



Efecto de dos especies nativas de *Trichoderma* sobre huevos y juveniles de *Meloidogyne* sp. en condiciones de laboratorio

Effect of two native species of *Trichoderma* on eggs and juveniles of *Meloidogyne* sp. under laboratory conditions

Olinda del Castillo-Algarate¹, Carlos Collantes-Arana¹, Guillermo Cox-Trigoso¹ y Juan Wilson-Krugg².

¹Escuela Académico Profesional de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo – Perú. ²Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo.

RESUMEN

Se determinó el efecto de dos especies nativas de *Trichoderma* sobre huevos y juveniles 2 (J2) de *Meloidogyne* sp. en condiciones de laboratorio. Para evaluar el efecto sobre J2 se realizaron seis tratamientos: T1: *Lycopersicon esculentum* sin *Meloidogyne*, T2: *L. esculentum* con *Meloidogyne*, T3: *L. esculentum* con *Meloidogyne* y Oxamyl, T4: *L. esculentum* con *Meloidogyne* y *Pochonia chlamydosporia*, T5: *L. esculentum* con *Meloidogyne* y *Trichoderma* sp1 nativa, T6: *L. esculentum* con *Meloidogyne* y *Trichoderma* sp2 nativa, evaluándose el porcentaje de peso radicular de *L. esculentum*, la cantidad de nódulos radiculares producidos por *Meloidogyne* y el porcentaje de J2 de *Meloidogyne*. Se sembró *L. esculentum* en 30 bolsas de almácigo las cuales contenían sustrato en una proporción (2:1), distribuidas en 5 bolsas por tratamiento. Luego se inoculó, a excepción del control negativo (T1), 15000 huevos de *Meloidogyne* sp. por bolsa a todos los tratamientos. Posteriormente, a los 5 días de siembra se inoculó una suspensión de 10⁶ conidias/mL de *Trichoderma* sp1(T5), *Trichoderma* sp2 (T6) y *P. chlamydosporia* (T4) respectivamente, realizándose posteriormente 5 inoculaciones más de cada hongo con un intervalo de 10 días entre cada inoculación; mientras que al T3 se le inoculó por única vez 900 ppm de Oxamyl y al T1 solo se le agregó agua, todos los tratamientos fueron incubados a temperatura ambiente durante 1 mes y 15 días. Para determinar el efecto de *Trichoderma* sp.1 y *Trichoderma* sp.2 sobre huevos de *Meloidogyne* se inoculó 2 mL de cada hongo y oxamyl, a una concentración de 10⁶ conidias/mL y 900 ppm respectivamente, en pocillos que contenían 1 mL de agua destilada estéril con aprox. 100 huevos de *Meloidogyne* sp. dejando se incubar por 72 horas, realizándose cuatro repeticiones por tratamiento. Se encontró que *Trichoderma* sp 1 y *Trichoderma* sp 2 destruyen los huevos del parásito. Asimismo, las plantas de *L. esculentum* inoculadas con *Trichoderma* sp1 nativa presentaron el mayor porcentaje de peso radicular, así como el menor porcentaje de nódulos en raíz, mientras que ambas especies nativas de *Trichoderma*, disminuyen significativamente la cantidad de J2. Se concluye que *Trichoderma* sp.1 y *Trichoderma* sp. 2 disminuyen significativamente tanto la población de huevos como J2 de *Meloidogyne* sp. en condiciones de laboratorio, y que *Trichoderma* sp. 1 es el que ejerce el mayor efecto nematófago.

Palabras clave: *Trichoderma*, *Lycopersicon esculentum*, *Meloidogyne*, *Pochonia*, Oxamyl.

ABSTRACT

The effect of two native species of *Trichoderma* about 2 eggs and juveniles (J2) determined *Meloidogyne* sp. under laboratory conditions were determined. For this, to evaluate the effect on J2 six treatments were established: T1: *Lycopersicon esculentum* without *Meloidogyne*, T2: *Meloidogyne* with *L. esculentum*, T3: *L. esculentum* with *Meloidogyne* and Oxamyl, T4: *L. esculentum* with *Meloidogyne* and *Pochonia chlamydosporia*, T5: *L. esculentum* with *Trichoderma* sp1 native, T6: *L. esculentum* with *Meloidogyne* and *Trichoderma* sp2 native, assessing the percentage of root weight of *L. esculentum*, the amount of nodules produced by *Meloidogyne* root and percent J2 *Meloidogyne*. *L. esculentum* were seeded in 30 seedling bags which contained substrate in a ratio (2:1) in 5 bags per treatment. For this, it was inoculated, except the negative control (T1), 15000 *Meloidogyne* sp. per bag to all treatments. Subsequently, at 5 days of seeding a suspension of 10⁶ conidia / ml *Trichoderma* sp1 (T5), *Trichoderma* sp2 (T6) and *P. chlamydosporia* (T4) respectively was inoculated 5 inoculations performed subsequently each fungus over the range of 10 days between each inoculation; while T3

was inoculated at one time 900 ppm of Oxamyl and T1 will be only added water, all treatments were incubated at room temperature for 1 month and 15 days. To determine the effect of *Trichoderma* sp.1 and *Trichoderma* sp.2 on *Meloidogyne* sp. Eggs, about 2 mL was inoculated each fungus and oxamyl, at a concentration of 106 conidia/mL and 900 ppm, respectively, in wells containing 1 mL of distilled water sterile approx. 100 *Meloidogyne* sp. leaving it to incubate for 72 hours, performing four replicates per treatment. We found that *Trichoderma* sp.1 and *Trichoderma* sp.2 destroy parasite eggs. Also *L. esculentum* plants inoculated with *Trichoderma* sp1 native had the highest percentage of root weight as well as the lowest percentage of root nodules, while both native species of *Trichoderma*, and significantly decrease the amount of J2. We conclude that *Trichoderma* sp.1 and *Trichoderma* sp. 2 significantly decrease the population of both eggs and J2 of *Meloidogyne* sp. under laboratory conditions, and *Trichoderma* sp. 1 is the nematophagous exerted the greatest effect.

Keywords: *Trichoderma*, *Lycopersicon esculentum*, *Meloidogyne*, *Pochonia*, Oxamyl.

INTRODUCCIÓN

El tomate es un cultivo de alto riesgo fitosanitario en países tropicales, especialmente por los daños causados por enfermedades y plagas que afectan desfavorablemente los resultados productivos y económicos del cultivo. Los nemátodos fitoparásitos se encuentran en un lugar cimero en este grupo de patógenos a escala mundial, siendo bien reconocidas las pérdidas ocasionadas en el cultivo del tomate en el cual provocan pérdidas aproximadas del 12 % de la producción¹.

Seis especies de *Meloidogyne* son consideradas de importancia global en el cultivo de tomate: *Meloidogyne arenaria*, *M. chitwoodi*, *M. fallax*, *M. hapla*, *M. incognita* y *M. javanica*; las tres primeras son importantes en climas templados y las restantes en climas tropicales y subtropicales². Estos parásitos dañan a las plantas al debilitar las puntas de la raíz y al inhibir su desarrollo o estimular una formación radical excesiva, pero principalmente al inducir la formación de hinchamiento de las raíces, las cuales privan a las plantas de sus nutrientes y del agua: el nematodo estimula a las células para que crezcan y licua parte de su contenido que succiona a través de su estilete³; en consecuencia, las raíces se hinchan en la zona de invasión y desarrollan las agallas típicas del nudo de la raíz, las cuales tienen un diámetro 2 o 3 veces mayor al de las raíces sanas^{2,4}.

El control de nematodos se realiza usualmente por la combinación de varias estrategias de manejo: el control cultural utiliza a los barbechos, las inundaciones, aplicaciones de abonos orgánicos, plantas trampa y de cobertura, rotación de cultivos, etc.; y el control físico, a la solarización, vapor de agua, encharcamiento, etc.; estos métodos reducen notoriamente las poblaciones de *Meloidogyne* sp. y pueden ser usados de manera individual o combinada, pero son poco usados por los agricultores por su alta inversión y largos periodos de aplicación, que reduce el tiempo de producción agrícola⁵.

Actualmente, el control químico es una de las medidas que más se utiliza para minimizar los daños causados por *Meloidogyne* sp., pues es indudable su eficacia; sin embargo, la principal limitación es que su aplicación modifica la microflora y microfauna del suelo, alterando las cadenas tróficas, eliminando los microorganismos antagonistas de los nematodos fitoparásitos⁶.

Entre los agentes microbianos para el control de nematodos formadores de agallas están los hongos nematófagos habitantes del suelo; se les encuentra en diferentes tipos de sustratos y son capaces de sobrevivir en condiciones climáticas o nutricionales extremas en diferentes regiones geográficas del mundo⁷. Su abundancia varía de 1,8-50 propágulos por gramo de suelo, lo cual está relacionado a la cantidad de materia orgánica, contenido de agua, tipo de suelo, temperatura y presencia de nematodos hospederos⁷. Los hongos del género *Trichoderma*, en particular *T. harzianum*, son usados para el control de enfermedades debido a que producen metabolitos que inhiben el crecimiento de otros hongos y a su alto nivel de competencia por el sustrato y el parasitismo⁸. Recientemente, se han registrado trabajos sobre el uso potencial de *Trichoderma* sp. en el control de *Meloidogyne* sp.⁹.

Considerando que: (i) las especies de *Trichoderma* sp. son muy usadas en el control biológico de hongos fitopatógenos, especialmente de aquellos que atacan a partes subterráneas de los vegetales ejerciendo un efecto positivo sobre la vigorosidad y sistema radicular de las plantas, aumentando los mecanismos de defensa de las plantas, (ii) se ha demostrado que *Trichoderma* sp. también puede controlar nematodos, haciendo de esta manera que los costos del tratamiento de sus cosechas disminuyan ya que necesitarían aplicar un solo tipo de controlador biológico y (iii) se tiene conocimiento que el éxito del control biológico radica en obtener y utilizar microorganismos que sean aislados en los lugares nativos, se propuso la presente investigación que estuvo orientada a

determinar el efecto de dos especies nativas de *Trichoderma* sobre huevos y juveniles 2 de *Meloidogyne* sp., en condiciones de laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material de estudio

- Cultivos puros de *Trichoderma* nativos aisladas del distrito de Virú (La Libertad, Perú) denominados deliberadamente: *Trichoderma* sp1 y *Trichoderma* sp2.
- Cultivo de *Pochonia chlamydosporia* proporcionado por el Laboratorio de Fitopatología del Departamento Académico de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo (Trujillo, Perú).
- Huevos de *Meloidogyne* sp. extraídos de raíces de *Olea europea* “Olivo”.
- Treinta plantas de *Lycopersicon esculentum* var. Río Grande “Tomate”.
- Nematicida Nemat® 240 SL, cuyo principio activo es Oxamyl.

El diseño experimental

Se efectuaron seis tratamientos, de los cuales uno fue control negativo, tres controles positivos y dos experimentales, todos ellos con cinco repeticiones.

Efecto de *Trichoderma* nativos sobre J2 de *Meloidogyne* sp.

Obtención de cultivo joven de *Trichoderma* nativa y de *Pochonia chlamydosporia*²¹.

A partir de cada cultivo puro de *Trichoderma* sp 1 y de *Trichoderma* sp 2 nativas, y de *P. chlamydosporia* se procedió a resembrar por puntura, en tubos de ensayo conteniendo Agar Papa Dextrosa (APD), los cuales fueron incubados a 25°C durante 5 días, obteniéndose así un cultivo joven de cada hongo.

Propagación de las especies nativas de *Trichoderma* y de *P. chlamydosporia*.

A partir de los cultivos jóvenes de *Trichoderma* sp1 y de *Trichoderma* sp2 así como de *P. chlamydosporia* se realizaron siembras por suspensión en frascos planos de vidrio conteniendo Agar Papa Dextrosa (PDA), los cuales fueron incubados a 25 °C durante 7 días. Posteriormente, se obtuvo una suspensión de conidias a partir de estos cultivos, lo que se inoculó en bolsas de polipropileno conteniendo arroz, las cuales fueron incubadas a temperatura ambiente por dos semanas.

Recolección, esterilización y preparación del sustrato.

El sustrato estuvo conformado por dos partes de suelo y una parte de humus de lombriz de tierra (2:1). Se recolectó aproximadamente 60 Kg de suelo agrícola del campus de la Universidad Nacional de Trujillo que fue trasladado al laboratorio de Fitopatología, donde fue tamizado y lavado con agua de caño, y posteriormente esterilizado en autoclave. El humus no se sometió a esterilización. La preparación del sustrato consistió en agregar 2 Kg de suelo y 1 Kg de humus en cada bolsa de almácigo, llenándose 30 bolsas, que fueron distribuidas en 5 bolsas por tratamiento.

Tratamiento superficial y siembra de semillas de *L. esculentum* var. Río Grande Tomate.

Las semillas se lavaron con agua destilada estéril para eliminar los productos químicos de la certificación, luego se desinfectaron sumergiéndolas en alcohol al 70% durante tres minutos y se lavaron 10 veces consecutivas con agua destilada estéril; por último, se las dejó secar en condiciones de esterilidad. Se determinó el % de germinación de las semillas para posteriormente sembrar por maceta dos semillas de *L. esculentum* var Río Grande, a una profundidad de 1 cm.

Obtención de huevos de *Meloidogyne* sp.

Las masas de huevos fueron extraídas de raíces de *Olea europea* que se encontraban infectadas con *Meloidogyne* sp. Las raíces fueron lavadas con agua de caño y los nódulos presentes fueron cortados finamente. Luego se colocaron en frascos que contenían una solución de hipoclorito de sodio al 0.5%, sometidos a agitación por 5 minutos aproximadamente. Luego se tamizaron y se determinó el número de huevos de *Meloidogyne* sp., estandarizándose hasta obtener una concentración de 5,000 huevos de nemátodos por kilogramo de sustrato³⁸.

Inoculación de *Meloidogyne* sp.

Inmediatamente sembradas las semillas de *L. esculentum*, se procedió a la inoculación de la dosis estandarizada de huevos de *Meloidogyne* sp., Esto se realizó para todos los tratamientos a excepción del grupo control negativo, que no se inoculó con *Meloidogyne* sp.

Estandarización del inoculo de conidias de *Trichoderma* sp1, *Trichoderma* sp2 y *P. chlamydosporia*.

Se agregó 10 mL de agua destilada estéril y 1 gr del arroz colonizado con el hongo respectivo a un matraz estéril, agitándose moderadamente a fin de liberar las conidias del hongo, determinándose la concentración de la suspensión resultante, mediante recuento en la cámara de Neubauer, para posteriormente estandarizar dicha suspensión a la concentración de 10^6 conidias/mL. Este procedimiento se empleó para cada uno de los hongos a evaluar.

Inoculación de *Trichoderma* sp1 y de *Trichoderma* sp 2 nativas y de *P. chlamydosporia*.

A los 5 días de sembrada la semilla de *L. esculentum* se inoculó una suspensión de 10^6 conidias/ml a cada tratamiento a evaluar. Para cada tratamiento se realizó 5 inoculaciones más del hongo respectivo, con un intervalo de 10 días entre cada inoculación. Las macetas se incubaron a temperatura ambiente y en fotoperiodo.

Preparación e inoculación de Oxamyl.

Se agregó 2 mL del Nematicida a un matraz conteniendo 98 mL de agua destilada, cantidad necesaria para lograr una concentración de 900 ppm. A los 5 días de la inoculación de *Meloidogyne* sp. y siembra de *L. esculentum* se realizó la primera y única inoculación del Nematicida.

Lectura

Se realizó a los dos meses de inoculada la suspensión de 5,000 huevos de nemátodos por kilogramo de sustrato. Para esto se procedió a tomar una muestra de 100 gr de sustrato de cada tratamiento y se determinó la cantidad de juveniles 2 de *Meloidogyne* sp. en el sustrato inoculado. Cada sustrato se pasó por tamices de 145 y 38 μ m, de mayor a menor tamaño respectivamente. También se procedió a extraer las plantas pertenecientes a cada tratamiento y se realizó el conteo de nodulaciones y peso de las raíces de *L. esculentum*, expresándose estos resultados como porcentaje promedio respectivamente. Cada tratamiento constó de 5 repeticiones; y tanto los tratamientos inoculados y no inoculados con *Meloidogyne* sp. fueron sometidos a la misma evaluación,

Efecto de *Trichoderma* sp.1 y de *Trichoderma* sp.2 nativas sobre huevos de *Meloidogyne* sp.

Preparación de las suspensiones de los tratamientos.

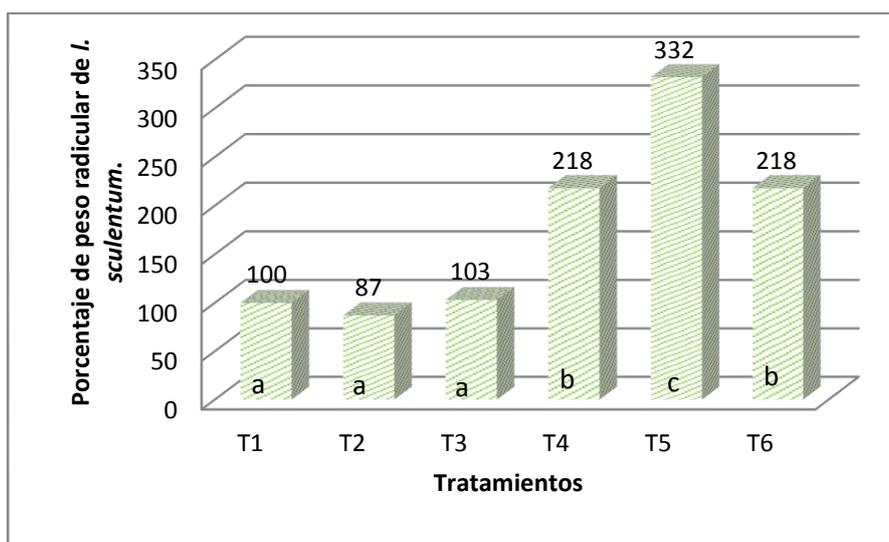
A partir del cultivo puro de cada hongo se preparó una suspensión de 10^6 conidios/mL y una solución de 900 ppm de oxamyl, colocándose 2mL de cada una en pocillos que contenían 1mL se suspensión de agua destilada estéril con aproximadamente 100 huevos de *Meloidogyne* sp, cada tratamiento constó de 4 repeticiones.

Lectura y análisis de datos

La evaluación se realizó a las 24, 48 y 72 horas después de la inoculación, realizándose observaciones al microscopio a 40x. Los datos fueron, procesados mediante la prueba de Análisis de Varianza Unidireccional (ANOVA), utilizando el paquete estadístico SPSS v.15 para determinar si existía diferencia significativa entre los tratamientos realizados.

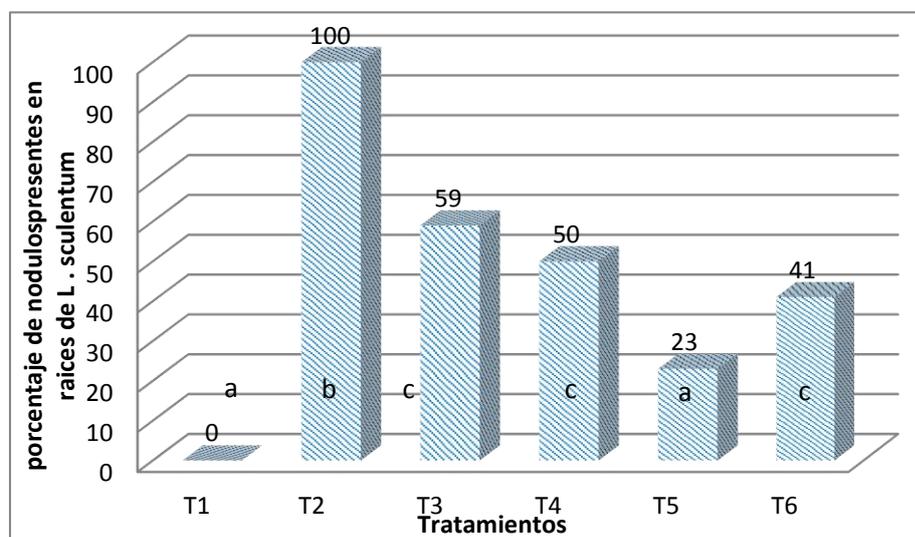
RESULTADOS

Se encontró que el porcentaje de peso radicular fue significativamente mayor en el T5: *Meloidogyne* + *Trichoderma* sp.1 + (Fig. 1), que el porcentaje de nódulos en las raíces de tomate fue mayor en el T2: sólo *Meloidogyne* y menor en el T5 (Fig. 2) al igual que el porcentaje de J2 (Fig. 3).



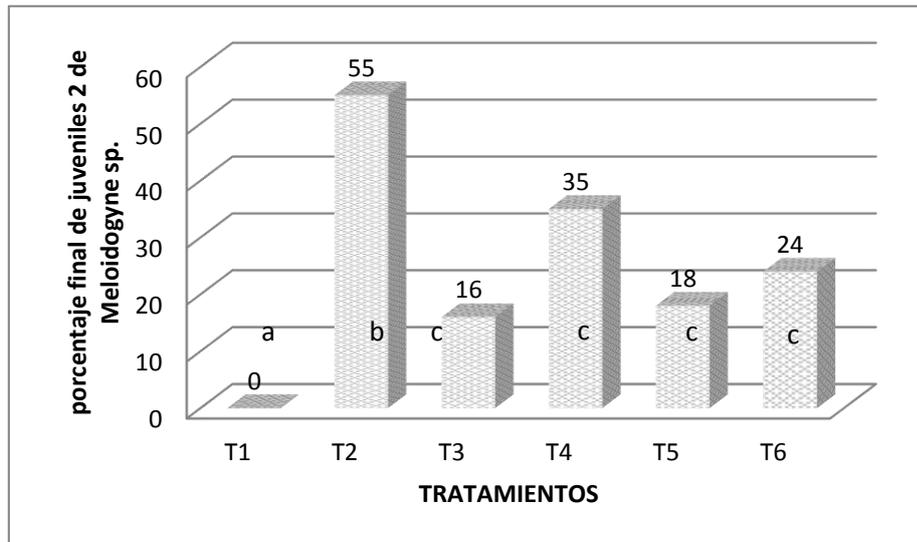
a: $p > 0.05$ b: $p > 0.05$ c: $p > 0.05$ a, b, c: $p < 0.05$

Fig. 1. Porcentaje de peso radicular de las plantas de *Lycopersicon esculentum* var. Río Grande infectadas con *Meloidogyne* sp. en seis tratamientos, después de dos meses de evaluación con *Trichoderma* sp.1 y de *Trichoderma* sp.2 nativas: T1: sin *Meloidogyne* sp., T2: con *Meloidogyne* sp., T3: con *Meloidogyne* sp. y Oxamyl, T4: con *Meloidogyne* sp. y *P. chlamydosporia*, T5: con *Meloidogyne* sp. y *Trichoderma* sp 1 nativa y T6: con *Meloidogyne* y *Trichoderma* sp 2 nativa.



a: $p > 0.05$ b: $p > 0.05$ c: $p > 0.05$ a, b, c: $p < 0.05$

Fig. 2. Porcentaje de nódulos presentes en raíces de las plantas de *Lycopersicon esculentum* var. Río Grande infectadas con *Meloidogyne* sp. en 6 tratamientos, después de 2 meses de evaluación con *Trichoderma* sp 1 y de *Trichoderma* sp 2 nativas: T1: sin *Meloidogyne* sp., T2: con *Meloidogyne* sp., T3: con *Meloidogyne* sp. y Oxamyl, T4: con *Meloidogyne* sp. y *P. chlamydosporia*, T5: con *Meloidogyne* sp. y *Trichoderma* sp 1 nativa y T6: con *Meloidogyne* y *Trichoderma* sp 2 nativa.



a: $p > 0.05$ b: $p > 0.05$ c: $p > 0.05$ a, b, c: $p < 0.05$

Fig. 3. Porcentaje final de juveniles 2 de *Meloidogyne* sp. en suelo, en 6 tratamientos, después de 2 meses de evaluación con *Trichoderma* sp 1 y de *Trichoderma* sp 2 nativas. T1: sin *Meloidogyne* sp., T2: con *Meloidogyne* sp., T3: con *Meloidogyne* sp. y Oxamyl, T4: con *Meloidogyne* sp. y *P. chlamydosporia*, T5: con *Meloidogyne* sp. y *Trichoderma* sp 1 nativa y T6: con *Meloidogyne* y *Trichoderma* sp 2 nativa.

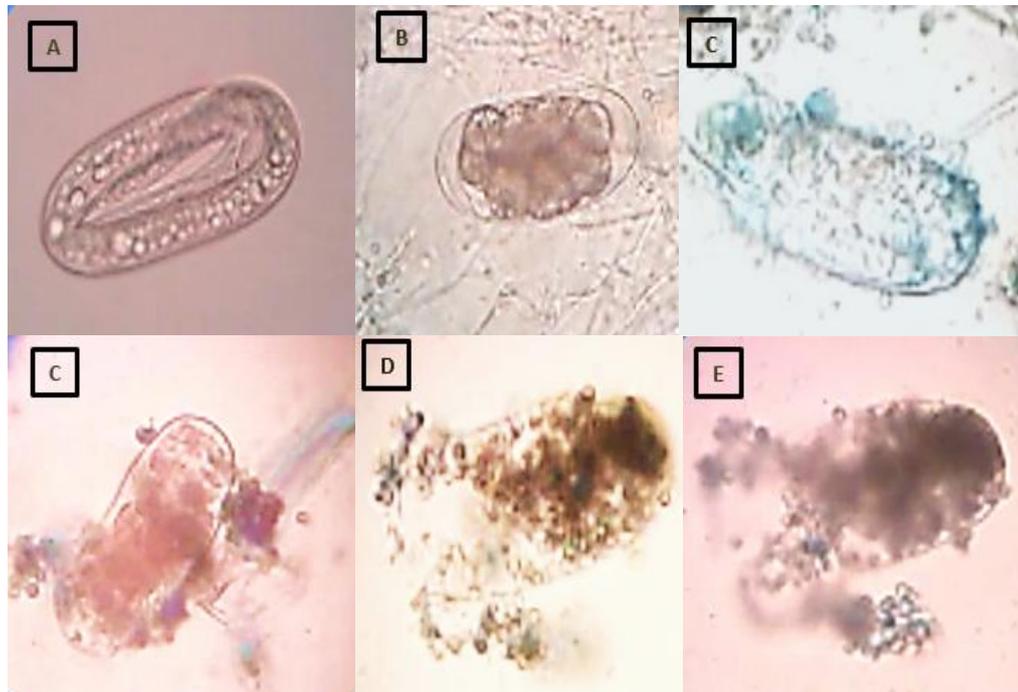


Fig. 4. Observación microscópica (40x) de la diferencia de huevos de *Meloidogyne* sp. no parasitados y parasitados con *Trichoderma* sp 1 y de *Trichoderma* sp 2 nativas a las 72 horas de inoculación: A. Huevo de *Meloidogyne* sp. sin inoculación, B. Penetración de hifas, C. Adherencia de hifas a la capa vitelina, D. Ruptura de la pared celular, E. Desintegración total del huevo de *Meloidogyne* sp.

DISCUSIÓN

De los resultados obtenidos al evaluar el efecto de *Trichoderma* sp 1 y de *Trichoderma* sp 2 nativas sobre *Meloidogyne* sp., se observó que el porcentaje de peso radicular de *Lycopersicon esculentum* disminuye cuando se encuentra infectado por nematodos (Fig. 1); esto podría deberse a que la formación de huevos es un proceso que implica una gran demanda de agua, nutrientes y productos de la fotosíntesis por lo tanto las raíces son mucho más susceptibles volviéndose raquílicas y por consiguiente disminuye la eficiencia en la formación de raíces primarias y secundarias¹³. De forma contraria se observó que el porcentaje de peso radicular de *Lycopersicon esculentum* se mantiene cuando se aplica oxamyl, por lo que este nematicida no es fitotóxico si se aplica en el momento y a la dosis recomendada¹³.

Al mismo tiempo, el porcentaje de peso radicular de *L. esculentum* aumentó significativamente en los tratamientos utilizados (T4, T5 y T6) respecto a las plantas no inoculadas (T1), el resultado obtenido puede deberse a la capacidad enzimática y parasítica, a la producción de metabolitos estimuladores del crecimiento vegetativo por parte de *Pochonia chlamydosporia* y *Trichoderma* sp. o a que ambos hongos son endófitos¹⁰.

Smith et al.¹⁴, señalan que estos incrementos pueden atribuirse a la eliminación de patógenos menores que se encuentran en la rizósfera; mientras que Windham et al.¹⁵ encontraron que *Trichoderma* produce un factor regulador de crecimiento sobre plantas de tomate, tabaco y rábano²⁴.

Altamore et al.¹⁶ sugieren que la promoción del desarrollo se debe a que *Trichoderma* tiene la capacidad de solubilizar el manganeso sin importar el pH del medio ni la disponibilidad del mismo, es decir, que lo solubiliza constantemente, estos autores señalan que este microelemento es requerido para varias funciones fisiológicas de las plantas, tales como la fotosíntesis, el metabolismo del nitrógeno y la síntesis de los compuestos aromáticos como precursores de aminoácidos y hormonas, de fenoles y de lignina; resaltando, que por consiguiente el manganeso juega un papel importante en el crecimiento y la resistencia a enfermedades de las plantas.

Con respecto al porcentaje de nódulos producidos por *Meloidogyne* sp. en raíces de *L. esculentum*, según el análisis estadístico existe diferencia significativa entre los tratamientos 1y5; tratamientos 3,4,6 y el tratamiento 2 (control positivo) donde solamente se inoculó *Meloidogyne* sp., esto quiere decir que *Trichoderma* sp 1 nativa afecto considerablemente al nemátodo impidiendo que se forme mayor cantidad de nódulos; oxamyl, *P. chlamydosporia* y *Trichoderma* sp 2 nativa consiguieron el mismo objetivo de reducir los nódulos pero no fueron tan efectivos en comparación con *Trichoderma* sp 1 nativa ya que este último estadísticamente resulto ser igual que el control negativo (sin inoculación de *Meloidogyne* sp.). A diferencia del tratamiento 2 el porcentaje de nódulos formados en raíces fue mayor que todos. En relación a los nódulos debemos añadir que las especies *Meloidogyne* sp. son endoparásitos sedentarios. Los especímenes jóvenes móviles en la segunda etapa (J2) emergen de los huevos, se mueven hacia las raíces y penetran en ellas a través de la punta, en las regiones de una penetración previa, o donde se encuentran pequeñas heridas¹².

En la raíz, los J2 invaden la endodermis y, al entrar en la estela, inducen la producción de células gigantes con núcleos múltiples que se derivan del parénquima vascular o de la diferenciación de las células vasculares en la parte central de la estela. La formación de estas células gigantes trastorna o bloquea los vasos de xilema que la rodea. También se induce la multiplicación de las células corticales, lo que resulta en la formación de llagas características. Los especímenes jóvenes J2 se alimentan de estas células gigantes y mudan tres veces para convertirse en hembras adultas que crecen rápidamente. La disección de las llagas revela las típicas hembras hinchadas en varias etapas de maduración. Cuando las hembras maduran, forman sacos. La reproducción es partenogénica. Un alto porcentaje de machos se producen sólo en condiciones adversas. Los huevos se depositan dentro de una matriz gelatinosa para que se forme una masa de huevos. Una sola masa de huevos puede contener varios centenares de huevos. En las raíces primarias, carnosas y gruesas, las masas de huevos pueden quedarse dentro de la raíz^{3, 12}.

El nematicida oxamyl (control positivo) disminuyó a un 59% la cantidad de nódulos formados respecto al total, mientras que en los tratamientos donde se aplicaron las 2 especies de *Trichoderma*, se presentó una disminución del porcentaje de nódulos, esto puede deberse a que *Trichoderma*, forma una capa protectora en la rizósfera, haciendo una simbiosis. El hongo se alimenta de los exudados de las

raíces y las raíces son protegidas por el hongo y al mismo tiempo reduce o elimina las fuentes de alimento para las J2 de *Meloidogyne*, impidiendo además el ingreso del nematodo a la raíz, variando este tipo de protección según la especie de *Trichoderma*^{11,17}.

En la Fig. 3 se observa que al realizar el análisis estadístico las dos especies nativas de *Trichoderma* disminuyen la población de juveniles 2 de *Meloidogyne sp.*, siendo *Trichoderma sp 1* la que presentó mayor efecto, esto probablemente se deba a que esta especie produce mayor cantidad de diferentes antibióticos volátiles y no volátiles; ya que se ha demostrado que las especies de este hongo pueden parasitar, controlar y destruir los fitonemátodos¹¹. Es así que, Pérez *et. al.*¹⁸ afirman que *Trichoderma spp.* es un biorregulador efectivo contra nematodos del género *Meloidogyne* por medio de sus toxinas e hifas. Méndez y Polanco¹⁹ informan resultados similares, obteniendo un notable decrecimiento de las poblaciones de nematodos formadores de agallas con una dosis de 8kg/ha de *T. harzianum* en diferentes etapas del cultivo del tomate al reducir las poblaciones de grado tres y cuatro, de una escala de cinco grados, a grado uno.

Las cepas de *Trichoderma* se diferencian entre sí por los niveles de expresión de las enzimas hidrolíticas, lo cual determina sus características antagónicas^{8,11,20}, esto explicaría porque el porcentaje de J2 de *Meloidogyne sp.* difiere en las dos especies de *Trichoderma* tratadas, además éste género produce metabolitos que actúan como nematicidas, tales como Trichodermin, Suzukacilina, Alamecicina, Dermadina, Penicilina, Trichotecenosa y Tricorzinianos que se han reportado como sintetizados por *Trichoderma harzianum*; o Gliotoxina producido por *Trichoderma viride*^{20,21,22}.

El efecto que tienen las dos especies de *Trichoderma* nativas utilizados sobre huevos de *Meloidogyne sp.* (Fig. 4), se podría deber a que este género parasita al fitopatógeno mediante enrollamiento, ganchos y cuerpo de tipo apresorio, que penetran la pared celular por acción hidrolítica de las enzimas quitinasas y gluconasas. Estas enzimas pueden degradar la cutícula de los insectos, cuya estructura está compuesta por quitina. El huevo de *Meloidogyne* presenta una capa vitelina externa, una capa media de quitina y una capa interna de glicolípidos. Esto explicaría porque los huevos de nematodos son grandemente afectados con el tratamiento de las especies de *Trichoderma*^{21,23,24,25}.

CONCLUSIONES

- Los dos especies nativas de *Trichoderma* tienen un efecto negativo sobre los huevos y juveniles 2 (J2) de *Meloidogyne sp.* en condiciones de laboratorio.
- *Trichoderma sp.1* nativa es la que ejerce el mayor efecto inhibitorio sobre J2 de *Meloidogyne sp.*

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Santana Y, Del Busto A. Alternativas agroecológicas en el manejo de Nemátodos. Universidad de Pinar del Río, México; 2010
2. Talavera M. Manual de nematología agrícola. Introducción al análisis y control nematológico para agricultores y técnicos de agrupaciones de defensa vegetal. México: Edit.Limusa. 2003.
3. Montero Z, García C, Salazar L, Valverde R, Gómez L. Detección de *Meloidogyne incognita* en tubérculos de papa en Costa Rica .Rev. Agronomía Costarricens, 2007; 31 (1):78.
4. Agrios G. Fitopatología. México: Edit. Limusa. 1988.
5. Zavaleta E. Alternativas del manejo de las enfermedades de las plantas. Rev Terra, 1999; 17 (3): 201-207.
6. Araya M. Situación actual del manejo de nemátodos en banano (*Musa AAA*) y plátano (*Musa AAB*) en el Trópico Americano. En: Rivas G, Rosales F editores. Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de las musáceas en los trópicos. Actas del taller "Manejo convencional y alternativo de la Sigatoka negra, nematodos y otras plagas asociadas al cultivo de las musáceas" celebrado en Guayaquil; Ecuador. 11-13 de agosto de 2003. Montpellier, FR. INIBAP, 2003; pp.79-102.
7. Peraza W, Orozco M, Esquivel A, Rivera G, Chaverri F. Aislamiento e identificación de hongos nematófagos nativos de zonas arroceras de Costa Rica. Rev Agronomía mesoamericana, 2011; 22(2):233-243.
8. Reyes R, Barranco B, García G, Jiménez G. Actividad in vivo de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium rolfsii* en plántulas de tomate. Rev. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología .Costa Rica 2002; 45-48.
9. Belanger R, Dufuor N, Caron J, Benhamou N. Chronological events associated with the antagonistic properties of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinerea*: Indirect evidence for sequential role of antibiotics and parasitism. Rev. Biocontrol Science Technology. 1995; 5: 41-54.

10. Rey M, Delgado-Jarana J, Rincón A, Limón M, Benítez T. 2000. Mejora de cepas de *Trichoderma* para su empleo como biofungicidas. Rev Iberoamericana de Micología, 2000; 17: 531-536.
11. Howell C. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. Rev Plant Disease, 2003; 87(1): 4-10.
12. Mendoza G., Wilson J, Colina J. Efecto de *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* sobre huevos de *Meloidogyne* sp. en condiciones de laboratorio. REBIOLEST 2013; 1(2): 65-71
13. De Waele D, Davide R. Nemátodos noduladores de las raíces del banano. Francia. 1998. *Pochonia chlamydosporia*: Advances and Challenges to Improve Its Performance as Biological Control Agent of Sedentary Endo-parasitic Nematodes. Rev Nematol, 2013; 45 (1):1-7.
14. Smit V, Wilcox W, Harman G. Potential for biological control of Phytophthora and Crown Rots of apple by *Trichoderma* and *Gliocladium* spp. Phytopathol, 1990; 80(9):880-885.
15. Winham M, Elod Y, Baker R. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. Rev. Phytopathol, 1986; 76: 518 – 521.
16. Altomare, C., Börkman, T., Norvell, W. and Harman, G. “Solubilidad del dióxido de manganeso por el hongo *Trichoderma harzianum* 1295-22”.
17. Guilcapi E. Efecto de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride*, en la producción de plantas de café (*Coffea arabica*) variedad caturra a nivel de vivero. [Tesis de título]. Ecuador. 2009.
18. Pérez J *et. al.* *Trichoderma*: alternativa para el control biológico de nemátodos en el marco de una agricultura sostenible. Rev. Fitosanidad. 2006; 10 (2): 165
19. Méndez M, Polanco W. Método de control con *Trichoderma harzianum* en casas de cultivo. En Memorias Taller Latinoamericano de Control Biológico de Fitopatógenos con *Trichoderma harzianum* en casas de cultivo. La Habana, Cuba. 2006.
20. Zeilinger S, Omann M. *Trichoderma* biocontrol: signal transduction pathways involved in host sensing and mycoparasitism. Rev Gene Regul Syst Bio. 2007; 1: 227 – 234.
21. Martínez J. Uso de *Trichoderma* para el Control Biológico de Organismos Patógenos de Plantas. En: Mem Simp, Agricultura Orgánica y de baja residualidad. Cuautémoc, Chih. México. 1998
22. Bell, D., Wells, H. and Markman, C. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathol, 1982; 72: 379-382.
23. Chérif M, Benhamou N. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f sp. radiscis - lycopersici. Phytopathol, 1990; 80(12): 1406-1414.
24. Bokhari F. Efficacy of some *Trichoderma* species in the control of *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica*. Rev. Arch Phytopathol Plant Prot. 2009; 42(4): 361 – 369.
25. Jin R, Suh J, Park R, Kim Y, Krishnan H, Kim K. Effect of chitin compost and broth on biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Rev Nematol, 2005; 7: 125 – 132.