG, Moreira WA, Almeida MRA, Gomes ACMM. Primeiro registro de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira no Brasil. Nematologia Brasileira. 2001;25:223-228.
3. Lima IM, Souza RM, Silva CP, Carneiro RMDG. *Meloidogyne* spp. from preserved areas of Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro, Brazil. Nematologia Brasileira. 2005;29:31-38.
4. Pereira FOM, Souza RM, Souza PM, Dolinski C, Santos GK. Estimativa do impacto econômico e social direto de *Meloidogyne mayaguensis* na cultura da goiaba no Brasil. Nematologia Brasileira. 2009;33:176-181.

5. Arévalo J, Hidalgo-Díaz L, Martins I, Souza JF, Castro JMC, Carneiro RMDG, Tigano MS. Cultural and morphological characterization of *Pochonia chlamydosporia* and *Lecanicillium psalliotae* isolated from *Meloidogyne mayaguensis* eggs in Brazil. *Tropical Plant Pathology*. 2009;34(3):158-163.
6. Carneiro RMDG, Hidalgo-Díaz L, Martins I, Silva KFA, De Sousa MG, Tigano M S. Effect of nematophagous fungi on reproduction of *Meloidogyne enterolobii* on guava (*Psidium guajava*) plants. *Nematology*. 2011;13(6):721-728.
7. Kerry BR. Exploitation of the Nematophagous Fungus *Verticillium chlamydosporium* Goddard for the Biological Control of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: Butt TM, Jackson C, Magan N, editors. *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential*. CAB International, Wallingford; 2001. p. 155-168.
8. Atkins SD, Hidalgo-Díaz L, Clark IM, Morton CO, Montes de Oca N, Gray PA, Kerry BR. Approaches for monitoring the release of *P. chlamydosporia* var. *catenulata*, a biological control agent of root-knot nematodes. *Mycol Res*. 2003;107(2):206-212.
9. Hidalgo-Díaz L, Kerry BR. Integration of biological control with other methods of nematode management. In: Ciancio A, Mukerji KG, editors. *Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes*. 2008; p.29-49.
10. Hidalgo L, Sánchez L, Gómez L. *Verticillium chlamydosporium* Goddard, parásito de huevos de *Meloidogyne incognita*. *Rev Protección Veg*. 1998;13(1):29-30.
11. Lista Oficial de Plaguicidas Autorizados en la República de Cuba. 2010. p. 325.
12. Delgado Y. Validación de la Efectividad Técnica y Económica de dos Bionematicidas en Condiciones de Cultivos Protegidos. [Tesis]. MINAG-IIFT; 2010.
13. Hernández MA, Hidalgo L. KlamiC®: Bionematicida agrícola producido a partir del hongo *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*. *Rev Protección Veg*. 2008;23(2):131-134.
14. Montes de Oca N. Buenas prácticas de fabricación para la obtención de un bionematicida a partir de la cepa IMI 187 de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* [Tesis]. La Habana: Universidad Agraria de La Habana; 2004.
15. Kerry BR, Bourne JM. A manual for research on *Verticillium chlamydosporium*, a potential biological control agent for root-knot nematodes. Ghent, Belgium, IOBC/WPRS. 2002. p. 84.
16. Taylor AL, Sasser JN. Biology, identification and control of rootknot nematodes (*Meloidogyne* species). Cooperative publications, Dept. Plant Pathology, North Carolina State Univ. & U.S. Agency of International Development, Raleigh. 1978; 111p.
17. Hussey RS, Barker KB. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Dis Repr*. 1973;57:1025-1028.
18. Sorribas FJ, Ornat C, Galeano M, Verdejo-Lucas S. Evaluation of a native and introduced isolate of *Pochonia chlamydosporia* against *Meloidogyne javanica*. *Biocontrol Science and Technology*. 2003;13(8):707-714.
19. Di Rienzo JA, Balzarini MG, González L, Tablada M, Guzmán W, Casanoves F, Robledo CW. *InfoStat/Profesional Versión 1.1*. 2002.
20. Puertas A, Arévalo J, Montes de Oca N, Miranda I, Hidalgo-Díaz L. Efecto de diferentes concentraciones de inóculo de la cepa IMI SD 187 de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* en el control de *Meloidogyne incognita*. *Rev Protección Veg*. 2006;21(2):74-79.
21. Peteira B, Puertas A, Hidalgo-Díaz L, Hirsch PR, Kerry BR, Atkins SD. Real-time PCR to monitor and assess the efficacy of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* against root-knot nematode populations in the field. *Biotechnología Aplicada*. 2005;22(4):261-266.
22. Puertas A, Hidalgo-Díaz L. Influencia de la planta hospedante y su interacción con *Meloidogyne incognita* sobre la efectividad de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*. *Rev Protección Veg*. 2007;22(2):104-109.

23. Leij de FAAM, Kerry BR. The nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* Goddard, as a potencial biological control agent for *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood. *Revue Nématol.* 1991;14:157-164.
24. Atkins SD, Peteira B, Clark IM, Kerry BR, Hirsch PR. Use of real-time quantitative PCR to investigate root and gall colonisation by co-inoculated isolates of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. *Ann Appl Biol.* 2009;155:143-152.
25. Monfort E, López-llorca LV, Janson HB, Salinas J. *In vitro* soil receptivity assays to egg-parasitic nematophagous fungi. *Mycological Progress.* 2006;5:18-23.
26. Podestá GS, Dallemole-Giaretta R, Freitas LG, Lopes EA, Ferraz S, Zooca RJF. Atividade de *Pochonia chlamydosporia* em solo natural ou autoclavado sobre *Meloidogyne javanica*. *Nematología Brasileira.* 2009;33(2):191-193.

Recibido: 20-11-2011.

Aceptado: 21-3-2012.