



Scientia Agropecuaria

Web page: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop>

Facultad de Ciencias
Agropecuarias

Universidad Nacional de
Trujillo

RESEARCH ARTICLE



Dynamics of growth, sporulation and capture of asexual fungi on *Meloidogyne* sp., *in vitro*

Dinámica de crecimiento, esporulación y captura de hongos asexuales sobre *Meloidogyne* sp., *in vitro*

Marcos Vera-Morales^{1,*} ; Adela Quevedo¹ ; Sofia Peñaherrera² ; Lizette Serrano¹ ; Daynet Sosa¹ ; María F. Ratti¹ ; Rafael F. Castañeda-Ruiz³ ; Freddy Magdama¹ 

¹ Escuela Superior Politécnica del Litoral, ESPOL, Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador, Campus Gustavo Galindo Km. 30.5 Vía Perimetral, P.O. Box 09-01-5863, Guayaquil, Ecuador.

² Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental Tropical Pichilingue. Departamento de Protección Vegetal. 170518. Quevedo, Ecuador.

³ Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Calle 110 No. 514 e/ 5ta B y 5ta F, Playa., La Habana, Cuba.

* Corresponding author: mxvera@espol.edu.ec (M. Vera-Morales).

Received: 2 September 2023. Accepted: 4 February 2024. Published: 11 March 2024.

Abstract

Root-knot nematodes are detrimental to agricultural crops and hard to control once established in the field. The objective of this research was to evaluate the growth, sporulation, and capture *in vitro* of asexual fungi against *Meloidogyne* sp. Molecular identification of the asexual fungi included in the study was performed by sequencing the ITS1 region of rDNA. The growth and sporulation of *Arthrobotrys* sp., *Dactylellina* sp. and *Dactylaria* sp. was evaluated in five culture media and two types of substrates (rice husks and ground corn). For the evaluation of attraction and capture of the nematodes, second stage juveniles of *Meloidogyne* sp. All the evaluated fungal isolates grew and sporulated in the culture media and substrates. The fungi *Arthrobotrys* sp. (C19-1-1) and *Dactylellina* sp. (C19-48) showed greater effectiveness in attracting and capturing *Meloidogyne* sp. The evaluated fungal isolates have the potential to colonize different culture media and substrates. In addition, they can form modified and specialized hyphae that control juvenile *Meloidogyne* sp. nematodes. Therefore, future studies should focus on evaluating fungal isolates against root-knot nematodes under field conditions.

Keywords: Tropical agriculture; nematode trapping; biological control; "*in vitro*"; Orbiliaceae.

Resumen

Los nematodos formadores de agallas son perjudiciales para los cultivos agrícolas. El objetivo de esta investigación fue evaluar el crecimiento, esporulación y captura de hongos asexuales contra *Meloidogyne* sp. en condiciones *in vitro*. La identificación molecular de los hongos asexuales se realizó con PCR utilizando secuencias de la región ITS del ADNr. Se evaluó el crecimiento y esporulación de *Arthrobotrys*, *Dactylellina* y *Dactylaria* en cinco medios de cultivos y dos tipos de sustratos (cascarilla de arroz y maíz molido). Para la evaluación de atracción y captura de los nematodos se emplearon juveniles de segunda etapa de *Meloidogyne* sp. Todos los aislamientos fúngicos evaluados crecieron y esporularon en los medios de cultivos y sustratos. Los hongos *Arthrobotrys* sp. (C19-1-1) y *Dactylellina* sp. (C19-48) mostraron mayor efectividad en la atracción y captura de *Meloidogyne* sp. Los aislamientos fúngicos evaluados tienen el potencial de colonizar diferentes medios de cultivos y sustratos. Además, pueden formar hifas modificadas y especializadas que controlan nematodos juveniles de *Meloidogyne* sp. Por lo tanto, los futuros estudios se deberían centrar en evaluar los aislados fúngicos contra los nematodos formadores de agallas en condiciones de campo.

Palabras clave: Agricultura tropical; captura de nematodos; control biológico; "*in vitro*"; Orbiliaceae.

DOI: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2024.009>

Cite this article:

Vera-Morales, M., Quevedo, A., Peñaherrera, S., Serrano, L., Sosa, D., Ratti, M. F., Castañeda-Ruiz, R. F., & Magdama, F. (2024). Dinámica de crecimiento, esporulación y captura de hongos asexuales sobre *Meloidogyne* sp., *in vitro*. *Scientia Agropecuaria*, 15(1), 121-132.

1. Introducción

Los nematodos fitoparásitos son organismos que amenazan la producción de cultivos agrícolas (Torto et al., 2018). Los nematodos como los del género *Meloidogyne*, son parásitos obligados que se encuentran entre los más destructivos del mundo

(Tapia-Vázquez et al., 2022), tanto en climas tropicales como templados (Elling, 2013), causando pérdidas anuales calculadas en más de \$100 mil millones de dólares (Mukhtar et al., 2014). Para reducir las poblaciones de nematodos fitoparásitos se usan un sinnúmero de productos sintéticos (Forghani &

Hajihassani, 2020; Khan et al., 2023; Silva et al., 2022), que conlleva a la degradación del ambiente, lixiviación de nutrientes y pérdida de la biodiversidad (Tsiafouli et al., 2015), con efectos nocivos en la salud humana (Rani et al., 2021). Estos factores han propiciado la búsqueda de alternativas ecológicas. Los hongos que parasitan nematodos son un grupo de organismos que dependen de hifas modificadas y especializadas para emboscar a sus presas (Su et al., 2017). Los hongos asexuales poseen la capacidad de capturar y digerir nematodos mediante mecanismos *i.e.* producción de trampas especializadas, parasitismo, endoparasitismo, producción de toxinas y de dispositivos especiales (Soares et al., 2018; Vera-Morales et al., 2022). Las hifas modificadas y especializadas están provistas de paredes más gruesas que las hifas vegetativas típicas (Liu et al., 2022), y poseen diferentes formas en las que se incluyen anillos de constricción y cinco tipos de trampas adhesivas (redes adhesivas, perillas adhesivas, ramas adhesivas, anillos no constrictivos y anillos de constricción) que se adhieren, penetran, matan y digieren los nutrientes de los nematodos (Al-Hakeem et al., 2022; Karakaş, 2020).

En la naturaleza, los hongos están ampliamente distribuidos en la mayoría de los ecosistemas, incluso en ambiente extremos (Magan, 2007). En el caso de muchos hongos filamentosos, pueden adaptarse a condiciones ambientales y cambiar sus requerimientos nutricionales, pasando de un estilo de vida saprobio a predador (Vidal-Diez de Ulzurrun & Hsueh, 2018). Se han reportado aproximadamente 700 especies de hongos que pueden atrapar y devorar nematodos vivos (huevos, juveniles y adultos) (Jiang et al., 2017), pertenecientes a la mayoría de los taxones fúngicos (Moosavi & Zare, 2012), especialmente de la familia Orbiliaceae, Ascomycota (Yu et al., 2014).

Los hongos cumplen una importante función en el flujo de la materia y energía (Vera-Morales et al., 2022), por que influyen en las interacciones sinérgica, antagonista y aditiva de los microorganismos

del suelo (Siddiqui & Aziz, 2024). Los hongos que atrapan nematodos son altamente sofisticados (Vera-Morales et al., 2023), por lo que su utilización en la producción vegetal, podría ser opción viable para el control biológico de nematodos. Introducir hongos que controlan nematodos, es una propuesta inocua con el ambiente (Saha & Khan, 2016). Sin embargo, la producción a gran escala es uno de los principales desafíos para su utilización comercial (Quevedo et al., 2021). Las condiciones para el crecimiento, esporulación y formación de estructuras de captura de hongos asexuales no son las mismas, pues existen medios de cultivos más favorables que otros (da Silva et al., 2013), así como diferentes tipos de sustratos (Kumar et al., 2015).

El biocontrol es una alternativa en el manejo integrado de plagas, que conduce hacia el desarrollo de estrategias innovadoras en el sector agrícola (Wang et al., 2023). Sin embargo, la falta de disponibilidad de nematocidas biológicos y el escaso estudio de cepas nativas incrementan la necesidad de la búsqueda de potenciales hongos antagonistas (Hussain et al., 2020; Nagaraj et al., 2024). Por tanto, el objetivo principal del estudio fue evaluar y comparar la dinámica de crecimiento, esporulación y actividad de captura de varias cepas de hongos asexuales aislados de cuatro localidades del Ecuador contra nematodos juveniles de *Meloidogyne* sp., en condiciones *in vitro*.

2. Metodología

Aislamiento y caracterización molecular de las cepas fúngicas y del nematodo formador de agallas

Se realizaron cuatro muestreos entre los años 2017 y 2019. Las cepas fúngicas fueron aisladas a partir de nematodos infectados y material vegetal en descomposición, recolectados en cuatro localidades del Ecuador (Tabla 1). Las muestras colectadas se colocaron en bolsas plásticas y se transportaron al laboratorio donde se mantuvieron en cámaras húmedas (Castañeda-Ruiz et al., 2016).

Tabla 1

Lista de las cepas de los hongos asexuales, lugar de aislamiento y localización donde se recolectó el material vegetal

CAF	Sustrato	Localidad / Provincia	Latitud	Longitud
C19-1	Nematodos	Naranjal, Guayas	2°48'47"S	79°40'46"O
C19-1-1	Nematodos	Naranjal, Guayas	2°48'47"S	79°40'46"O
C19-3	Nematodos	Naranjal, Guayas	2°48'47"S	79°40'46"O
C19-4	Materia orgánica	La Aurora, Azuay	2°34'42"S	79°21'29"O
C19-6	Hojas descompuestas	La Aurora, Azuay	2°34'42"S	79°21'29"O
C19-10	Nematodos	Rio Palenque, Los Ríos	0°35'16"S	79°21'58"O
C19-45	Hojas descompuestas	Rio Palenque, Los Ríos	0°35'16"S	79°21'58"O
C19-48	Nematodos	Rio Palenque, Los Ríos	0°35'16"S	79°21'58"O
C19-54-1	Hojas descompuestas	Rio Palenque, Los Ríos	0°35'16"S	79°21'58"O
C19-54-3	Hojas descompuestas	Rio Palenque, Los Ríos	0°35'16"S	79°21'58"O
C-2197	Nematodos	Santa Rosa, El Oro	3°30'34"S	79°57'28"O

CAF: Código de aislamiento fúngico.

Se prepararon cultivos monoconidiales de los aislados y se identificaron con claves de identificación taxonómica (Barron, 1977; Cooke & Godfrey, 1964; Drechsler, 1937; Matsushima, 1971, 1975; Rubner, 1996; Zhang & Hyde, 2014). Los aislamientos se sembraron en medio de cultivo agar harina maíz (CMA) el cual es escaso en nutrientes y potencia la producción de conidios (Duddington, 1955; J. Li et al., 2014).

Las cepas se conservaron en la colección de cultivos puros de microorganismos del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). El ADN fúngico fue extraído empleando el protocolo para amplificación por PCR (Cenis, 1992). La PCR se realizó con los cebadores ITS1 (5'TCC GTA GGT GAA CCT GCG G 3') e ITS4 (5'TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3') (White et al., 1990), empleando el termociclador Aeris™ (ESCO). La longitud, calidad y cantidad de los productos de PCR se confirmaron mediante electroforesis en gel (1% p/v). La identificación y verificación de especies de los aislamientos recolectados se realizó mediante búsqueda de similitud de secuencias en la base de datos de BLAST del GenBank (Altschul et al., 1997). Se empleó el modelo de GTR+G usando el software Geneious 10.2.6 para alineamientos y construcción del árbol filogenético y MEGA-X para edición del árbol.

Para realizar los ensayos *in vitro*, se mantuvieron a las cepas preservadas en tubos de 2 mL con PDB + Glicerol (Ritchie, 2001), y la reactivación en agar harina de maíz - CMA 1:1, 2% agar, pH 6.3 - 6.4, se colocó en placas de Petri de 9 cm. de diámetro, incubado a temperatura de 27 ±1 °C, durante siete días.

En todas las pruebas se utilizaron nematodos juveniles de *Meloidogyne* de la segunda etapa provenientes de un cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Se inocularon plántulas de tomate con una sola masa de huevos del nematodo para obtener una sola población con la cual se procedió a desarrollar los experimentos. Esta población de nematodos (codificada como 4N) se mantiene actualmente en plantas de tomate en el invernadero del CIBE-ESPOL. Después de entre 10 y 12 semanas haber inoculado las plantas, sus raíces infectadas fueron colectadas y transportadas para la extracción manual de la masa de huevos, lavando los tejidos cinco veces con agua destilada estéril conteniendo sulfato de estreptomycin (50 ppm). La masa de huevos se colocó en placas de Petri con agar agua más antibióticos y se mantuvieron a 28 ±1°C para que eclosionen. Después de 48 fueron recolectados juveniles de nematodos en segunda etapa (Barker et al., 1986).

Para la extracción del ADN del nematodo se colocó un solo nematodo juvenil J2 en un tubo Eppendorf de 0,2 mL que contenía 50 µL de una solución Buffer (50 mM KCl; 10 mM tris pH 8,2; 2,5 mM MgCl₂; 60 µl/mL de proteinasa K; 0,45% NP40; 0,45% Tween 20; 0,01% gelatina) (Castagnone-Sereno et al., 1995). El ADNr 18S se amplificó utilizando dos conjuntos de cebadores: 1A (5'-GGCGATCGAAAAGATTAAGCC-3') y 3B (5'-GGCGATCGATTGGCAAATGCTTTCGC-3') (Tigano et al., 2005). El programa utilizado para la amplificación del ADNr 18S se diseñó en un termociclador Aeris™ (ESCO) con los siguientes ciclos: 1 ciclo a 94 °C durante 7 min., seguido de 35 ciclos a 94 °C por 1 min, 50 °C por 1 min, y 72 °C por 1 min. Al final se dejó a 72 °C por 10 min.

Crecimiento radial y esporulación de los aislamientos

Los medios de cultivo en placas con agar se prepararon con extractos de zanahoria y harina de maíz (20 g agar, 40 g zanahoria, 30 g harina de maíz, 1000 mL H₂O); jugo V8 (20 g agar, 200 mL jugo V8, 800 mL H₂O); harina de maíz (20 g agar, 30 g harina de maíz, 1000 mL H₂O) y de avena (20 g agar, 40 g avena, 1000 mL H₂O). Se usó un control compuesto únicamente de agar agua (20 g agar, 1000 mL H₂O). Todos los medios de cultivo se ajustaron a un pH 6,3 – 6,4.

Se emplearon cinco réplicas de placas de Petri (9 cm Ø) conteniendo 10 mL de medio de cultivo. Se sembraron con un disco de aproximadamente 6 mm de diámetro que se tomaron del borde de una colonia en crecimiento activo y se incubaron a 27±1 °C. Una vez que los hongos crecieron, el plato de Petri se marcó en el borde del avance del crecimiento de la colonia cada 24 horas durante 8 días después de la inoculación. Se registró la cantidad de conidios siguiendo el procedimiento de colocar 5 mL de agua estéril en cada placa de Petri. Posteriormente, se desprendió el micelio, el cual fue recolectado en tubos con el fin de contar el número de conidios por mililitro de agua utilizando la cámara de Neubauer.

Producción de conidios en dos tipos de substratos

Para evaluar la producción de conidios de los aislamientos, se utilizaron dos tipos de substratos: cascarilla de arroz y maíz triturado. Los substratos se colocaron en frascos de vidrio de 200 mL humedecidos con agua destilada, los cuales fueron taponados con algodón y esterilizados dos veces a 121 °C durante 30 minutos, con un reposo de 48 horas. Con un asa bacteriológica estéril se colocó en el centro de cada matraz un disco de 8 mm de

diámetro de cada cultivo. Finalmente, los frascos de vidrio se inocularon a 28 °C y se realizaron cuatro conteos a los 7, 10, 13 y 16 días de inoculación, empleando la cámara de Neubauer para calcular el número de conidios/mL H₂O. Los tratamientos fueron: T1 – 10 g de cascarilla de arroz + 20 mL de agua y T2 – 10 g maíz triturado + 20 mL de agua.

Porcentaje de atracción y captura de *Meloidogyne* sp., por cepas fúngicas

Las cepas empleadas en el experimento se cultivaron en placas de Petri (diámetro de 9 cm) utilizando un medio de agar-harina de maíz para preservar su capacidad depredadora, según la metodología propuesta por Duddington (1955). En cuanto a los ensayos de atracción, se utilizó una proporción de 1:10 de agar-harina de maíz. La base de la caja se dividió en cuatro secciones iguales, y en cada una de ellas se dispuso un disco de 6 mm de diámetro, situado a 1 cm del borde de la placa, siguiendo el protocolo descrito por Hussain et al. (2018).

En los cuadrantes I y III, se dispusieron discos con el aislamiento, mientras que en los cuadrantes II y IV se colocaron discos de agar con harina de maíz diluida en agua en una proporción de 1:10, sin presencia del hongo (control). La incubación se llevó a cabo durante 24 horas a 28 °C para permitir el crecimiento del hongo. Posteriormente, se aplicó una gota de agua, previamente ajustada con 50 juveniles de nematodos, la cual se dejó secar durante 1 hora. Finalmente, se procedió a incubar por 24 horas antes de realizar la observación (ver Figura 1).

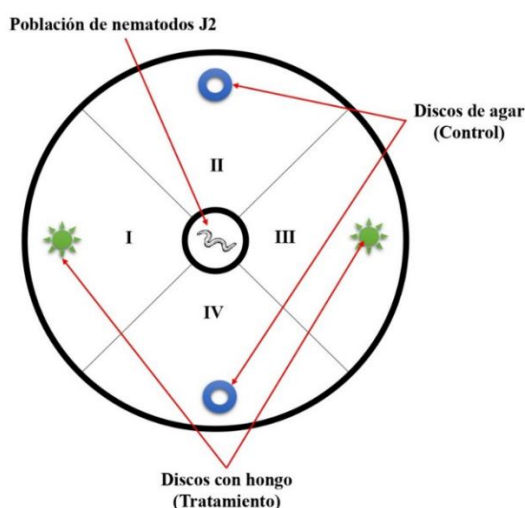


Figura 1. Ensayo en placa de Petri para la colocación de discos de control, discos con hongo y la población de nematodos.

El índice de atracción se calculó mediante la fórmula propuesta por Hsueh et al. (2017):

$$\text{Índice de atracción} = \frac{\#(I + III) - \#(II + IV)}{\#(I + III) + \#(II + IV)} \times 100$$

donde # (I, II, III y IV) corresponde al número de nematodos que se encuentran en cada uno de los cuadrantes a las 72 horas. Así mismo, el número de nematodos capturados fue evaluado para cada aislamiento. Los experimentos se realizaron con 5 repeticiones.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA). Los datos correspondientes a la evaluación de la esporulación de los hongos en medios y substratos se estandarizaron mediante transformación logarítmica Log (x+1) antes de realizar el análisis estadístico para cumplir con los criterios del análisis de varianza (ANOVA). Después de verificar los supuestos estadísticos y que en el análisis de ANOVA se mostraran diferencias significativas se empleó la prueba de comparación de Tukey ($p < 0,05$). Para el análisis de datos se procedió a emplear el paquete estadístico InfoStat versión 2020 para Windows.

3. Resultados y discusión

Identificación molecular de cepas fúngicas

Una vez obtenida las secuencias de las cepas se construyó el árbol filogenético (Figura 2). Las similitudes con BLAST mostraron que las secuencias de ITS de todas las cepas son semejantes con referencia al GenBank (Tabla 2). De los 11 aislamientos fúngicos, nueve corresponden al género *Arthrobotrys*, uno a *Dactylaria* y otro a *Dactylellina*. Estos resultados son semejantes a una investigación previa llevado a cabo por Rubner (1994), quien evidenció que entre la diversidad fúngica de especies halladas en diferentes regiones climáticas en Ecuador (Costa, Sierra y Oriente), los hongos más comunes pertenecían al género *Arthrobotrys*. Según el autor, de las nueve especies de hongos asexuales controladores de nematodos identificados, cinco pertenecían al género *Arthrobotrys* y cuatro a *Monacrosporium*. Sin embargo, en Ecuador, la biodiversidad fúngica es poco conocida debido a su extrema riqueza y complejidad (Delgado et al., 2021). Es importante comprender la diversidad fúngica para incluirlos en los planes de manejo integrado de plagas agrícolas (Elshafie et al., 2006), así como para la biorremediación, la industria química y alimentaria (Delgado et al., 2021).



Figura 2. Árbol filogenético de las cepas de los hongos asexuales y su similitud más cercana con los números de accesión del GenBank, con el modelo GTR+G y bootstrap de 1000 réplicas.

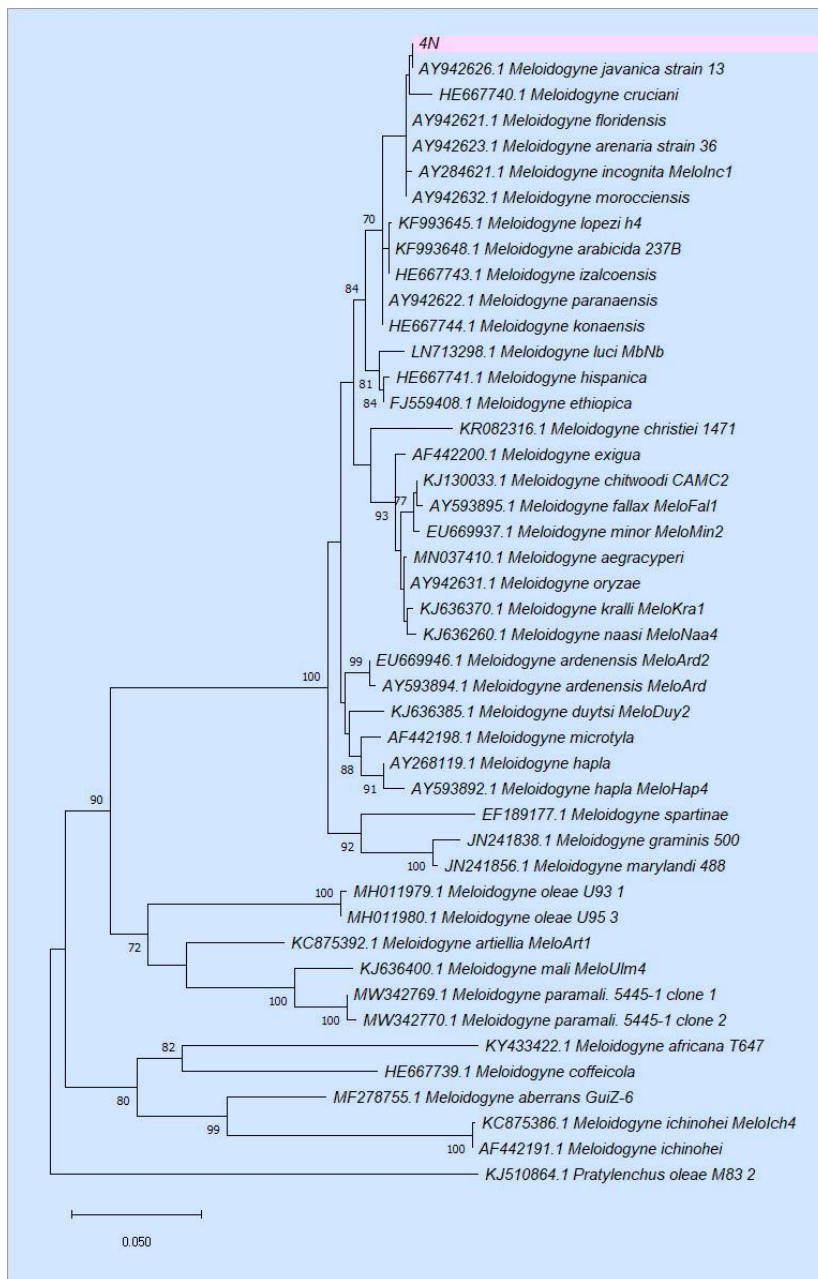


Figura 3. Árbol filogenético del nematodo (4N) y su similitud más cercana con los números de accesión del GenBank.

Tabla 2

Resultados BLAST de secuencias ITS ADNr e los hongos asexuales aislados de Ecuador

CAF	Especie	Número de acceso de GenBank	Número de nucleótidos	Máxima similitud (%)
C19-1	<i>Arthrobotrys</i> sp.	OR015865	624	97,35%
C19-1-1	<i>Arthrobotrys</i> sp.	OR015866	624	97,35%
C19-3	<i>Dactylaria</i> sp.	OR015867	587	85,24%
C19-4	<i>Arthrobotrys</i> sp.	OR015868	631	98,42%
C19-6	<i>Arthrobotrys</i> sp.	OR015869	630	96,95%
C19-10	<i>Arthrobotrys</i> sp.	OR015870	186	97,36%
C19-45	<i>Arthrobotrys</i> sp.	OR015871	529	96,95%
C19-48	<i>Dactylina</i> sp.	OR015872	602	88,31%
C19-54-1	<i>Arthrobotrys</i> sp.	OR015873	388	97,12%
C19-54-3	<i>Arthrobotrys</i> sp.	OR015874	235	97,25%
C-2197	<i>Arthrobotrys</i> sp.	OR237879	656	98%

CAF: Código de aislamiento fúngico.

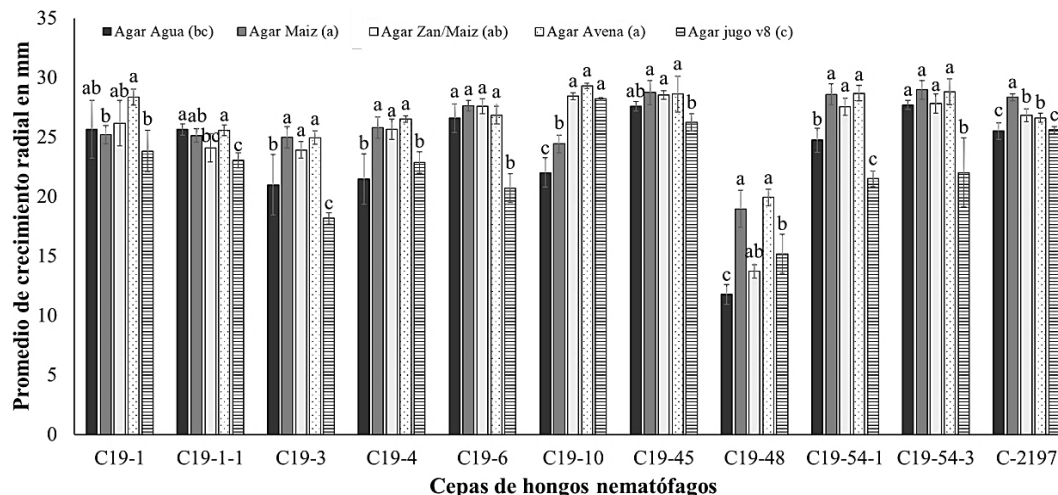


Figura 4. Comparación de medias \pm desviación estándar del crecimiento radial de las cepas fúngicas en diferentes tipos de medios de cultivos (agar agua, agar extracto de harina de maíz, agar extracto de zanahoria y harina de maíz, agar extracto de avena y agar jugo v8). Letras diferentes encima de las columnas indican diferencias estadísticamente significativas, según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Como resultado de la amplificación mediante PCR del gen 18S del ADN ribosomal utilizando los cebadores de nematodos 1A y 3B, se obtuvo amplicones específicos para el nematodo *Meloidogyne* sp. (Figura 3). Según resultados de investigaciones previas mencionaron que los nematodos formadores de agallas reportadas en Ecuador hasta la fecha fueron cinco especies pertenecientes a los nematodos género *Meloidogyne* las mismas que corresponden a *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. graminicola*, *M. hapla* y *M. javanica*, siendo *M. incognita* la más frecuente en los cultivos agrícolas (Calderón et al., 2022; Chávez-Arteaga et al., 2022).

Crecimiento radial y esporulación de cepas fúngicas en medios de cultivos

Los resultados de la evaluación del crecimiento de las cepas fúngicas en los medios de cultivo evaluados demostraron diferencias entre los tratamientos. Entre los medios de cultivos, el agar extracto de avena y el agar extracto de harina de maíz fueron los que presentaron los mayores promedios de crecimiento radial con 26,4 mm y 25,9 mm, respectivamente, frente al agar agua y jugo v8 con 23,8 mm y 22,2 mm, respectivamente. Mientras que las cepas que presentaron resultados mayores a 26 mm de crecimiento radial durante los siete días fueron C19-45 (28 mm), C19-54-3 (27,1 mm), C-2197 (26,6 mm), C19-10 (26,5 mm) y C19-54-1 (26,2 mm) (Figura 4).

Las cepas de los hongos asexuales en el presente estudio desarrollaron velocidades diversas de crecimiento. Se ha reportado que el medio de cultivo agar harina de maíz y agar avena proporcionan un buen crecimiento micelial en las cepas de hongos asexuales (Martins et al., 2009; Wang et al., 2017),

mientras que el medio agar agua permite que hongos se desarrollen lentamente por ser un medio escaso en nutrientes (Orozco et al., 2015).

En cuanto a los resultados de la evaluación de la esporulación de las cepas de hongos asexuales, presentaron diferencias siendo el medio de agar extracto de avena con un promedio mayor de esporulación de $2,59 \times 10^6$ conidios/mL, seguido del agar jugo v8 y agar extracto de zanahoria y harina de maíz con $2,0 \times 10^6$ y $1,9 \times 10^6$ conidios/mL, respectivamente. El medio de agar agua fue el que demostró menor cantidad de conidios ($2,45 \times 10^5$ conidios/mL) (Figura 5).

El agar extracto de avena y el agar extracto de harina de maíz fueron los que presentaron los mayores promedios de crecimiento radial y la mayor esporulación correspondió a agar extracto de avena frente al agar agua como control. El resultado de la esporulación de una cepa de hongo asexual que atrapa nematodos ha sido reportado previamente, donde demostraron que los medios naturales y seminaturales son eficaces para la esporulación de los hongos, pudiendo alcanzar cantidades de 1×10^6 conidios/mL en condiciones controladas (Quevedo et al., 2021). La media de la esporulación en el presente estudio varió entre $2,45 \times 10^5$ en el medio de agar agua hasta $2,59 \times 10^6$ en el medio agar avena. Estos valores se encuentran dentro del rango correspondiente a una investigación previa donde los hongos producían en diferentes medios de cultivos $1,4 \times 10^4$ y $1,01 \times 10^6$ conidios/placa de Petri (Martins et al., 2009). En el agar agua los hongos asexuales producen muy poca cantidad de conidios por ser un medio extremadamente pobre en nutrientes (Orozco et al., 2015).

Producción de conidios en dos tipos de sustratos

Los resultados de la esporulación de las cepas en los sustratos de maíz molido y en cascarilla de arroz en los días 7, 10, 13 y 16 mostraron diferencias entre ambos sustratos (Tabla 3). El sustrato de maíz molido favoreció la esporulación de las cepas fúngicas con un promedio de $3,01 \times 10^7$ conidios/mL, mientras que la cascarilla de arroz resultó con un promedio de $2,86 \times 10^6$ conidios/mL. De entre los días evaluados, en el caso del sustrato de maíz molido la mayor esporulación se presentó en el día 16 con $3,64 \times 10^7$ conidios/mL, con relación al día 7 donde la esporulación fue menor con $2,40 \times 10^7$ conidios/mL.

En este estudio se probaron como sustratos el maíz molido y la cascarilla de arroz, para observar el crecimiento y esporulación (Figura 6). Según un estudio reporta que las condiciones nutricionales son importantes tanto para la formación de hifas

modificadas y especializadas, así como para el cambio de estilo de vida de saprobio a predador, por lo que esta característica les permite colonizar diferentes tipos de fuentes de carbono (Orozco et al., 2015), así como numerosos entornos con materia orgánica en descomposición (Swe et al., 2009).

En otra investigación del maíz junto con otros granos como guisantes y cebada demostraron buena respuesta de crecimiento y esporulación (Kumar et al., 2015). Además, nos permiten conocer la importancia de los métodos de producción masiva de cepas fúngicas benéficas empleadas en la agricultura (Flores et al., 2021). A pesar de que en el presente estudio la cascarilla de arroz no permitió buena esporulación de los hongos asexuales, otra investigación muestra que este sustrato ha sido empleado con éxito después de 60 días de colonización para la especie del hongo endoparásito *Purpureocillium lilacinum* llegando a producir 7×10^7 conidios/g (Shirazi et al., 2019).

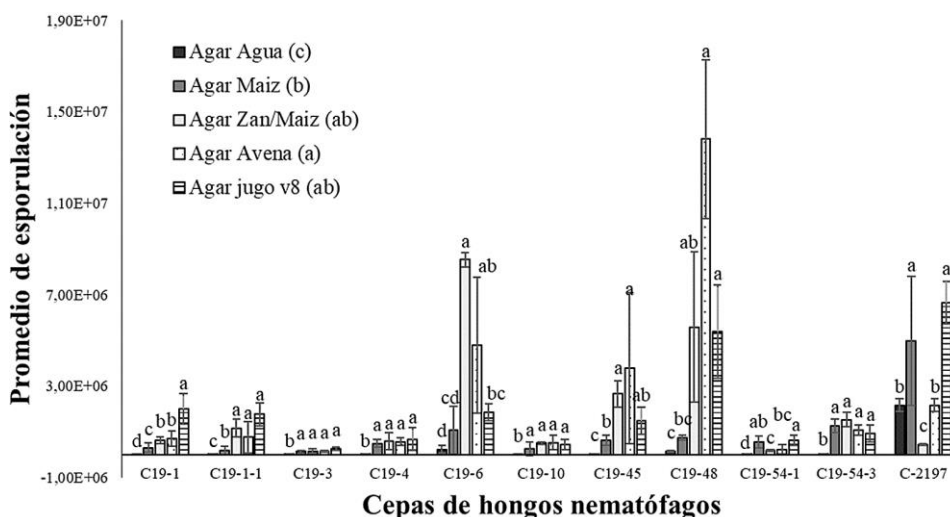


Figura 5. Comparación de medias \pm desviación estándar de la esporulación de las cepas fúngicas en los medios de cultivos de agar agua, agar extracto de harina de maíz, agar extracto de zanahoria y harina de maíz, agar extracto de avena y agar jugo v8. Letras diferentes encima de las columnas indican diferencias estadísticamente significativas, según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Tabla 3

Número de conidios de los hongos asexuales, en los sustratos de maíz molido y cascarilla de arroz durante los días 7, 10, 13 y 16

Sustratos / Cepas	Día 7		Día 10		Día 13		Día 16	
	Maíz molido	Cascarilla de arroz	Maíz molido	Cascarilla de arroz	Maíz molido	Cascarilla de arroz	Maíz molido	Cascarilla de arroz
C19-1	$6,0 \times 10^6(a)^*$	$5,0 \times 10^5(b)$	$4,2 \times 10^6(a)$	$5,0 \times 10^5(b)$	$2,1 \times 10^6(a)$	$7,5 \times 10^5(b)$	$1,1 \times 10^6(a)$	$8,0 \times 10^5(a)$
C19-1-1	$6,0 \times 10^6(a)$	$3,5 \times 10^5(b)$	$5,9 \times 10^6(a)$	$8,5 \times 10^5(b)$	$3,3 \times 10^6(a)$	$6,0 \times 10^5(b)$	$3,1 \times 10^6(a)$	$4,0 \times 10^5(b)$
C19-3	$8,0 \times 10^5(a)$	$6,0 \times 10^5(a)$	$8,5 \times 10^5(a)$	$1,2 \times 10^6(a)$	$9,5 \times 10^5(a)$	$5,5 \times 10^5(a)$	$5,0 \times 10^5(a)$	$2,5 \times 10^5(a)$
C19-4	$4,8 \times 10^6(a)$	$1,0 \times 10^6(b)$	$2,6 \times 10^6(a)$	$7,5 \times 10^5(b)$	$1,1 \times 10^6(a)$	$6,0 \times 10^5(a)$	$2,3 \times 10^6(a)$	$7,0 \times 10^5(b)$
C19-6	$1,3 \times 10^7(a)$	$9,0 \times 10^5(b)$	$2,2 \times 10^7(a)$	$1,0 \times 10^6(b)$	$2,6 \times 10^7(a)$	$1,5 \times 10^6(b)$	$1,6 \times 10^7(a)$	$2,5 \times 10^5(b)$
C19-10	$2,9 \times 10^6(a)$	$8,5 \times 10^5(b)$	$3,7 \times 10^6(a)$	$5,0 \times 10^5(b)$	$2,3 \times 10^6(a)$	$4,0 \times 10^5(b)$	$1,9 \times 10^6(a)$	$7,0 \times 10^5(b)$
C19-45	$1,4 \times 10^7(a)$	$1,1 \times 10^6(b)$	$1,5 \times 10^7(a)$	$1,8 \times 10^6(b)$	$3,0 \times 10^7(a)$	$1,7 \times 10^6(b)$	$6,8 \times 10^6(a)$	$1,9 \times 10^6(b)$
C19-48	$1,9 \times 10^8(a)$	$3,4 \times 10^7(b)$	$2,8 \times 10^8(a)$	$1,5 \times 10^7(b)$	$2,1 \times 10^8(a)$	$1,9 \times 10^7(b)$	$3,6 \times 10^7(a)$	$1,4 \times 10^7(b)$
C19-54-1	$1,1 \times 10^6(a)$	$3,5 \times 10^5(b)$	$1,2 \times 10^6(a)$	$4,0 \times 10^5(b)$	$8,0 \times 10^5(a)$	$4,5 \times 10^5(b)$	$5,5 \times 10^5(a)$	$3,5 \times 10^5(a)$
C19-54-3	$8,0 \times 10^5(a)$	$3,5 \times 10^5(b)$	$7,0 \times 10^5(a)$	$3,5 \times 10^5(b)$	$8,5 \times 10^5(a)$	$3,0 \times 10^5(b)$	$4,5 \times 10^5(a)$	$4,5 \times 10^5(a)$
C-2197	$2,9 \times 10^7(a)$	$3,6 \times 10^6(b)$	$2,8 \times 10^7(a)$	$4,0 \times 10^6(b)$	$1,1 \times 10^7(a)$	$5,6 \times 10^6(b)$	$6,4 \times 10^6(b)$	$1,1 \times 10^7(a)$

* Letras diferentes entre las columnas de maíz molido y cascarilla de arroz durante los días 7, 10, 13 y 16 indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

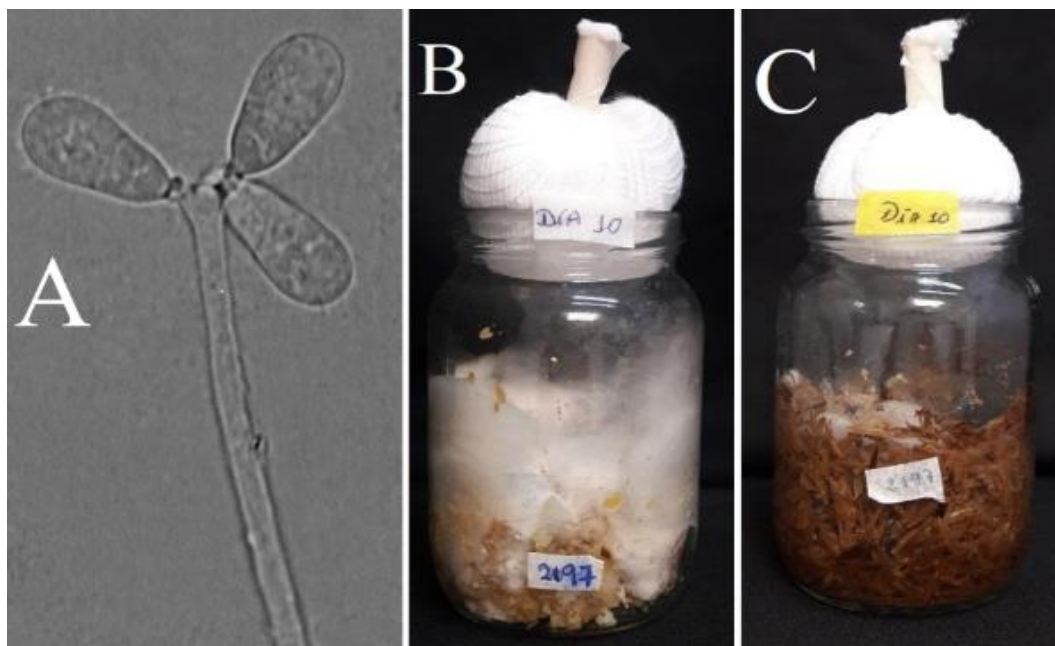


Figura 6. A) Célula conidiógena y conidios de *Arthrobotrys* sp. B) Producción de conidios de *Arthrobotrys* sp. en el sustrato de maíz molido a los 10 días de siembra. C) Producción de conidios de *Arthrobotrys* sp. en cascarilla de arroz a los 10 días de siembra.

Porcentaje de atracción y captura de *Meloidogyne* sp. por cepas fúngicas

El porcentaje de atracción y captura presentaron diferencias entre las especies de hongos asexuales evaluadas y los controles. En general los hongos lograron un promedio de 61,13% de actividad depredadora frente al 36,7% de los controles (Figura 7). Existen resultados que han demostrado a cepas fúngicas del género *Arthrobotrys* capaz de causar una tasa de mortalidad significativamente diferente a los controles, por encima del 25% (Nicola et al., 2014). Otros hongos asexuales como *Purpureocillium lilacinum* y *Arthrobotrys oligosporus*

pueden causar una tasa de mortalidad por encima del 70% (Tazi et al., 2021).

Las cepas que mayor actividad de atracción tuvieron frente a *Meloidogyne* sp., fueron las cepas de *Arthrobotrys* sp. C19-1-1 con el 73,6% y *Dactyellina* sp. C19-48 con el 77,6%. Se ha reportado que *A. oligosporus* es capaz de depredar y suprimir a juveniles de *M. incognita* en un 74% frente al 36% tratamiento control (Soliman et al., 2021). Sin embargo, la capacidad de producir sustancias con efectos nocivos para los nematodos depende de cada especie e incluso de cada aislado de hongo asexual (de Holanda et al., 2016).

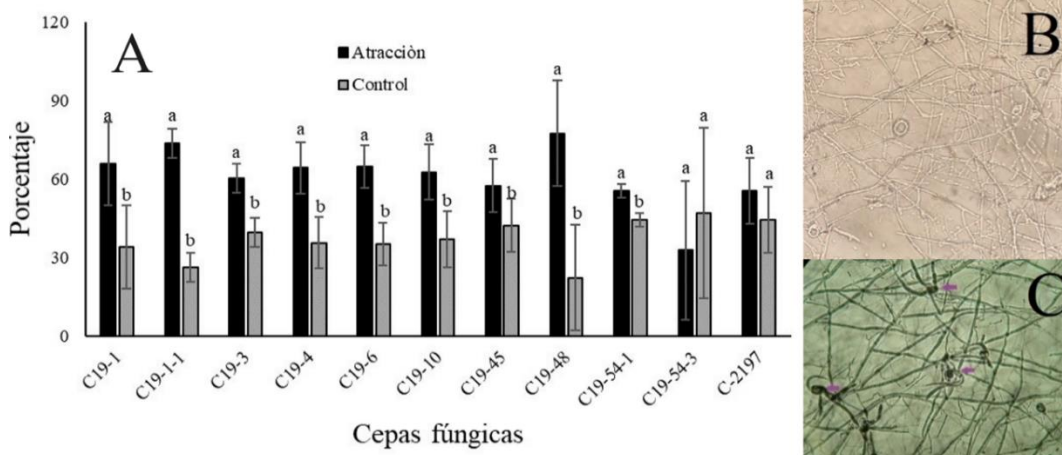


Figura 7. A) Comparación de porcentajes ± desviación estándar de la atracción de los nematodos hacia las cepas de hongos asexuales. Letras diferentes encima de las columnas indican diferencias estadísticamente significativas entre las cepas fúngicas y sus controles, según la prueba de Tukey ($p < 0.05$). B) Estructuras de captura de *Arthrobotrys* sp. C) Nematodos capturados en redes adhesivas del hongo *Arthrobotrys* sp.

En este estudio se ha demostrado la eficiencia de los hongos asexuales en la producción de hifas modificadas y especializadas para atrapar nematodos. Estos organismos pueden detectar a sus presas y después formar sus estructuras de captura (Yang et al., 2020). Este comportamiento de la morfogénesis de las estructuras de captura se puede observar en condiciones de escasez de nutrientes y en presencia de los nematodos (Wang et al., 2019). Adicional, se han documentado la capacidad que tienen los hongos asexuales en producir compuestos orgánicos volátiles para imitar señales alimenticias y sexuales, lo que mantiene a los nematodos cerca durante el proceso de infección (Kassam et al., 2021). Como resultado de la evaluación de la actividad predatora de hongos asexuales, se cultivaron en medios de cultivos empobrecidos de nutrientes, lo que mostró una gran cantidad de formación estructuras de captura. Estos resultados concuerdan con estudios donde los hongos asexuales cultivados en medio de agar harina de maíz tienden a producir más hifas modificadas y especializadas (Saxena et al., 1987) y a emplear compuestos orgánicos volátiles para potenciar la captura hacia los nematodos (Lin & Hsueh, 2021), haciendo que las hifas modificadas se forman principalmente alrededor de los nematodos capturados (Dávila & Hío, 2005).

4. Conclusiones

Es posible concluir que la capacidad de detectar nematodos entre los aislamientos de hongos asexuales puede variar enormemente, pues existen cepas de la misma especie más sensibles que otras. Con el presente estudio, se ha ampliado la comprensión sobre las especies de hongos asexuales en las diferentes localidades del Ecuador, y su influencia en el control *in vitro* de nematodos formadores de agallas. Las cepas C19-45 y C19-54-3 de hongos asexuales, evaluadas en este estudio, destacan por su potencial como agentes de biocontrol de nematodos. Esto se evidencia en su respuesta de crecimiento en los diversos medios de cultivo analizados. En contraste, las cepas C19-48 y C-2197 demostraron un marcado aumento en la esporulación cuando se cultivaron en medios con agar. En cuanto al substrato utilizado, se observó que el maíz molido, tras 16 días, favoreció una mayor esporulación de las cepas en comparación con la cascarilla de arroz. Dentro de este contexto, la cepa C19-48 se destacó al presentar la mayor cantidad de conidios por mililitro. La cepa C19-1-1 exhibió la máxima actividad de captura. Este hallazgo resalta la importancia de considerar no solo la esporulación sino también la capacidad de

captura al evaluar el potencial de agentes de biocontrol. El desarrollo de estrategias de producción es un paso altamente significativo para obtener un producto eficiente en el manejo de nematodos en el suelo.

Agradecimientos

R. F. Castañeda-Ruiz agradece el apoyo del Programa sectorial de Salud Animal y Vegetal mediante el financiamiento del proyecto PS223MY003115.

Conflictos de Intereses: No hay conflictos de intereses.

Contribución de los autores: M. Vera-Morales: conceptualización, curación de datos, investigación, metodología, escritura del borrador inicial y revisión. A. Quevedo: investigación, metodología, revisión del manuscrito. S. Peñaherrera: análisis formal, investigación y software. L. Serrano: análisis formal, investigación y software. D. Sosa: análisis formal, investigación y software. M. F. Ratti: análisis formal, investigación, software y supervisión. R. F. Castañeda-Ruiz: curación de datos, investigación, metodología, escritura del borrador inicial, revisión y supervisión. F. Magdama: análisis formal, investigación, revisión y supervisión.

ORCID

M. Vera-Morales  <https://orcid.org/0000-0003-2342-6269>
 A. Quevedo  <https://orcid.org/0000-0001-5729-8643>
 S. Peñaherrera  <https://orcid.org/0000-0001-5055-4798>
 L. Serrano  <https://orcid.org/0000-0001-8450-8511>
 D. Sosa  <https://orcid.org/0000-0001-5403-9072>
 M. F. Ratti  <https://orcid.org/0000-0003-3725-8921>
 R. F. Castañeda-Ruiz  <https://orcid.org/0000-0003-0063-3265>
 F. Magdama  <https://orcid.org/0000-0003-1158-9511>

Referencias bibliográficas

- Al-Hakeem, A. M., Al-Molla, S. A., & Al-Tarjuman, J. K. (2022). Nematophagous Fungi. *Texas Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5, 37-42.
- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., & Lipman, D. J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25(17), 3389-3402. <https://doi.org/10.1093/nar/25.17.3389>
- Barker, K. R., Townshend, J. L., Bird, G. W., Thomason, I. J., & Dickson, D. W. (1986). Determining nematode population responses to control agents. En K. D. Hickey (Ed.), *Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens* (pp. 283-299). American Phytopathology Society Press, St Paul.
- Barron, G. L. (1977). *The nematode-destroying fungi*. – *Topics in Mycobiology No. 1*. University of Guelph, Ontario. Lancaster Press, Lancaster, Pennsylvania.
- Calderón, J., Miño-Castro, G., Llumiquinga, P., Abbas, M., Gutiérrez-Gutiérrez, C., Segovia-Salcedo, M., & Proaño, K. (2022). Distribution of *Meloidogyne* spp. in agricultural crops of Ecuador: A literature review (1976–2021). *CABI Reviews*, 2022. <https://doi.org/10.1079/cabreviews202217028>
- Castagnone-Sereno, P., Esparrago, G., Abad, P., Leroy, F., & Bongiovanni, M. (1995). Satellite DNA as a target for PCR-specific detection of the plant-parasitic nematode *Meloidogyne hapla*. *Current Genetics*, 28(6), 566-570. <https://doi.org/10.1007/BF00518170>
- Castañeda-Ruiz, R. F., Heredia, G., Gusmão, L. F. P., & Li, D.-W. (2016). Fungal Diversity of Central and South America. En D.-W. Li (Ed.), *Biology of Microfungi* (pp. 197-217). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29137-6_9
- Genis, J. L. (1992). Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. *Nucleic Acids Research*, 20(9), 2380. <https://doi.org/10.1093/nar/20.9.2380>

- Chávez-Arteaga, K. T., Cedeño-Moreira, Á. V., Canchignia-Martínez, H. F., & Garcés-Fiallos, F. R. (2022). Candidate rhizobacteria as plant growth-promoters and root-knot nematode controllers in tomato plants. *Scientia Agropecuaria*, 13(4), 423-432. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.038>
- Cooke, R. C., & Godfrey, B. E. S. (1964). A key to the nematode-destroying fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 47(1), 61-74. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(64\)80081-4](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(64)80081-4)
- da Silva, M. E., de Araújo, J. V., Braga, F. R., Borges, L. A., Soares, F. E. F., dos Santos Lima, W., & Guimarães, M. P. (2013). Mycelial mass production of fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* under different culture conditions. *BMC Research Notes*, 6(1), 340. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-6-340>
- Dávila, L., & Hío, J. C. (2005). Evaluación de la actividad biocontroladora de *Arthrobotrys* sp. Y *Paecilomyces* sp. Sobre *Meloidogyne javanica* in vitro y bajo condiciones de invernadero en Crisantemo (*Drepananthe grandiflora* Anderson). *Agronomía Colombiana*, 23(1), 91-101.
- de Hollanda, T., Monteiro, T. S. A., Braga, F. R., de Freitas Soares, F. E., de Mello, I. N. K., et al. (2016). Assessment of compatibility between the nematophagous fungi *Arthrobotrys robusta* and *Duddingtonia flagrans* under laboratory conditions. *Revista Iberoamericana De Micología*, 33(2), 129-130. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2015.07.001>
- Delgado, E. F., Valdez, A. T., Covarrubias, S. A., Tosi, S., & Nicola, L. (2021). Soil fungal diversity of the Aguarongo Andean Forest (Ecuador). *Biology*, 10(12), 1289. <https://doi.org/10.3390/biology10121289>
- Drechsler, C. (1937). Some Hyphomycetes that prey on free-living terricolous nematodes. *Mycologia*, 29(4), 447-552. <https://doi.org/10.1080/00275514.1937.12017222>
- Duddington, C. L. (1955). Notes on the technique of handling predacious fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 38(2), 97-103. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(55\)80021-6](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(55)80021-6)
- Elling, A. A. (2013). Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. *Phytopathology*, 103(11), 1092-1102. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-13-0019-RVW>
- Elshafie, A., Al-Mueini, R., Al-Bahry, S., Akindi, A., Mahmoud, I., & Al-Rawahi, S. (2006). Diversity and trapping efficiency of nematophagous fungi from Oman. *Phytopathologia mediterranea*, 45, 266-270. <https://doi.org/10.1400/56490>
- Flores, B. G., Ponce, I. M., Plascencia Espinosa, M. Á., Mendieta Moctezuma, A., & López y López, V. E. (2021). Advances in the biological control of phytoparasitic nematodes via the use of nematophagous fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(10), 180. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03151-x>
- Forghani, F., & Hajjhasani, A. (2020). Recent advances in the development of environmentally benign treatments to control root-knot nematodes. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.01125>
- Hsueh, Y.-P., Gronquist, M. R., Schwarz, E. M., Nath, R. D., Lee, C.-H., Gharib, S., Schroeder, F. C., & Sternberg, P. W. (2017). Nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora* mimics olfactory cues of sex and food to lure its nematode prey. *eLife*, 6, e20023. <https://doi.org/10.7554/eLife.20023>
- Hussain, M., Mañasová, M., Zouhar, M., & Ryšánek, P. (2020). Comparative virulence assessment of different nematophagous fungi and chemicals against northern root-knot nematodes, *Meloidogyne hapla*, on carrots. *Pakistan J. Zool*, 52(1), 199-206. <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/2020.52.1.199.206>
- Hussain, M., Zouhar, M., & Ryšánek, P. (2018). Attraction of root knot nematodes, *Meloidogyne incognita*, to living mycelium of nematophagous fungi. *Pakistan Journal of Zoology*, 50(6), 2073-2078. <https://doi.org/10.17582/journal.pjz/2018.50.6.2073.2078>
- Jiang, X., Xiang, M., & Liu, X. (2017). Nematode-trapping fungi. *Microbiology Spectrum*, 5(1), 5.1.10. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0022-2016>
- Karakaş, M. (2020). Nematode-destroying fungi: Infection structures, interaction mechanisms and biocontrol. *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series C Biology*, 29(1), Article 1.
- Kassam, R., Yadav, J., Chawla, G., Kundu, A., Hada, A., Jaiswal, N., Bollinedi, H., Kamil, D., Devi, P., & Rao, U. (2021). Identification, characterization, and evaluation of nematophagous fungal species of *Arthrobotrys* and *Tolypocladium* for the management of *Meloidogyne incognita*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 790223.
- Khan, A., Ahmad, G., Haris, M., & Khan, A. A. (2023). Bio-organics management: Novel strategies to manage root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* pest of vegetable crops. *Gesunde Pflanzen*, 75(1), 193-209. <https://doi.org/10.1007/s10343-022-00679-2>
- Kumar, D., Maurya, N., Kumar, P., Singh, H., & Addy, S. K. (2015). Assessment of germination and carnivorous activities of a nematode-trapping fungus *Arthrobotrys dactyloides* in fungistatic and fungicidal soil environment. *Biological Control*, 82, 76-85. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.12.014>
- Li, J., Hyde, K., & Zhang, K.-Q. (2014). Methodology for studying nematophagous fungi. En K.-Q. Zhang & K. D. Hyde (Eds.), *Nematode-Trapping Fungi* (pp. 13-40). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8730-7_2
- Lin, H.-C., & Hsueh, Y.-P. (2021). Laboratory maintenance and culturing of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Current Protocols*, 1(2), e41. <https://doi.org/10.1002/cpz1.141>
- Liu, Q., Li, D., Jiang, K., Zhang, K.-Q., & Yang, J. (2022). AoPEX1 and AoPEX6 are required for mycelial growth, conidiation, stress response, fatty acid utilization, and trap formation in *Arthrobotrys oligospora*. *Microbiology Spectrum*, 10(2), e00275-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00275-22>
- Magan, (2007). Fungi in extreme environments. En C. P. Kubicek & I. S. Druzhinina (Eds.), *Environmental and Microbial Relationships* (pp. 85-103). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-540-71840-6_6
- Martins, P. L., Nozaki, M. de H., Barbosa, B. F. F., dos Santos, J. M., & Barbosa, J. C. (2009). Crescimento e esporulação de duas espécies de *Arthrobotrys corda* em diferentes meios de cultura e dois ambientes. *Bioscience Journal*, 25(2). <http://acervodigital.unesp.br/handle/11449/1400>
- Matsushima, T. (1971). *Microfungi of the Solomon Islands and Papua-New Guinea*. Kobe, Japan.
- Matsushima, T. (1975). *Icones microfungorum a Matsushima lectorum*. Nippon Printing & Publishing Co., Osaka, Japan. p. 209.
- Moosavi, M. R., & Zare, R. (2012). Fungi as biological control agents of plant-parasitic nematodes. En J. M. Mérillon & K. G. Ramawat (Eds.), *Plant Defence: Biological Control* (pp. 67-107). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1933-0_4
- Mukhtar, T., Hussain, M. A., Kayani, M. Z., & Aslam, M. N. (2014). Evaluation of resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in okra cultivars. *Crop Protection*, 56, 25-30. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.10.019>
- Nagaraj, G., Kannan, R., Raguchander, T., Narayanan, S., & Saravanakumar, D. (2024). Nematicidal action of *Clonostachys rosea* against *Meloidogyne incognita*: In-vitro and in-silico analyses. *Journal of Taibah University for Science*, 18(1), 2288723. <https://doi.org/10.1080/16583655.2023.2288723>
- Nicola, L., Tosi, S., & Savini, D. (2014). In vitro evaluation of nematophagous activity of fungal isolates. *Journal of Basic Microbiology*, 54(1), 1-5. <https://doi.org/10.1002/jbom.201200431>
- Orozco, M., Jiménez, A., Acuña, O., & Álvarez, V. (2015). Determinación del crecimiento de hongos nematófagos en diversas fuentes de carbono. *Agronomía Costarricense*, 39(2), 143-152.
- Quevedo, A., Vera-Morales, M., Espinoza-Lozano, F., Castañeda-Ruiz, R. F., Sosa del Castillo, D., & Magdama, F. (2021). Assessing the predatory activity of *Arthrobotrys oligospora* strain C-2197 as biocontrol of the root-knot nematode *Meloidogyne* spp.

- Bionatura*, 6(1), 1586-1592. <https://doi.org/10.21931/RB/2021.06.01.22>
- Rani, L., Thapa, K., Kanojia, N., Sharma, N., Singh, S., Grewal, A. S., Srivastav, A. L., & Kaushal, J. (2021). An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. *Journal of Cleaner Production*, 283, 124657. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657>
- Ritchie, B. J. (2001). Mycological media and methods. *Plant pathologist's pocketbook*, 410-431. <https://doi.org/10.1079/9780851994581.0410>
- Rubner, A. (1994). Predaceous fungi from Ecuador. *Mycotaxon*, 51, 143-151.
- Rubner, A. (1996). Revision of predacious hyphomycetes in the *Dactylella*—*Monacrosporium* complex. *Studies in Mycology* 39: 134 p.
- Saha, T., & Khan, M. (2016). Evaluation of bioformulations for management of root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) infecting tuberose. *Pakistan Journal of Zoology*, 48(3), 651-656.
- Saxena, G., Dayal, R., & Mukerji, K. G. (1987). Interaction of nematodes with nematophagous fungi: Induction of trap formation, attraction and detection of attractants. *FEMS Microbiology Ecology*, 3(6), 319-327. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1987.tb02408.x>
- Shirazi, R., Fatemy, N., & Naeimi, S. (2019). Solid-state fermentation and viability of *Pochonia chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum* on some organic substrates. *BioControl in Plant Protection*, 6(2), 1-14. <https://doi.org/10.22092/bcpp.2019.119398>
- Siddiqui, Z. A., & Aziz, S. (2024). Plant parasitic nematode-fungus interactions: Recent concepts and mechanisms. *Plant Physiology Reports*. <https://doi.org/10.1007/s40502-023-00762-4>
- Silva, J. C. P., Nunes, T. C. S., Guimarães, R. A., Pylro, V. S., Costa, L. S. A. S., Zaia, R., Campos, V. P., & Medeiros, F. H. V. (2022). Organic practices intensify the microbiome assembly and suppress root-knot nematodes. *Journal of Pest Science*, 95(2), 709-721. <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01417-9>
- Soares, F. E. de F., Sufiate, B. L., & de Queiroz, J. H. (2018). Nematophagous fungi: Far beyond the endoparasite, predator and ovidical groups. *Agriculture and Natural Resources*, 52(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.05.010>
- Soliman, M. S., El-Deriny, M. M., Ibrahim, D. S., Zakaria, H., & Ahmed, Y. (2021). Suppression of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato plants using the nematode trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* Fresenius. *Journal of Applied Microbiology*, 131(5), 2402-2415. <https://doi.org/10.1111/jam.15101>
- Su, H., Zhao, Y., Zhou, J., Feng, H., Jiang, D., Zhang, K.-Q., & Yang, J. (2017). Trapping devices of nematode-trapping fungi: Formation, evolution, and genomic perspectives. *Biological Reviews*, 92(1), 357-368. <https://doi.org/10.1111/brv.12233>
- Swe, A., Jeewon, R., Pointing, S. B., & Hyde, K. D. (2009). Diversity and abundance of nematode-trapping fungi from decaying litter in terrestrial, freshwater and mangrove habitats. *Biodiversity and Conservation*, 18(6), 1695-1714. <https://doi.org/10.1007/s10531-008-9553-7>
- Tapia-Vázquez, I., Montoya-Martínez, A. C., De los Santos-Villalobos, S., Ek-Ramos, M. J., Montesinos-Matías, R., & Martínez-Anaya, C. (2022). Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) a threat to agriculture in Mexico: Biology, current control strategies, and perspectives. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(2), 26. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03211-2>
- Tazi, H., Hamza, M. A., Hallouti, A., Benjilil, H., Idhmida, A., et al. (2021). Biocontrol potential of nematophagous fungi against *Meloidogyne* spp. infecting tomato. *Organic Agriculture*, 11(1), 63-71. <https://doi.org/10.1007/s13165-020-00325-z>
- Tigano, M. S., Carneiro, R. M. D. G., Jeyaprasath, A., Dickson, D. W., & Adams, B. J. (2005). Phylogeny of *Meloidogyne* spp. Based on 18S rDNA and the intergenic region of mitochondrial DNA sequences. *Nematology*, 7(6), 851-862. <https://doi.org/10.1163/156854105776186325>
- Torto, B., Cortada, L., Murungi, L. K., Haukeland, S., & Coyne, D. L. (2018). Management of cyst and root knot nematodes: A chemical ecology perspective. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(33), 8672-8678. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01940>
- Tsiafouli, M. A., Thébault, E., Sgardelis, S. P., de Ruiter, P. C., van der Putten, W. H., et al. (2015). Intensive agriculture reduces soil biodiversity across Europe. *Global Change Biology*, 21(2), 973-985. <https://doi.org/10.1111/gcb.12752>
- Vera-Morales, M., Castañeda-Ruiz, R. F., Sosa, D., Quevedo, A., Naranjo-Morán, J., Serrano, L., & Ratti, M. F. (2022). Mecanismos de captura, colonización y alimentación empleados por parásitos y predadores de nematodos. *Ecosistemas*, 31(3), Article 3. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2390>
- Vera-Morales, M., López Medina, S. E., Naranjo-Morán, J., Quevedo, A., & Ratti, M. F. (2023). Nematophagous fungi: A review of their phosphorus solubilization potential. *Microorganisms*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010137>
- Vidal-Diez de Ulzurrun, G., & Hsueh, Y.-P. (2018). Predator-prey interactions of nematode-trapping fungi and nematodes: Both sides of the coin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(9), 3939-3949. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8897-5>
- Wang, D., Ma, N., Rao, W., & Zhang, Y. (2023). Recent advances in life history transition with nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* and its application in sustainable agriculture. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 12(3), 367. <https://doi.org/10.3390/pathogens12030367>
- Wang, F.-H., Xu, Q., Wang, B., Wang, K.-Y., Xue, Y.-J., et al. (2017). Isolation, identification and characterisation of the nematophagous fungus *Arthrobotrys thaumasia* (*Monacrosporium thaumasiium*) from China. *Biocontrol Science and Technology*, 27(3), 378-392. <https://doi.org/10.1080/09583157.2017.1291908>
- Wang, J., Huang, X., Niu, S., Hu, Z., Li, H., et al. (2019). Thioredoxin1 regulates conidia formation, hyphal growth, and trap formation in the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Annals of Microbiology*, 69(12), Article 12. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01511-5>
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR Protocols* (pp. 315-322). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Yang, C.-T., Vidal-Diez de Ulzurrun, G., Gonçalves, A. P., Lin, H.-C., Chang, C.-W., et al. (2020). Natural diversity in the predatory behavior facilitates the establishment of a robust model strain for nematode-trapping fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(12), 6762-6770. <https://doi.org/10.1073/pnas.1919726117>
- Yu, Z., Mo, M., Zhang, Y., & Zhang, K.-Q. (2014). Taxonomy of nematode-trapping fungi from Orbiliaceae, Ascomycota. En K.-Q. Zhang & K. D. Hyde (Eds.), *Nematode-Trapping Fungi* (pp. 41-210). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-8730-7_3
- Zhang, K.-Q., & Hyde, K. D. (Eds.). (2014). *Nematode-Trapping Fungi*. Fungal Diversity Research Series, 23, Springer. 403 p.