

## Algunas Consideraciones Sobre el Control Biológico de Nematodos

F. Varón-Agudelo. Laboratorio de Diagnóstico Vegetal. Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. Colombia. E-mail: icasaniveg@uniweb.net.co

En la naturaleza todos los microorganismos están sujetos a un equilibrio biológico que limita el crecimiento indefinido de las poblaciones, ya que éstas pueden estar influenciadas por las condiciones medio ambientales y por la comunidad de organismos con los cuales coexisten.

La actividad de los nematodos como organismos del suelo, está influenciada no solamente por la variación de los factores físicos del suelo como temperatura, humedad y aireación, sino también, por una gran cantidad de microorganismos que limitan su infección, alimentación y multiplicación.

El control biológico ha sido definido como una reducción de la población de nematodos acompañada por la acción de organismos vivos, lo cual ocurre naturalmente o a través de la manipulación de las condiciones medio ambientales o la introducción de antagonistas o enemigos naturales. Es considerado como el resultado de la acción de microorganismos del suelo, la microfauna del suelo, a través de mecanismos como parasitismo, depredación, competencia y antibiosis (Stirling, 1991).

El término antagonista se refiere a aquellos organismos que compiten con otros microorganismos y reducen su supervivencia y reproducción. La mayoría de los antagonistas matan los nematodos, pero algunos interfieren de alguna manera con el ciclo de vida; por ej: inhiben la eclosión de los huevos, impiden el movimiento o la búsqueda del hospedero (Stirling, 1991).

Hay tres tipos de organismos que son antagonistas a los nematodos y cada grupo difiere en su acción:

**Depredadores:** son organismos que consumen los nematodos y pueden ser polífagos, oligófagos y monófagos. Los monófagos son los que pueden ofrecer un control biológico exitoso.

**Parásitos:** son organismos que crecen dentro de su hospedero y obtienen su alimentación de éste. Son también conocidos como patógenos cuando causan enfermedad en el nematodo.

**Un tercer grupo** involucra aquellos individuos que compiten por espacio, los que producen antibióticos que son tóxicos a los nematodos o los que interfieren de alguna manera el ciclo de vida o la capacidad del nematodo para buscar su alimento.

Las especies que parasitan o depredan nematodos o huevos son de particular interés entre los nematólogos y algunas han sido ampliamente estudiadas debido a su potencial como agentes de control biológico.

### Hongos

Entre los microorganismos del suelo se estima que los hongos son el grupo más significativo y contribuye al 80 por ciento de la biomasa microbial total en muchos suelos (Stirling, 1991). Ellos utilizan un rango amplio de sustratos orgánicos en una variedad de

microhábitats y su ubicuidad y diversidad nutricional provee numerosas oportunidades para interactuar con los nematodos.

### Hongos Endoparásitos

En este grupo se destacan aquellos hongos que atacan internamente al nematodo ya sea por la formación de hifas, zoosporangios, esporas de resistencia o conidióforos y conidias. Algunos de estos hongos son parásitos obligados pero otros pueden tener una fase saprofítica.

Los Chitridiomycetes y Oomycetes tienen una zoospora flagelada como propágulo infectivo. Las zoosporas localizan al hospedero siguiendo gradientes químicos que son formados por los exudados de los orificios del nematodo, ésta se enquistada en cualquier orificio (ano, vulva o cavidad bucal), allí emite un tubo germinativo que comienza el proceso infectivo dentro del cuerpo del nematodo, entonces el hongo se desarrolla y se forman los zoosporangios y las zoosporas. En algunas ocasiones la penetración ocurre a través de la cutícula. Se tiene como ejemplo de este grupo a *Catenaria anguillulae*, *Lagenidium caudatum*, *Aphanomyces* sp. y *Leptolegnia* sp.

El principal factor que limita la efectividad de los endoparasíticos que producen zoosporas como agentes de control biológico, es la dependencia de agua libre para su actividad.

Las especies de *Verticillium*, *Nematoconus* y *Harposporium*, tienen esporas o conidias adhesivas que les permiten adherirse a la cutícula de los nematodos. El proceso infectivo de estos endoparásitos se inicia cuando la conidia se adhiere a la cutícula. En *Hirsutella rhossilliensis* las conidias están totalmente cubiertas de un material adhesivo incoloro.

Todos estos endoparásitos tienen conidias pequeñas con pocos nutrientes de reserva, por eso no pueden formar un micelio extensivo en el suelo, además son difíciles de aislar en medio de cultivo. De todos los hongos endoparásitos *Hirsutella rhossilliensis* ha recibido bastante atención porque ha sido asociado a muchos nematodos fitoparásitos en muchas partes del mundo. Lo han asociado con *Criconemoides xenoplax*, el cual muere de dos a cinco días después de que la espora se ha adherido a la cutícula (Stirling, 1991).

En el caso de *Harposporium*, la infección se inicia cuando la conidia está situada en la cavidad bucal o en la garganta del nematodo. Estos hongos no son buenos para ser usados como agentes de control biológico ya que los nematodos son incapaces de ingerir las conidias.

### Hongos Atrapadores de Nematodos

Se llaman también depredadores y están equipados con unos órganos capaces de capturar los nematodos. *Monacrosporium cionopagum* es uno de los más aislados, tiene conidióforos rectos con dos o tres células en la hifa la cual se une y forma una lupa o red.

Una película de material adhesivo es secretado sobre toda la superficie de cada hifa. A medida que crece el hongo desarrolla varias redes que se convierten en trampas para los nematodos. *Arthrobotrys oligospora* es otro de los microorganismos que utilizan este tipo de trampas. Algunos hongos tienen otros mecanismos para atrapar los nematodos como son los nudos y anillos constrictores y no constrictores.

El aislamiento de estos hongos del suelo es difícil porque ellos requieren algunas fuentes nutricionales como carbohidratos que aportan carbón o nitrógeno, además, algunos dependen de los nematodos para poder sobrevivir.

## Hongos Parásitos de Huevos, Hembras y Quistes

En este grupo existen hongos muy variables en cuanto a su capacidad para colonizar nematodos en estado de quistes, hembras o huevos y sobrevivir saprofiticamente en el suelo. La presencia natural de los hongos capaces de infectar estados del ciclo de vida de *Meloidogyne* ha sido registrada por muchos investigadores, destacándose entre éstos *Paecilomyces lilacinus* (Thom), Samsom, parasitando hembras y huevos (Jatala *et al.*, 1980; Jatala, 1985).

De todos los estados del ciclo de vida de *Meloidogyne*, los huevos se consideran los más vulnerables al parasitismo y depredación. *P. lilacinus*, tiene la capacidad de infectar los huevos destruyendo el embrión y colonizar las hembras en desarrollo causándoles la muerte (Esser and El-Gholl, 1993).

Otros hongos registrados como parásitos de huevos de *Meloidogyne* son *Verticillium chlamydosporium*, *Dactylella oviparasitica* y *Monacrosporium ellisoporum* (Stirling, 1991). *Cylindrocarpon destructans*, ha sido observado en quistes y huevos en muchas regiones del mundo (Morgan-Jones and Rodríguez -Kabana, 1986).

*Verticillium spp.* ha sido registrado como uno de los hongos más importantes por atacar huevos, hembras y quistes de diferentes especies de *Meloidogyne*, *Heterodera* y *Globodera*. Observaciones realizadas al microscopio electrónico muestran que el hongo causa desintegración de la capa vitelina del huevo y disolución parcial de la quitina y la capa lipídica posiblemente debido a la actividad de las exoenzimas. También se cree que *V. chlamydosporium* puede producir una toxina porque el huevo no eclosiona cuando el hongo está cerca (Chen *et al.*, 1996).

*Paecilomyces lilacinus* es uno de los hongos que más frecuentemente se ha encontrado atacando huevos y hembras de *Meloidogyne*. Su comportamiento saprofitico hace que se pueda aislar en diferentes sustratos y ambientes. Ha sido aislado de raíces de plantas y observado creciendo en la epidermis y corteza de las raíces (Rodríguez Kabana, 1991).

*Dactylella oviparasitica* fue el primer parásito de huevos en ser descrito y se cree que es parcialmente responsable de la declinación de la población de *Meloidogyne* en huertos de durazno en California. Produce apresorios sobre la superficie del huevo sugiriendo que estas estructuras penetran al huevo, y también hay indicios de producción de quitinasa que destruye el huevo.

*Catenaria auxiliaris* y *Nemathophtora gynophila* han sido frecuentemente asociados con especies de *Heterodera* en Europa, USA y Australia. La infección de estos hongos empieza cuando la zoospora se ubica en la hembra inmadura expuesta en la raíz. Con *C. auxiliaris* el contenido del nematodos jóvenes es destruido y reemplazado por el esporangio

## Bacterias

El género *Pasteuria* incluye un grupo de bacterias que forman endosporas y un micelio poco común; son endoparásitos en el cuerpo de algunos invertebrados incluyendo los nematodos. *P. penetrans* es la especie que ha sido identificada como parásito de *Meloidogyne* y *P. thornei* como parásito de *Pratylenchus spp.* (Ciancio, 1995; Dickson and Oostendorp, 1990).

La bacteria primero se asocia con el segundo estado juvenil de *Meloidogyne*, cuando éste se encuentra migrando en el suelo, entonces la espora se adhiere a la cutícula, el nematodo puede entrar a la raíz y ocho días después ocurre la infección por germinación de las esporas y penetración a través de la cutícula ( Spiegel *et al.*, 1996).

La bacteria es un parásito obligado, pero puede vivir en suelo seco por un tiempo largo sin que su viabilidad se pierda considerablemente, también puede soportar el calor. Se menciona como limitante para ser usado como agente de control biológico su parasitismo obligado porque es incapaz de reproducirse en ausencia de su hospedero.

### Nematodos

La capacidad de algunos nematodos para alimentarse de otros nematodos ha sido ampliamente estudiado. Los depredadores están incluidos en cuatro grupos:

Los **Mononchida** que tienen un aparato bucal equipado con un gran diente dorsal y algunas veces con un pequeño diente ventral. La presa puede ser engullida o la cutícula rota para luego por succión remover el contenido celular.

Los **Dorylaimida** son más grandes que su presa y poseen un odontoestilete usado para perforar o para inyectar enzimas y succionar el contenido predigerido. Se alimentan de nematodos y huevos y de gran variedad de animales pequeños y otros invertebrados.

Los **Aphelenchida** poseen estomatoestilete con el que inyectan toxinas a la presa causando parálisis. Se pueden cultivar en condiciones de laboratorio.

Los **Diplogasterida** tienen un diente grande que les permite depredar otro nematodo.

Algunos ejemplos de nematodos depredadores son *Panagrellus redivivus*, *Prionchulus punctatus*, *Mononchus aquaticus* y *Lotonchus monhystera*, sin embargo, el papel de estas especies en la reducción de nematodos fitoparásitos no ha sido muy bien establecido. Además de los nematodos depredadores existen otros artrópodos y ácaros de suelo que pueden ejercer reducción de las poblaciones de nematodos fitoparásitos.

### Organismos con Metabolitos Inhibidores

Algunos microorganismos están en capacidad de producir compuestos o metabolitos tóxicos a nematodos. *Clostridium butyricum* es una bacteria capaz de producir ácidos (fórmico, acético, propiónico y butírico) tóxicos a nematodos (Stirling, 1991). *Streptomyces avermitilis*, actinomicete produce compuestos llamados "avermectinas" que tienen actividad nematicida.

Algunos hongos como *Penicillium* spp., *Gliocladium* sp., *Trichoderma* spp. pueden producir sustancias tóxicas como antibióticos, fungistáticos o nematicidas que pueden inhibir la eclosión de huevos (Stirling, 1991). El nematodo del nudo radical *Meloidogyne* spp. Es uno de los más importantes en la agricultura mundial por su amplia gama de hospederos, su distribución y capacidad de adaptación a diferentes ambientes y climas y su capacidad de multiplicación. En Colombia en los últimos años, se han venido realizando trabajos encaminados a utilizar agentes biológicos para el manejo de *Meloidogyne* principalmente en condiciones de laboratorio e invernadero y en casos muy esporádicos en campo.

Este resumen presenta algunos resultados de trabajos realizados en Colombia con el objetivo de aislar y evaluar organismos fungosos como posibles agentes de control biológico de *Meloidogyne*.

### Aislamiento de Hongos

De muestras de suelo y raíces colectadas en diferentes cultivos afectados se extrajeron hembras, masas de huevos y estados juveniles de *Meloidogyne* que se utilizaron para realizar los aislamientos de los hongos.

Los diferentes estados del nematodo se trataron con sulfato de estreptomycin (150 mg/ml), se lavaron muy bien con agua destilada estéril y luego se sembraron en agar -agua, utilizando un promedio de 10 individuos por plato. Cada colonia que creció en el medio se codificó, purificó y se conservó en PDA para los estudios posteriores. El suelo y las raíces procedentes de plantas infectadas con *Meloidogyne* se utilizaron para aislar hongos en PDA, mediante diluciones de suelo.

Los hongos más comunes fueron *Penicillium* sp., *Fusarium* spp., *F. solani*, *Verticillium* spp., *V. lecanii*, *Paecilomyces lilacinus*, *Gliocladium* sp., *Trichoderma* sp., *Beauveria bassiana*, *Cladosporium* spp., y algunos no identificados. Estos hongos han sido identificados por muchos investigadores quienes los han aislado de *Meloidogyne* en diferentes estados (huevos y hembras) o del suelo y raíces donde el nematodo estaba presente (Styles *et al.*, 1983; Dos Santos *et al.*, 1992; Cardona y Leguizamón, 1997).

Para la evaluación como posibles biocontroladores de *Meloidogyne*, se seleccionaron aquellos microorganismos que según la literatura han sido usados en control biológico de nematodos y/o porque se observaron creciendo directamente de las masas de huevos o hembras y/o estaban causando algún daño a los huevos.

### **Multiplicación de los Hongos**

Los hongos seleccionados se multiplicaron en botellas de vidrio utilizando como medio de cultivo arroz precocido autoclavado por 20 minutos hasta alcanzar 15 PSI. En cámara de flujo laminar se hizo la siembra del hongo utilizando una porción del cultivo esporulado y agitando suavemente para lograr la diseminación de las esporas. Antes de la inoculación de los microorganismos se tomó un gramo de medio más hongo se le agregó 50 ml de agua destilada y con la ayuda de la cámara de Neubauer se cuantificó en número de conidias por mililitro.

### **Evaluación de los Hongos**

Se realizaron bioensayos en condiciones de invernadero, utilizando hospederas susceptibles de *Meloidogyne*, como guayabo, tomate, soya y estropajo. Las plantas susceptibles se sembraron en macetas de plástico de un kilo de capacidad, en suelo tratado con Dazomet y cuando alcanzaron de 5 a 10 cm de altura, fueron inoculadas con 20 gramos del hongo a evaluar, el cual se depositó en la zona de mayor concentración de raíces abriendo tres orificios equidistantes alrededor de la planta.

Diez días después se inoculó a cada planta una suspensión que contenía aproximadamente 10000 huevos de la población de *Meloidogyne* depositándola con la ayuda de una pipeta en la zona de mayor concentración de raíces. Los hongos y el nematodo fueron inoculados independientemente para conocer su efecto en el desarrollo de las plantas, simultáneamente se utilizaron plantas que no recibieron tratamiento que se consideraron plantas testigo.

Para evaluar el efecto de los hongos sobre el nematodo se midió a los 60 días de la inoculación, el número de agallas por planta, la población de nematodos en 100 cm cúbicos de suelo y un gramo de raíces secas, el número de huevos por gramo de raíces secas y el porcentaje de eclosión (Dube y Smart, 1987).

Adicionalmente, para realizar un análisis comparativo del desarrollo entre las plantas tratadas con los hongos y el nematodo y las no tratadas, se registró la altura de las plantas, número de hojas, peso fresco y seco del follaje y de las raíces.

Los resultados obtenidos en estos estudios preliminares muestran que ninguno de los organismos fungosos evaluados fue patogénico a las hospederas utilizadas en los diferentes bioensayos, por el contrario, los hongos ejercieron un efecto estimulante sobre las plantas inoculadas las cuales mostraron mayor desarrollo foliar al ser comparadas con las plantas testigo o las tratadas con el nematodo (Garzón y Varón de Agudelo, 1995; Mañuzca y Varón de Agudelo, 1997).

Algunos investigadores afirman que ciertos organismos fungosos colonizan las raíces de las plantas favoreciendo en alguna forma la toma de nutrientes, lo que permite un mejor desarrollo y en otros casos inducen resistencia impidiendo el ataque de patógenos y parásitos.

Igualmente, se encontró que todas las hospederas utilizadas en los bioensayos fueron altamente susceptibles a *Meloidogyne*, especialmente el estropajo (*Luffa cylindrica*) y el guayabo. Las plantas inoculadas únicamente con el nematodo presentaron menor desarrollo foliar, deterioro y necrosis de raíces (Garzón y Varón de Agudelo, 1995; Mañuzca y Varón de Agudelo, 1997).

Los hongos *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces* sp., *Gliocladium* sp., *Trichoderma* spp. y *Beauveria bassiana*, redujeron significativamente el número de agallas en valores que oscilaron entre 15 y 69 por ciento, igualmente los huevos tuvieron un porcentaje de eclosión menor, Además las plantas inoculadas con estos microorganismos presentaron menor número de huevos y nematodos en raíces y suelo (Garzón y Varón de Agudelo, 1995; Giraldo y otros, 1996; Mañuzca y Varón de Agudelo, 1997).

Resultados similares han sido obtenidos por varios investigadores cuando han trabajado con *Paecilomyces lilacinus*, *Verticillium chlamyosporium* y *Trichoderma harzianum* (Candenado-Lay et al., 1982; Rodriguez-Kabana, 1991 ; Giraldo et al., 1996).

Estudios realizados en un cultivo de guayabo en condiciones de campo, para medir el efecto de varios tratamientos sobre las población de nematodos especialmente de *Meloidogyne*, mostraron que *P. lilacinus* y *B. bassiana*, redujeron la población de nematodos en raíces a 27 y 38 por ciento respectivamente. De otra parte, las plantas tratadas con *B. bassiana* tuvieron mayor producción que las plantas tratadas con el nematicida comercial Carbofuran.

### Consideraciones Finales

Estos estudios aunque muy preliminares están indicando que existe gran variedad de organismos fungosos que pueden estar contribuyendo en una u otra forma a mantener un equilibrio biológico en las poblaciones del nematodo del nudo radical *Meloidogyne* sp.

Igualmente, que los microorganismos más eficientes pueden ser introducidos en un programa de manejo integrado en cultivos altamente susceptibles al nematodo. Sin embargo, se requiere realizar más estudios tendientes a determinar el modo de acción de estos hongos, ya sea como antagonistas, quitinolíticos, verdaderos parásitos o productores de metabolitos tóxicos.

De igual manera, para hacer realidad su aplicación en el campo es necesario conocer las dosis, forma y frecuencia de aplicación, métodos de producción masiva, así, como los factores biológicos y físicos que intervienen en los procesos de establecimiento y supervivencia de los hongos en el suelo.

## Bibliografía

- Candenado-Lay, E.; Lara, J.; Jatala, P.; González, F. 1982. Evaluación preliminar del comportamiento de *Paecilomyces lilacinus* como controlador biológico del nematodo *Meloidogyne incognita* en tomate. *Nematropica* 12: 154.
- Cardona, N.; Leguizamón, J. 1997. Aislamiento y patogenicidad de hongos y bacterias al nematodo del nudo radical del café *Meloidogyne* spp. Goeldi. *Fitopatología Colombiana* 21(1):39-52.
- Chen, S.; Dickson, D.; Mitchell. 1996. Patogenicity of fungi to eggs of *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology* 28(2): 148-158.
- Ciancio, A. 1995. Phenotypic adaptations in *Pasteuria* spp. Nematode parasites. *Journal of Nematology* 27(3): 328-338.
- Dickson, D.; Oostendorp, M. 1990. Biological control with *Pasteuria* sp. *Nematology FLA. Dep. Agri. Circular N°175.. 4p.*
- Dos Santos, M.; Ferráz, S.; Muchovej, J. 1992. Evaluation of 20 species of fungi from Brazil for biocontrol of *Meloidogyne incognita* race 3. *Nematropica* 22 (2):183-192.
- Dube, B.; Smart, C. 1987. Biological control of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Pasteuria penetrans*. *Journal of Nematology*. 19(2): 222-227.
- Esser, R.; El-Gholl, N. 1993. *Paecilomyces lilacinus* a fungus that parasite nematode eggs. *Nematology Circular N°203. 12p.*
- Garzón, J.; Varón de Agudelo, F. 1995. Estudios de biocontrol de *Meloidogyne* spp. Goeldi con organismos fungosos. Tesis de Grado. Ingeniero Agrónomo Universidad Nacional Sede Palmira. 73p.
- Giraldo, M.; Leguizamón, J.; Chavez, B. 1996. Control biológico de *Meloidogyne* spp. Goeldi, con el hongo *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samsom, en plantas de estropajo (*Luffa cylindrica* L), *Fitopatología Colombiana* 20(1): 20-26.
- Giraldo, M.; Leguizamón, J. E.; Chavez, B. 1998. Evaluación de *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson para el control de *Meloidogyne* spp. Gaeldi en almacigos de café (*Coffea arabica* L.) variedad caturra. *Fitopatología Colombiana* 21(2): 104-117.
- Jatala, P.; Kaltembach, R.; Bocangel, M.; Davaux A. J.; Campos, R. 1980. Field application of *Paecilomyces lilacinus* for controlling *Meloidogyne incognita* on potatoes. *Journal of Nematology* 12: 226-227.
- Jatala, P. 1985. Biological control of nematodes. In: Sasser, J. N. and Carter, C. C. (eds). An advanced treatise on *Meloidogyne*. Vol. 1. Biology and control, North Carolina State University Graphics, Raleigh. pp. 303 -308.
- Mañuzca, A.; Varón de Agudelo, F. 1997. Identificación y patogenicidad de hongos como posibles agentes de control biológico de *Meloidogyne* spp. Tesis de Grado. Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional Sede Palmira. 73 p.
- Mosquera, A.; Murcia, N.; Varón de Agudelo, F. 1997. Efecto de extractos vegetales y hongos patógenos en la población de nematodos en guayabo (*Psidium guajava* L). *Fitopatología Colombiana* 21(1): 25-30.
- Rodríguez-Kabana, R. 1991. Control biológico de nematodos parásitos de plantas. *Nematropica* 21(1): 111-120.
- Spiegel, Y.; Mor, M.; Sharon, E. 1996. Attachment of *Pasteuria penetrans* endospores to the surface of *Meloidogyne javanica* second - stage juveniles. *Journal of Nematology* 28(3): 328-334.
- Stirling, G. R 1991. Biological control of plant parasitic nematodes. Progress, problems and Prospects. CAB International. Australia. 282 p.
- Styles, C.; Glave, D.; Noel, G.; Pataky, J. 1993. Reproduction of *Heterodera glycines* on soybean in nonsterile soil infested with cyst colonizing fungi. *Nematropica* 23(1): 81-88.