Agropecuaria

Evaluación in vitro de hongos Hypocreales para el control de Pratylenchus ssp, Scutellonema ssp y Helicotylenchus ssp

In vitro evaluation of Hypocreales fungi for the control of Pratylenchus ssp, Scutellonema ssp and Helicotylenchus ssp

Castillo-Arévalo, Trinidad

Trinidad Castillo-Arévalo 1]
trinidad.castillo@ci.una.edu.ni
(UNA), Nicaragua

Revista Universitaria del Caribe
Universidad de las Regiones Autónomas de la Costa Caribe Nicaragüense, Nicaragua
ISSN: 2311-5887
ISSN-e: 2311-7346
Periodicidad: Semestral
vol. 29, núm. 02, 2022
dip@uraccan.edu.ni

Recepción: 11 Abril 2022
Aprobación: 27 Mayo 2022

URL: http://portal.amelica.org/ameli/journal/415/4153689010/

Autor de correspondencia: trinidad.castillo@ci.una.edu.ni

Resumen: Esta investigación se realizó con el objetivo de valorar la efectividad biológica de microorganismos Hypocreales, de la misma forma que la molécula Oxamil, para el control de nematodos, enemigo oculto en los cultivos de musáceas. Para ello se efectuó un experimento en laboratorio (in vitro) en el que se sometió Fitonematodos (Pratylenchus ssp, Scutellonema ssp y Helicotylenchus ssp) valorando la mortalidad de hongos entomopatógenos. Las poblaciones de nematodos fueron establecidas con hojuelas de avena enriquecido con Spirulina, en platos Petri de plástico de 90 x 14 mm con 0.3 g de hojuela de avena y 5 mL de agua destilada. Se utilizaron 0.5 g de Spirulina en el medio. Según los criterios establecidos, las cepas de Hypocreales: Trichoderma sp, Paecelomices sp, Trichoderma más Paecelomices mostraron actividad nematicida de la misma forma que el químico. Los resultados muestran que las cepas evaluadas de hongos Hypocreales indicaron buen potencial para el control de diferentes estadios de Pratylenchus ssp, Scutellonema ssp y Helicotylenchus, se logró determinar la mortalidad y parasitación de los nematodos en las cepas evaluadas. Estos datos demuestran que la cianobacteria Spirulina sp. hace que estos nematodos puedan cubrir los requerimientos nutritivos in vitro.

Palabras clave: hongos nematófagos, control biológico, Oxamil, Spirulina.

Abstract: This research was carried out with the objective of evaluating the biological effectiveness of Hypocreales microorganisms, in the same way as the Oxamyl molecule, for the control of nematodes, a hidden enemy in Musaceae crops. For this purpose, a laboratory experiment (in vitro) was carried out in which phytonematodes (Pratylenchus ssp, Scutellonema ssp, and Helicotylenchus ssp) were subjected to entomopathogenic fungal mortality. Nematode populations were established with Spirulina-enriched oat flakes in 90 x 14 mm plastic Petri dishes with 0.3 g of oat flakes and 5 mL of distilled water. 0.5 g of Spirulina was used in the medium. According to the established criteria, the Hypocreales strains: Trichoderma sp, Paecelomices sp, and Trichoderma plus Paecelomices showed nematicidal activity in the same way as the chemical. The results show that the evaluated strains of Hypocreales fungi indicated good potential for the control of different stages of Pratylenchus ssp, Scutellonema ssp, and Helicotylenchus, it was

possible to determine the mortality and parasitization of the nematodes in the evaluated strains. These data demonstrate that the cyanobacterium Spirulina sp allows these nematodes to cover their nutritional requirements in vitro.

Keywords: nematophagous fungi, biological control, Oxamyl, Spirulina.

I. Introducción

Los fitonematodos se ubican entre los fitopatógenos que provocan mayores pérdidas en el rendimiento de plantaciones de interés agrícola a nivel mundial. Los cultivos de consumo alimenticio son afectados por nematodos, los cuales, además de parasitar las raíces, son puerta de entrada a patógenos causados por bacterias, hongos y virus (Casas-Flores y Herrera-Estrella, 2007).

Nicaragua no es la excepción a esta realidad, entre los principales cultivos de importancia económica afectados por nematodos se encuentran el café, el banano, solanáceas y cucurbitáceas, en estos dos últimos el uso de nematicidas sintéticos de uso restringido por su toxicidad (Castillo-Arévalo y Jiménez-Martínez, 2020).

En Mesoamérica, Radopholus similis es el nematodo de mayor importancia económica en la mayoría de las plantaciones comerciales de musáceas, que al mismo tiempo que otros nematodos, son los responsables de la pérdida del sistema radicular de las plantas, siendo un patógeno primario del cultivo, ya que provocan pérdidas económicas estimadas entre el 10 y 50% (Pocasangre et al., 2006).

Por otro lado, en el cultivo del plátano, los nematodos de mayor importancia en Nicaragua son Pratylenchus ssp y Meloidogyne ssp, estos pueden reducir el rendimiento de una plantación hasta en un 68%, afectando la cantidad y calidad de los frutos, la reducción del rendimiento puede causar que los costos de producción superen los ingresos económicos (Castillo-Arévalo y Jiménez Martínez, 2017).

Como se indicó primero, el control de esta plaga se realiza con pesticidas sintéticos altamente residuales que, por sus daños en la salud y el ambiente, se ha restringido su uso y en algunos casos han sido eliminado del mercado (Saxena, 2004). El avance de alternativas al uso de plaguicidas biológicos ha sido una prioridad para los investigadores durante las últimas décadas. Esta línea de investigación ha tenido un crecimiento de la función de biocontroladores naturales para combatir los nematodos fitófagos de las plantas, entre ellos, el control biológico por medio de hongos entomopatógenos el cual ha confirmado tener potencial para ser utilizado en los programas de manejo (Gómez y Hidalgo, 2000).

Aunque los controladores biológicos se han aceptado por su potencial efectividad, en los experimentos sobre el uso de hongos nematófagos se han derivado resultados diferentes en numerosas investigaciones, y solamente se han tenido como referencia un reducido grupo de especies, las cuales han sido desarrolladas como fitonematodos.

Jansson & Lopez-Llorca (2004) señalan que existen limitaciones para el control de nematodos debido al escaso conocimiento sobre la efectividad de los hongos, que son precisos para establecer los elementos adecuados que afectan su eficacia como agentes biocontroladores, y proponen realizar más investigación para reducir la falta de información.

Notas de autor

1] Magister Scientiae Sanidad Vegetal, docente investigador, Universidad Nacional Agraria (UNA), Nicaragua.

trinidad.castillo@ci.una.edu.ni

II. Revisión de literatura

Algunos estudios vinculados a este tema son:

Manejo del nematodo agallador que infecta tomate por Trichoderma viride y Paecilomyces lilacinus (Goswami & Mittal, 2004).

Caracterización de aislamientos de Meloidogyne de campos de producción de arroz y trigo en Nepal (Pokharel et al., 2007).

Efectos beneficiosos para las plantas de Trichoderma y de sus genes (Hermosa et al., 2012).

Proteoma de las células atrapa nematodos del hongo Monacrosporium haptotylum (Andersson et al., 2013).

Efecto supresor de algunos agentes microbianos sobre el nematodo agallador en cultivo de berenjena infectada por Meloidogyne javanica (Mokbel & Alharbi, 2014).

III. Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de hongos del Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA), en el departamento de Rivas, en julio del 2015.

En el experimento se evaluaron cinco tratamientos, uno de ellos es el testigo, Trichoderma sp, Paecelomices sp, Trichoderma más Paecelomices Oxamil y el testigo que no se le aplicó nada.

Los hongos en estudio fueron cepas de la Universidad Nacional Agraria (UNA). Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado (DCA), donde solamente se estudió un solo factor, la mortalidad de nematodos.

Las poblaciones de nematodos fueron extraídas de raíces de cultivo de plátano de la finca Norteamérica, propiedad de la familia Pérez Alemán y procesadas en el laboratorio del IPSA, Rivas.

Las especies de nematodos identificadas fueron establecidas en platos Petri de plástico de 90 x 14 mm con hojuelas de avena enriquecido con 0.5 g Spirulina y 0.3 g de hojuela de avena en 5 mL de agua purificada. Se evaluó la mortalidad de 150 individuos por cada plato Petri respectivamente de Pratylenchus ssp, Scutellonema ssp y Helicotylenchus ssp expuestos a estos hongos y al químico. Los tratamientos con químicos se establecieron en 5 mL de agua purificada en 0.025 mL de Oxamil. Las pruebas de antagonismo se realizaron utilizando la metodología descrita por Padilla et al. (2014), Platos petri con hongos antagonistas fueron inoculados con 200 µl de una solución de esporas (5 000 a 7 500 esporas/µl), que fue distribuida en toda la placa con una espátula de Drigalski.

En los platos Petri se depositó 0,5 ml de una suspensión de agua purificada conteniendo 150 individuos del nematodo de interés. Las cajas se incubaron por cuatro días en oscuridad a 25°C. Pasado este tiempo se evaluó cada plato Petri en un microscopio Olympus BX 51 para verificar la capacidad depredadora de cada aislamiento mediante la presencia de individuos muertos y se calculó el porcentaje de mortalidad en cada repetición para cada hongo y especie de nematodo. Cada prueba fue trabajada de forma individual tanto para cada hongo como para cada especie de nematodo. Todas las pruebas se realizaron de forma independiente.

Análisis estadístico de los datos. Después de colectados los datos, estas fueron arregladas por variables en una tabla de datos en Excel, luego cada variable fue comparada entre tratamientos, efectuando un análisis de varianza, utilizando el programa de InfoStat (2020), como se muestra en la Tabla 1. El nivel de significancia usado en el análisis fue de ($p = 0.05$).

IV. Resultados y discusión

Tabla 1. Análisis de varianza porcentajes de mortalidad de nematodos

TABLA 1
Análisis de varianza porcentajes de mortalidad de nematodos

	Pratylenchus ssp	**Scutellonema ssp**	**Helicotylenchus spp**
Tratamiento	Media±ES	Media ±ES	Media ±ES
Testigo	2.18±0.16. b	2.22±0.21 b	1.95±0.21 b
Pae	98.33±0.16. a	98.41±0.21 ab	98.53±0.21 a
Tricho	98.15±0.16 ab	98.71±0.21 ab	98.22 ±0.21 ab
Pae+Tricho	98.30±0.16 ab	98.91±0.21 a	98.48±0.21 a
Oxamil	98.57±0.16 a	98.59±0.21 a	98.72±0.21 a
C.V.	10.08	10.63	10.18
p-valor	0.0576	0.0623	0.0685
F; df; n	14.03; 19; 20	11.90; 19; 20	10.69; 19; 20

ES=Error estándar; DS=Diferencia Significativa; C.V.=Coeficiente de Variación; p=Probabilidad según Duncan; F=Fisher calculado; df=Grados de libertad del error; n=Número de datos utilizados en el análisis. *Medias con letras distintas: existe diferencias significativas.

Fuente: elaboración propia

Comparación del promedio de nemátodos (Pratylenchus ssp). En el análisis de la varianza, no se observó diferencia significativa (p=≤0.0576). De manera general, se observa que Oxamil tuvo mejor control con (98.57%), seguido por Paecelomices (98.33%); continuó la mezcla de Paecelomices+Trichoderma (98.30%) y Trichoderma (98.15%).

Comparación del promedio de nemátodos (Scutellonema ssp). En el análisis de la varianza, no se observó diferencia significativa (p=≤0.0623). De manera general, se observa que Paecelomices+Trichoderma obtuvo mejor efectividad con (98.91%), luego Trichoderma (98.71%), continuó Oxamil (98.59%) y por último Paecelomices (98.41%).

Comparación del promedio de nemátodos (Helicotylenchus ssp). En el análisis de la varianza, no se observó diferencia significativa (p=≤0.0685). De manera general, se observa que el tratamiento químico obtuvo mejor resultado en el porcentaje de muerte con (98.72%), luego Paecelomices (98.53), después la mezcla Paecelomices+Trichoderma (98.48%); finalizando Trichoderma (98.22).

Estudios realizados por Hernández-Ochandía et al. (2015) clasifican a Trichoderma harzianum como controlador de nematodos adultos de Meloidogyne spp., y en huevos en una secuencia de parasitismo que concluye con la completa destrucción a las 72 horas bajo condiciones de laboratorio, relacionándose con este estudio que los resultados obtenidos fueron a las 96 horas.

Benítez et al. (2004) en su investigación Mecanismos de biocontrol de cepas de Trichoderma demuestra, al igual que en esta investigación, que es un hongo que presenta mecanismos directos e indirectos de antagonismo contra nematodos. Entre los mecanismos directos se encuentran el micoparasitismo y la producción de nematotoxinas.

Estudios realizados por Marina y Ng'endo (2020) en Influencia de los nematodos espirales (Scutellonema ssp), en el rendimiento y crecimiento de maíz bajo infestaciones de campo natural, demuestran que el hongo entomopatogeno Scutellonema ssp, ejerce función parasitaria, lo que concuerda con los resultados de esta investigación.

Del mismo modo, estudios realizados por DiLegge et al. (2019), en su investigación Un enfoque novedoso para determinar los microbios nematófagos generalistas revelan a Mortierella globalpina como un nuevo agente de biocontrol contra Meloidogyne spp, indican que las poblaciones de Caenorhabditis elegans fueron efectivamente eliminadas con la inoculación de las esporas al cultivo de nematodos. Después de la inoculación fúngica fueron monitoreados durante 72 horas a temperatura ambiente (28.8 °C ± 2 °C) hasta que el hongo colonizó completamente la placa de petri dejando solo los nematodos paralizados, relacionándose con esta investigación que los resultados de mortalidad se vieron a las 96 horas de la inoculación con los Hypocreales.

V. Conclusiones

Las cepas evaluadas de hongos Hypocreales demostraron buen potencial para el control de diferentes estadios de Pratylenchus ssp, Scutellonema ssp y Helicotylenchus. Los porcentajes obtenidos de mortalidad y antagonismo contra nematodos son similares a los apuntados en estudios similares, además se logró determinar la mortalidad y parasitación de los nematodos en las cepas evaluadas.

Los resultados de esta investigación deben ser evaluados en parcelas experimentales en campo y estudiar las toxinas que producen los entomopatógenos estudiados mediante biología molecular y así descubrir las enzimas que producen para matar los nematodos. Estos datos demuestran que la cianobacteria Spirulina sp. hace que estos nematodos puedan cubrir los requerimientos nutritivos in vitro.

Este estudio demuestra la mortalidad que los hongos ejercen sobre los fitonematodos estudiados 96 horas en condciones favorables en laboartorio.

Agradecimientos

El autor de esta investigación agradece a la empresa D'La granja, por la financiación económica de este estudio, y al Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria por permitir realizar el proceso de investigación en sus laboratorios.

VI. Lista de referencias

Andersson, K. M., Meerupati, T., Levander, F., Friman, E., Ahrén, D., y Tunlid, A. (2013). Proteome of the nematode-trapping cells of the fungus Monacrosporium haptotylum. Applied and environmental microbiology, 79(16), 4993-5004.

Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., y Codon, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains. International microbiology, 7(4), 249-260.

Casas-Flores, S., y Herrera-Estrella, A. (2007). Antagonism of plant parasitic nematodes by fungi. The Mycota, 6, 147-157.

Castillo-Arévalo, T., y Jiménez Martínez, E. (2017). Dinámica poblacional de insectos plagas en el cultivo del plátano (Musa paradisiaca L.) en Rivas, Nicaragua. La Calera, 17(28), 10-14. https://doi.org/10.5377/calera.v17i28.6363

Castillo-Arévalo, T., y Jiménez-Martínez, E. (2020). Incidencia y severidad de enfermedades asociadas al cultivo de plátano (Musa paradisiaca L.) en Rivas, Nicaragua. La Calera, 20(35). https://doi.org/10.5377/calera.v20i35.10319z

DiLegge, M. J., Manter, D. K., y Vivanco, J. M. (2019). A novel approach to determine generalist nematophagous microbes reveals Mortierella globalpina as a new biocontrol agent against Meloidogyne spp. nematodes. Scientific reports, 9(1), 1-9.

Gómez, L., y Hidalgo, L. (2000). Hongos nematófagos como agentes de control biológico

Goswami, B. K., y Mittal, A. (2004). Management of root-knot nematode infecting tomato by Trichoderma viride and Paecilomyces lilacinus. Indian Phytopathol, 57(2). 235-236. http://epubs.icar.org.in/ejournal/index.php/IPPJ/article/download/18081/8674

Hernández-Ochandía, D., Rodríguez, M. G., Peteira, B., Miranda, I., Arias, Y., y Martínez, B. (2015). Efecto de cepas de Trichoderma asperellum Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg sobre el desarrollo del tomate y Meloidogyne incognita (Kofoid y White) Chitwood. Revista de Protección Vegetal, 30(2), 139-147.

Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., y Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of Trichoderma and of its genes. Microbiology, 158(1), 17-25.

Jansson, H. B., y Lopez-Llorca, L. V. (2004). Control of nematodes by fungi. En D. K. Arora (ed.). Fungal biotechnology in agricultural, food, and environmental applications (pp. 205-215). Marcel Dekker.

Marina, S., y Ng'endo, R. (2020). Influence of Spiral Nematodes (Scutellonema spp.) on Maize Performance and Growth under Natural Field Infestation in Mwea, Kenya. International Journal of Agronomy, 2020, 1-9. https://doi.org/10.1155/2020/9587569

Mokbel, A. A., y Alharbi, A. A. (2014). Suppressive effect of some microbial agents on root-knot nematode,'Meloidogyne javanica'infected eggplant. Australian Journal of Crop Science, 8(10), 1428-1434.

Padilla, W. P., Aceves, M. O., y Hernández, A. E. (2014). Evaluación in vitro de hongos nematófagos en zonas arroceras de Costa Rica contra el nematodo agallador Meloidogyne javanica. Agronomía Costarricense, 38(2), 19-32. https://doi.org/10.15517/rac.v38i2.17271

Pocasangre, L. E., Menjivar, R. D., Zum Felde, A., Riveros, A. S., Rosales, F. E., y Sikora, R. A. (2006). Hongos endofíticos como agentes biológicos de control de fitonematodos en banano [sesión de conferencia]. XVI Reunión Internacional Asociación para la Cooperación en Investigaciones de Bananos en el Caribe y la América Latina (ACORBAT). Santa Catarina, Brasil.

Pokharel, R. R., Abawi, G. S., Zhang, N., Duxbury, J. M., y Smart, C. D. (2007). Characterization of isolates of Meloidogyne from rice-wheat production fields in Nepal. Journal of nematology, 39(3), 221-230. https://journals.flvc.org/jon/article/view/67726/65394

Saxena, G. (2004). Biocontrol of nematode-borne diseases in vegetable crops. En K.G. Mukerji (ed.). Fruit and vegetable diseases (pp. 397-450). Springer.