

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

“EFECTIVIDAD DE *Paecilomyces lilacinus* PARA EL CONTROL BIOLÓGICO  
DEL NEMATODO AGALLADOR (*Meloidogyne sp.*)”

TESIS

Presentada a la  
Honorable Junta Directiva  
de la  
Facultad de Agronomía  
de la  
Universidad de San Carlos de Guatemala

P O R

RIGOBERTO RUCUCH LOPEZ

En el acto de investidura como:

INGENIERO AGRONOMO

En el Grado Académico de:

LICENCIADO EN CIENCIAS AGRICOLAS

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 1985

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

D. L.  
01  
T(63)  
C. 3

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**RECTOR**

**Dr. EDUARDO MEYER MALDONADO**

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA**

DECANO:	Ing. Agr. César A. Castañeda S.
VOCAL PRIMERO:	Ing. Agr. Oscar René Leiva R.
VOCAL SEGUNDO:	Ing. Agr. Jorge Sandoval I.
VOCAL TERCERO:	
VOCAL CUARTO:	P.A. Leopoldo Jordán
VOCAL QUINTO:	P.A. Axel Gómez Chavarry
SECRETARIO:	Ing. Agr. Luis Alberto Castañeda T.

**TRIBUNAL QUE REALIZO EL EXAMEN GENERAL PRIVADO**

DECANO:	Ing. Agr. César A. Castañeda S.
EXAMINADOR:	Ing. Agr. Gustavo Méndez
EXAMINADOR:	Ing. Agr. Hugo Tobías
EXAMINADOR:	Ing. Agr. German Franz Álvarez Hill
SECRETARIO:	Ing. Agr. Rodolfo Albizúrez P.



Referencia AT-373-85

Asunto

FACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

18 de noviembre de 1985

Ingeniero Agrónomo  
César Castañeda  
Decano Fac. Agronomía

Señor Decano:

En base a la designación hecha por esa Decanatura, me permito informarle que procedí a asesorar y revisar el escrito del trabajo de tesis: "EFECTIVIDAD DE Paecilomyces lilacinus PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMATODO AGALLADOR (Meloidogyne sp.)" desarrollado por el estudiante Rigoberto Rucuch López, carnet No. 79-10021.

En la presente investigación, se presenta información básica, valiosa para continuar investigando en la línea - del control biológico como un componente del Manejo Integrado de Plagas.

Esta investigación fue realizada con el estricto apego a los procedimientos científicos; por lo que recomiendo su aprobación para que sea aceptada como trabajo de tesis de graduación en esta Facultad.

Atentamente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Agr.  MSc. Edil Rodríguez Q.  
ASESOR

cc. archivo

ER/nlzm

Guatemala,  
Noviembre de 1985.

HONORABLE JUNTA DIRECTIVA  
HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado: " EFECTIVIDAD DE Paecilomyces lilacinus PARA EL CONTROL BIOLOGICO DEL NEMATODO AGALLADOR (Meloidogyne sp.)."

Presentándolo como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo, en el grado académico de Licenciado en -- Ciencias Agrícolas.

Atentamente



---

P.A. Rigoberto Rucnah-López

*ACTO QUE DEDICO*

*A DIOS.*

*SUPREMO CREADOR, DE BONDAD INFINITA.*

*A MI PADRE:*

*PEDRO RUCUCH CH.*

*A LA MEMORIA DE MI  
ADORADA MADRE:*

*VICTORIANA LOPEZ DE RUCUCH.*

*A MIS HERMANOS:*

*EN ESPECIAL A MANUELA (Q.E.P.D.) Y JUAN (Q.E.P.D.).*

*A MIS SOBRINOS*

*A MI FAMILIA EN GENERAL*

*A MIS AMIGOS*

ESTA TESIS LA DEDICO

- A: MI PATRIA GUATEMALA.
- A: MI QUERIDO TECPAN GUATEMALA.
- A: LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.
- A: LA FACULTAD DE AGRONOMIA.
- AL: INSTITUTO TECNICO DE AGRICULTURA.
- A: LA PROMOCION DE PERITOS AGRONOMOS 1976-1978.
- A: MIS COMPAÑEROS DE PROMOCION DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA.
- AL: AGRICULTOR GUATEMALTECO

*TODO AQUEL que está comprometido en el cultivo de la ciencia, llega a convencerse de que en las leyes del Universo está manifiesto un espíritu, infinitamente superior al del hombre, y que ante el cual nosotros, con nuestros poderes, debemos sentirnos humildes.*

*Albert Einstein.*

## AGRADECIMIENTOS

- A: *Mi asesor Ing. Agr. MSc. Edil R. Rodríguez Q., por su dedicación en el desarrollo del presente trabajo de investigación.*
- AL: *Ing. Agr. MSc. Lauriano Figueroa Quiñónez, por su interés y colaboración para la conducción de esta tesis.*
- A LA: *Sub-Area de Protección de Plantas y su coordinador, Ing. Agr. Amílcar Gutiérrez.*
- A LA: *Sub-Area de Estadística y Cómputo, especialmente a los Ings. Agrs. Marino Barrientos y Víctor Alvarez Cajas, por sus valiosas recomendaciones.*
- AL: *Ing. Agr. German Franz Alvarez Hill, por su apoyo moral y colaboración en la investigación.*
- A LOS: *Ings. Agrs. I. Mario F. Chonay, Walter Robledo, Rony Espinoza y Leonardo Contreras Ralda, por el compañerismo y ayuda desinteresada que me brindaron.*
- A: *Todas aquellas personas que hicieron posible la realización del presente trabajo.*

# CONTENIDO

	Página
I. RESUMEN .....	1
II. INTRODUCCION.....	3
III. OBJETIVOS .....	5
IV. HIPOTESIS.....	7
V. REVISION DE LITERATURA.....	9
VI. METODOLOGIA .....	19
VI.1. Localización del estudio	
VI.2. Descripción del área experimental	
VI.3. Determinación del mejor medio de cultivo para la reproducción masiva del hongo	
VI.4. Evaluación de la efectividad de control de <u>Paecilomyces lilacinus</u> sobre <u>Meloidogyne sp.</u> en invernadero	
VI.5. Evaluación de la efectividad de control de <u>Paecilomyces lilacinus</u> sobre <u>Meloidogyne sp.</u> en campo	
VII. RESULTADOS.....	25
VII.1. Determinación del mejor medio de cultivo para la reproducción masiva del hongo	
VII.2. Evaluación de la efectividad de control de <u>Paecilomyces lilacinus</u> en invernadero	
VII.3. Evaluación de la efectividad de control de <u>Paecilomyces lilacinus</u> en campo	
VIII. DISCUSION DE RESULTADOS.....	33
IX. CONCLUSIONES .....	37
X. RECOMENDACIONES.....	39
XI. APENDICE.....	41
XII. BIBLIOGRAFIA.....	47

## INDICE DE CUADROS

		Página
CUADRO 1.	Producción de esporas ( $\times 10^9$ )/cc. del hongo <u>Paecilomyces lilacinus</u> a temperatura ambiente, con luz natural, en cuatro medios de cultivo .....	25
CUADRO 2.	Análisis de varianza del número de esporas/cc. del hongo <u>Paecilomyces lilacinus</u> .....	25
CUADRO 3.	Comparación de medias del número de esporas/cc de <u>Paecilomyces lilacinus</u> en cuatro medios de cultivo, a temperatura ambiente y luz natural .....	26
CUADRO 4.	Resultados de altura, peso e índice de agallamiento de seis tratamientos en plantas de tomate, en invernadero .....	27
CUADRO 5.	Análisis de varianza de alturas (cms) de plantas de tomate, de seis tratamientos .....	28
CUADRO 6.	Análisis de varianza de peso (grs) de plantas de tomate, de seis tratamientos .....	28
CUADRO 7.	Análisis de varianza del índice de agallamiento (Escala 0-10) en plantas de tomate, de seis tratamientos. ....	28
CUADRO 8.	Comparaciones Ortogonales aplicadas a medias de altura, peso e índice de agallamiento, de seis tratamientos en invernadero .....	29
CUADRO 9.	Rendimiento de fruto de tomate (Kgs), de seis tratamientos en campo. ....	31
CUADRO 10.	Análisis de varianza de rendimiento (Kgs) de tomate, de seis tratamientos en campo .....	31

## INDICE DE FIGURAS

		Página
FIGURA 1.	Ciclo de la enfermedad de agallas causada por el género <u>Meloidogyne sp</u> .....	43
FIGURA 2.	Esquemas valorativos de severidad del daño sobre las raíces causado por nemátodos del tipo <u>Meloidogyne</u> .....	45

## I. RESUMEN

Cuando se trata sobre el tema de control integrado de plagas, surge como un importante componente el control natural de las mismas, éste método de control poco practicado en nuestro medio, constituye una sustitución parcial del control químico de plagas y además contribuye en gran manera a la fitosanidad de los cultivos en el país.

En lo particular, para el control del nemátodo de las agallas *Meloidogyne sp.* se ha descubierto en el Perú, un hongo Deuteromycete *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson, que ha sido demostrado ser un agente potencial de control biológico.

El presente trabajo tuvo como objetivos: a) Determinar el mejor medio de cultivo para la reproducción masiva del hongo *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson en laboratorio, mediante el uso de granos básicos como el arroz, trigo, sorgo y maíz,. b) Evaluar la efectividad de control de *Paecilomyces lilacinus* sobre *Meloidogyne sp.* en el invernadero y en el campo, utilizando plantas de tomate (*Lycopersicum esculentum*).

Para cumplir con los objetivos anteriores, primeramente se incrementó el inóculo procedente del Perú por medio de transferencias en tubos de ensayo y cajas de petri conteniendo ambos papa-dextrosa-agar (PDA).

En seguida se utilizaron granos de arroz, trigo, sorgo y maíz en frascos erlenmeyer de 125 mls, agregando a cada frasco 30 grs. de medio de cultivo, luego esterilizados por 30 minutos de 120°C y a 18 lbs, de presión en autoclave.

Posteriormente se hizo la siembra del hongo en la cámara aséptica; se hicieron cuatro repeticiones para cada medio; colocando los frascos al medio ambiente y a los 14 días se hizo el conteo de esporas/cc.

En el invernadero se sembraron plantas de tomate en macetas, utilizando seis tratamientos, la inoculación del hongo fue en dos formas: una con grano de arroz infestado en dosis de 3 grs. y 4.5 grs/planta y la otra forma con 10 mls. de suspensión de esporas/planta, los otros tratamientos fueron con nematicida y el testigo. La inoculación del hongo fue al momento del trasplante, depositando los granos infestados y la suspensión de esporas alrededor de las raíces.

En el campo el ensayo también fue con plantas de tomate, estableciéndose seis tratamientos, la inoculación del hongo fue en dos formas: una con grano de arroz infestado en dosis de 3 grs/postura y la otra forma fue sumergiendo las raíces en una suspensión de esporas, ésto se efectuó al momento del trasplante; los tratamientos con nematicidas y materia orgánica se efectuaron a los 6 días después del trasplante.

Estadísticamente se estableció que el mejor medio de cultivo fue el arroz, seguido

indistintamente de los granos de sorgo, maíz y trigo, con la desventaja de que estos granos tienen que ser quebrados para lograr un buen crecimiento del hongo.

También se estableció en el invernadero que el tratamiento que presentó mayor desarrollo de plantas y menor índice de agallamiento fue con las dosis de 4.5 grs/planta de arroz infestado, seguido de 3 grs/planta.

No se encontró efecto significativo en los tratamientos de campo, debido a una baja población de nemátodos y además que no hubo explosión de la población en el transcurso del cultivo.

## II. INTRODUCCION

En la actualidad con los avances de la tecnología la agricultura ha entrado a una etapa de intensificación, la aplicación de las técnicas tales como el uso de pesticidas agroquímicos, se hacen con el objeto de obtener los más altos rendimientos. Esta intensificación ha traído como consecuencia la contaminación del ambiente por el uso desmedido de los mismos.

En Guatemala así como en muchos países, la producción de cultivos económicamente importantes, es afectada en manera considerable por las infestaciones del nemátodo agallador Meloidogyne sp., que causa agallas en las raíces, éste microorganismo fitoparásito disminuye el crecimiento de las plantas cuando la infestación es severa. Constituye el mayor grupo de nemátodos que afectan la producción del mundo; su importancia estriba en su distribución mundial, su amplitud en el rango de hospedantes y por formar un complejo de enfermedades al interactuar con otros microorganismos fitopatógenos, tales como: hongos, bacterias y virus.

Por otra parte, experimentos de campo han confirmado un control biológico efectivo para el nemátodo de las agallas, como parte de un sistema de Control Integrado, por medio del hongo Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson, perteneciente al grupo de los Deuteromycetes u Hongos Imperfectos, que fue descubierto en el año de 1978 en el Centro Internacional de la Papa (CIP), en Lima, Perú.

Inicialmente fue aislado de masas de huevos de Meloidogyne encontradas en una raíz de papa infectada, procedente de Huánuco, Perú; según los datos del descubrimiento indican que el hongo penetra los huevos del nemátodo destruyendo el embrión y también ataca y crece en el interior de las hembras en desarrollo causando su muerte (14).

El presente trabajo de investigación tuvo como finalidad determinar los granos básicos más apropiados y económicos como fuentes de inóculo para la reproducción masiva del hongo Paecilomyces lilacinus y determinar la efectividad de control del hongo sobre el nemátodo de las agallas (Meloidogyne sp.) tanto en invernadero como en el campo, en plantas de tomate (Lycopersicum esculentum).

Los experimentos de laboratorio e invernadero se llevaron a cabo en las instalaciones de la Facultad de Agronomía y el experimento de campo se efectuó en el Instituto Técnico de Agricultura (ITA), Bárcena, Villa Nueva, departamento de Guatemala.

### III. OBJETIVOS:

- a. Determinar el mejor medio de cultivo para la reproducción masiva del hongo Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson en laboratorio, mediante el uso de granos básicos como el arroz, trigo, sorgo y maíz.
  
- b. Evaluar la efectividad de control de Paecilomyces lilacinus sobre Meloidogyne sp en el invernadero y en el campo, utilizando plantas de tomate (Lycopersicum esculentum).

#### IV. HIPOTESIS

- a. Todos los medios de cultivo a evaluar son indistintamente adecuados para la reproducción masiva de Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson.
  
- b. La aplicación de Paecilomyces lilacinus sobre Meloidogyne sp. disminuye el índice de agallamiento en las plantas de tomate, tanto en invernadero como en el campo.

## V. REVISION DE LITERATURA

El campo del control biológico ofrece buenas alternativas por su naturaleza misma y en cuanto a las condiciones de rentabilidad del cultivo. Al respecto, Paul de Bach (4) explica que el control biológico cuando es considerado desde un punto de vista ecológico como una fase del control natural, puede definirse como "La acción de parásitos, predadores, o patógenos para mantener la densidad de población de otro organismo a un promedio más bajo que el que existiría en su ausencia".

Según Calvert (1979) los requisitos básicos para lograr la mayor efectividad de los agentes microbiológicos, son:

1. El conocimiento de la biología, ecología, fenología y compartimiento del hospedante, es necesario para determinar cuándo se debe de aplicar un patógeno para su efectividad máxima.
2. El patógeno escogido debe ser seguro de usar, fácil de manejar, relativamente selectivo y suficientemente virulento para controlar su hospedante efectivamente.
3. El método de aplicación debe resultar en un persistente depósito letal con una distribución uniforme, el cual proveerá un control adecuado de la plaga.
4. Los beneficios obtenidos con el patógeno deben de justificar su uso.  
Citado por Rodas C. (23).

### Control biológico de los nemátodos.

La literatura reporta alrededor de 50 especies de hongos que capturan y consumen nemátodos. Las esporas de algunos hongos parásitos son ingeridos por el nemátodo, mientras que otros hongos los atrapan por diversos medios, tales como un material pegajoso que se adhiere al micelio. La fisiología de los hongos depredadores, sobre todo lo que inducen a la formación de trampas, tal como Arthrobotrys conoides, han sido estudiados por micólogos y microbiólogos (20).

Varios hongos parasitan a los nemátodos, los capturan o destruyen en una u otra forma. Drechsler ha reportado muchos datos relacionados con las diversas formas de acción (8).

Sayre (1971) y Webster (1972) han revisado la literatura sobre control biológico de nemátodos fitoparasíticos.

Dos tipos de hongos matan nemátodos: atrapadores de nemátodos y parásitos endozoicos. Entre los hongos atrapadores figuran el género Arthrobotrys, que tienen anillos contráctiles y redes

adhesivas y Dactylella que forma nudos y argollas adhesivas.

Los hongos parásitos endozoicos que infectan las especies de Meloidogyne y otros nemátodos fitoparásitos tienen esporas que se adhieren a la cutícula y geminan, formando tubos que penetran dentro del cuerpo. Un ejemplo común es Catenaria anguillulae (27).

Sayre (1980) ha sugerido que hay tres microorganismos antagónicos de los nemátodos que merecen consideración experimental porque tienen una biología única y aparecen estar funcionando como agentes de biocontrol. Ellos son:

- 1) Nematophthora gynophila Kerry & Crump, un hongo Oomyceto que parasita los quistes de Heterodera avenae Filipjev;
- 2) Dactylella oviparasitica Stirling & Mankau, un hongo que atrapa nemátodos, se ha reportado que parasita huevos de Meloidogyne sp.;
- 3) Bacillus penetrans Mankau, una bacteria parásita de Meloidogyne sp.

El hongo parásito de huevos D. oviparasitica, fue primeramente aislado de masas de huevos, tomadas de raíces enfermas de durazno, Bacillus penetrans es una bacteria que penetra el segundo estado larvario de Meloidogyne sp. Las esporas penetran la cutícula, y se multiplican dentro de la larva. Las hembras son cubiertas de esporas y producen muy pocos huevos o ninguno (25).

En 1978, un nuevo parásito que ataca al nemátodo de las agallas fue descubierto en el Centro Internacional de la Papa (CIP), en Lima, Perú, por el Dr. Parviz Jatala, quien observó una infección de un hongo en el interior de los huevos del nemátodo nodulador, tomados de una muestra de raíces infectadas de nemátodos.

Según Jatala el hongo Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson, un Deuteromycete, penetra en los huevos del nemátodo, destruye el embrión y puede también atacar e invadir hembras en desarrollo causando su muerte. El Centro Internacional de la Papa estuvo valorando este hongo como un agente potencial de control biológico después de su descubrimiento (14).

También se ha establecido que Paecilomyces lilacinus, tiene una consistente asociación con insectos, sobre cuyas superficies éste produce un micelio delgado entretejido (15).

Los experimentos preliminares de laboratorio y de invernadero demostraron que éste hongo no es fitopatógeno, además aparentemente no es dañino para el humano, otros animales, ni para el ambiente y una característica muy deseable es que puede sobrevivir por lo menos un año en el suelo y tolerar un extenso rango de suelos ácidos (21).

Sin embargo se dice que al menos una especie del género Paecilomyces ha sido reportada en producir una infección bronco-pulmonar en el hombre (18).

Originalmente fue clasificado en el género Penicillium Link como Penicillium lilacinum Thom, luego ésta especie fue reclasificada en Paecilomyces Bainier por Samson, en base a la morfología del conidióforo mientras se reconocía su similaridad a la serie Penicillium janthinellum.

Al hongo también se le ha dado otros nombres, ahora considerados en la nomenclatura como sinónimos, en parte porque tiene diverso rango de habitat y atendiendo a variables de expresión morfológica. Cuando crece sobre insectos, notables conidióforos son formados y los nombres Spicaria violacea PeCH y S. rubidopurpurea Akei fueron establecidos como resultado de una investigación.

En todas las circunstancias el hongo produce conidios de expresión distinta, de una coloración vinaceo-lila (19).

La clasificación taxonómica de Paecilomyces lilacinus es:

Reino .....	Mycota
División .....	Eumycota
Subdivisión .....	Deuteromycotina
Clase .....	Deuteromyces
Subclase .....	Hyphomycetidae
Orden .....	Moniliales
Familia .....	Moniliaceae
Género .....	Paecilomyces
Especie .....	lilacinus (2, 3, 5, 7, 9, 12)

En medios artificiales, Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson crece en forma plana, no forma micelio aéreo y produce colonias de color violeta claro a lila. En medios conteniendo azúcares, las colonias desarrollan un sistema velludo de hifas altamente ramificadas las cuales son septadas, midiendo cerca de 3  $\mu$  de diámetro. Masas de conidios son producidos sobre una u otra rama corta, irregularmente distribuidas por todas los tallos o sobre conidióforos que ramifican más separados o divergentes que Penicillium sp. Conidios formados en seco, son células individuales ovoides y hialinas.

Las cadenas de conidios se interrumpen en la preparación de montajes frescos para su observación, siendo a menudo dificultoso encontrar un conidio individual pegado a su phialide (Talco) (24).

Los datos indican que el hongo crece bien tanto en papa-dextrosa-agar, (PDA), como en medio constituido por el jugo comercial V<sub>8</sub> y CaCO<sub>3</sub>. Esporula en unas 24 horas y tiene alta capacidad reproductiva. La temperatura óptima para el crecimiento fue de 25 °C en PDA y

de 30 °C en V<sub>8</sub> con CaC O<sub>2</sub>. Esto es deseable, porque las especies de Meloidogyne que atacan la papa requieren temperaturas altas para desarrollarse (21).

Estudios recientes de 1982, confirmaron los siguientes resultados: la temperatura óptima para crecimiento radial para los aislamientos fue de 25 y 30 °C, además los mismos crecieron y esporularon bien a 35 °C.

Los aislamientos de P. lilacinus no se diferenciaron ampliamente en su habilidad para utilizar fuentes de carbono ensayados con glucosa, fructosa y sucrosa, manteniendo buen crecimiento micelial.

Los aislamientos fueron capaces de crecer medianamente bien en un medio sin alguna adición de vitaminas. La luz no tuvo efectos notables sobre el crecimiento y esporulación de los aislamientos, sin embargo el crecimiento radial de colonias fue siempre magnífico en cultivos expuestos hacia la luz continua que en alternancia de luz u oscuridad o en oscuridad continua (24).

En 1979, experimentos fueron conducidos en condiciones de laboratorio para determinar la eficiencia de P. lilacinus como agente biológico para el control de Meloidogyne incognita, los resultados indicaron que P. lilacinus infectó los huevos en un término de cinco días y destruyó el embrión, ésto se comprobó al colocar las masas de huevos de M. incognita, sobre placas de petri que contenían diversos medios de cultivo inoculados con el hongo. Las masas colocadas en agar con agua que habían sido inoculadas con P. lilacinus fueron infectadas rápidamente y en mayor porcentaje que las colocadas en otros medios. Esto se atribuye a la falta de nutrientes en el agar con agua y a la disponibilidad de los huevos como una fuente de alimento para el hongo (21).

Dunn et al (1982) demostró la habilidad de tres razas de P. lilacinus para colonizar huevos de M. incognita in vitro. Aislamientos (razas) entraron en los huevos a través de la penetración de hifas en la cáscara o cubierta de los huevos llamada cutícula. Cuando la parte apical de una hifa se puso en contacto con la superficie de un huevo, algún hinchamiento fue aparente, tal hinchamiento fue referido a un apresorio. La hifa prelfirió dentro de los huevos y eventualmente reemergió, aún cuando no fueron dados los detalles del proceso (19).

Investigadores demostraron por escudrimientos en el microscopio electrónico la capacidad de los aislamientos para colonizar huevos de nemátodo nodulador in vitro (15).

En publicaciones a principios de 1984, indican que se evaluó in vitro la capacidad de parasitismo con huevos de Meloidogyne arenaria (Neal) Chitwood de una cepa de Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson obtenida de quistes maduros de Heterodera glycines Ichinohe.

Las hifas del hongo penetraron las cascarillas de los huevos del nemátodo directamente a través de poros minúsculos formados por disolución de la capa vitelina. Los huevos invadidos se hincharon como resultado de cambios en la permeabilidad de sus cascarillas.

Una vez dentro de los huevos de las hifas se dilataron comprimiendo en su alrededor las capas de quitina y de lípidos de las cascarillas, extendiéndose por todo el contenido del huevo inclusive de las larvas en desarrollo cuyas cutículas disolvieron.

Las hifas endógenas en los huevos reemergieron pasando por las cascarillas de los mismos en cuyas superficies produjeron conidióforos con conidios encadenados. Las cascarillas de los huevos con hifas experimentaron una serie de cambios ultraestructurales. La capa vitelina se separó en tres membranas individuales cada una de grosor disparejo; también se observó vacuolación en la capa de quitina y la de lípidos desapareció casi en su totalidad.

P. lilacinus fácilmente produce abundante inóculo en forma de cadenas largas de conidios. Ha sido reportado poder degradar quitina (quitinólisis) y es fuertemente proteolítico. Esto es muy significativo dado que el cascarón del huevo de Meloidogyne incognita ha sido reportado estar hecho principalmente de proteína y quitina.

P. lilacinus ha mostrado una actividad antagónica contra bacterias y hongos, un hecho que apoya el punto de vista de que es un fuerte competidor in vivo. La germinación de conidios sin embargo, ha sido demostrado en algunos casos ser inhibido por factores micostáticos del suelo (19).

En invernadero, pruebas conducidas en Perú en plantas de papa, las masas de huevos y el número de agallas fueron reducidos hasta un 70o/o. Además arriba del 60o/o de los huevos dentro de las masas de huevos estaban infectados con el hongo, reduciendo el número de nemátodos en subsecuentes generaciones (21).

En Alabama estudios preliminares también de invernadero indicaron que P. lilacinus es efectivo en reducir infestaciones de M. arenaria, ésto fue comprobado en plantas de calabaza. Una reducción del 54o/o en el número de agallas por gramo de raíz fresca fue reportado en suelos a los cuales P. lilacinus fue adicionado en relación a un suelo sin el hongo, el mismo fue adicionado con granos de avena infestados.

El hongo fue recobrado al final de los experimentos con alta frecuencia, indicando buena habilidad competitiva y colonizadora (15).

Resultados similares de un experimento de campo en Bloques al azar indican que plantas de papa que crecieron en lotes inoculados con el hongo, tuvieron un índice de agallamiento de la raíz significativamente más bajo que el de las plantas que crecieron en lotes tratados con nematocida.

El 86o/o de las masas de huevos recolectadas de plantas que crecieron en lotes tratados con el hongo estaban infectadas, y 54.7o/o de los huevos dentro de las masas estaban destruidos.

Este fue el primer informe del uso exitoso de un hongo como control biológico de nemátodos en condiciones de campo (21).

Como un agente potencial de control biológico P. lilacinus parece tener un número de ventajas. La mayoría de reportes indican que es buen competidor en muchos suelos, aunque su distribución es cosmopolita, esta especie se encuentra con mayor frecuencia en áreas de clima cálido, particularmente en los trópicos y subtropicos (19).

En suelos tratados con algunos fungicidas, tales como benomyl, captan y PCNB, P. lilacinus ha sido establecido con alta frecuencia (15).

En experimentos más recientes conducidos en campos infestados en Malasia, Panamá, Perú, Las Filipinas, Puerto Rico y en los E.E.U.U., han indicado que P. lilacinus efectivamente controla M. incognita y actúa en mejor extensión que muchos nematicidas usados comúnmente (19).

#### Generalidades e Historia de la identificación del nemátodo de las agallas Meloidogyne sp.

Aunque hasta mediados de este siglo se reconoció a nivel mundial la importancia de los nemátodos como agentes causantes de enfermedades en las plantas; estos organismos animales ya habían sido estudiados hace más de cien años, tanto en Europa como en las islas británicas.

Estos estudios marcan 4 fechas importantes:

1743, la primera observación de un nemátodo de plantas, el nemátodo de la agalla del trigo (Anguina tritici); la década de 1850, el descubrimiento de un nemátodo formador de nódulos radicales (Meloidogyne sp.) que formaba nódulos en las raíces del pepino; el reconocimiento de que el nemátodo de la remolacha azucarera (Heterodera schachtii) dañaba a dicha planta; y poco después, la publicación del primer trabajo amplio sobre los nemátodos de vida libre (20).

Goldi (1887) encontró un nemátodo de nódulos radiculares que producía vesículas en las raíces de los cafetos en Brasil y lo denominó Meloidogyne exigua (8).

Posteriormente, la especie y el género fueron sinonimizados primero con Heterodera radicum y después con Heterodera marioni, hasta que fueron establecidos por Chitwood (1949) quien también describió o redescubrió las cuatro especies más comunes y ampliamente distribuidas:

M. incognita, M. javanica, M. arenaria y M. hapla (27).

#### Clasificación Zoológica del género Meloidogyne:

Las especies de Meloidogyne conforman una pequeña parte del Phylum Nemata (o Nemátoda) el cual incluye parásitos del hombre y los animales, parásitos de plantas y especies que viven en el suelo, el agua fresca y el mar. Pertenecen a la Clase Secernentea, Orden Tylenchida, Superfamilia Tylenchoidea y familia Meloidogynidae (Wouts, 1973) (27).

#### Ciclo de vida de los nemátodos noduladores.

El ciclo de vida del género Meloidogyne, puede ser generalizado como sigue:

Los huevos pueden estar libres en el suelo o embebidos en una matriz gelatinosa, los cuales pueden inmovilizarse al adherirse a los tejidos de la raíz de la planta hospedante (17).

Las larvas recién incubadas, criadas de los huevos, pertenecen al segundo estado larvario, se encuentran libres en el suelo como pequeños gusanos delgados, de 0.4-0.5 mm. de longitud, habiendo mudado una vez mientras estaban aún dentro del huevo (8).

Estas larvas del segundo estadio invaden las nuevas raíces generalmente en la parte apical, justo sobre la punta de las raíces, en donde hay una intensa actividad meristemática.

Ellos penetran la corteza y se establecen en el extremo anterior en contacto con el cilindro vascular (región de diferenciación del xilema), en hospedantes susceptibles, ellos inducen la formación de células gigantes (hipertrofia), de las cuales ellos se alimentan y el aumento de la división celular (hiperplasia), debido a la inyección de sustancias tóxicas; en este estadio es cuando forman generalmente una agalla.

Durante su desarrollo adicional, la larva gradualmente toma la forma de un frasco y sufre tres mudas adicionales (Taylor y Sasser 1978).

La última muda es una verdadera metamorfosis para el macho, el cual parece como un largo nemátodo filiforme, doblado dentro de la cutícula del cuarto estado larval, la hembra adulta inicialmente retiene la misma forma del último estado larval, pero mientras maduran se alargan y se convierten en periformes (17).

Los machos pueden copular con hembras durante los encuentros dentro o fuera de los tejidos de la raíz y pueden encontrarse libres en el suelo o en la proximidad de las hembras adultas (24).

Las hembras secretan una matriz gelatinosa dentro de la cual ellas introducen un número grande de huevos, generalmente de 500-1,000 pero algunas veces más (Tyler 1933a, registró una producción total de 2,882 huevos/hembra) (17).

La matriz gelatinosa protege las masas de huevo contra la tensión de la humedad. El ciclo de vida o sea de huevo a huevo varía grandemente con la temperatura y otros factores, siendo la temperatura óptima entre 25-30 oC, y una duración entre 30 y 45 días (22, 24).

Experimentos y estudios citológicos recientes han demostrado que muchos miembros del género Meloidogyne se reproducen por partenogénesis (Triantaphyllou, 1970). Solamente se conoce una especie no descrita de Carolina del Norte que se reproduce exclusivamente por anfimixis (Triantaphyllou y Hussey, 1973). Algunas otras se reproducen tanto por anfimixis como por partenogénesis meiótica.

La reproducción por partenogénesis (mitótica) es muy común en M. incognita, M. javanica, M. arenaria, algunas poblaciones de M. hapla y otras especies.

Todas las especies que se reproducen por partenogénesis tienen machos, cuyo número varía con la provisión de alimentos y otros factores. Generalmente cuando el alimento es abundante, la mayoría de las larvas se desarrollan como hembras. Cuando la alimentación es menos abundante, por ejemplo cuando hay altas infecciones o plantas viejas, un gran porcentaje de larvas se vuelven machos (27).

Walker (1965) (28) y Agrios (1973) (1) ilustraron el ciclo de la enfermedad de las agallas (ver figura No. 1 en apéndice).

#### Hábitos de Alimentación

Las larvas se alimentan en cierto grado, antes de penetrar, a expensas de las células epidérmicas de las raíces, pero una vez establecidas dentro de éstas, se convierten en parásitos sedentarios incapaces de moverse. La alimentación se limita a las células que rodean su cabeza. Bajo la influencia del estímulo que provoca la secreción que inyectan por medio del estilete, se forman las llamadas células gigantes, estrictamente hablando, éstas no son células sino masas de protoplasma, más o menos desnudas, de las que se alimentan (8).

#### Ecología de las Especies de Meloidogyne.

Las poblaciones Meloidogyne, si es en un campo para cultivos anuales susceptibles, su distribución es casi la misma que la de las raíces de la planta cultivada.

La mayoría de la población está de 5-30 cms. de profundidad.

Cuando existen plantas hospedantes susceptibles, el factor más importante en la vida de nemátodos es la temperatura del suelo (27).

Según Tyler a temperaturas inferiores a 15.4 °C, o superiores a 33.5 °C, las hembras no llegan a alcanzar la madurez (8).

El segundo factor más importante es la humedad del suelo que depende de la lluvia o la irrigación. Las larvas y los huevos mueren en suelo seco; pueden sobrevivir si hay suficiente humedad para mantener el aire del suelo con casi 100% de humedad (Peacock, 1957).

En suelos muy húmedos la emergencia de larvas puede inhibirse y el movimiento larval disminuye por falta de oxígeno.

La textura del suelo tiene una influencia importante en la densidad de las poblaciones, las larvas del nemátodo tienen que moverse a través de los poros del suelo.

Muchos nematólogos han informado que el nemátodo del nódulo de la raíz es más severo en suelos arenosos que en suelos arcillosos.

Existen controversias, posiblemente porque la textura del suelo se da solamente en términos generales. Pero existe un acuerdo general: en suelos con gran porcentaje de arcilla, el daño es mínimo; es máximo en suelos arenosos y las especies de Meloidogyne habitan una gran variedad de tipos de suelo.

Se consideran como especies de clima cálido y templado los géneros M. incognita, M. javanica, M. arenaria, que son las más comunes y M. hapla como género común de clima frío (27).

#### Rango de Hospedantes.

Los datos de estudios indican que las especies del género Meloidogyne atacan más de 2,500 especies de plantas, sin embargo sólo 4 especies de Meloidogyne tienen distribución mundial. Dentro de éstas M. incognita es la que tiene mayor rango de hospedantes (más de 2000 plantas), siendo la especie más frecuente e importante de los trópicos con un total de 64% de especies reportadas. Además en el mismo género el descubrimiento en años recientes de 4 razas, dificulta más su estudio (8, 27).

Sasser (1980) ha indicado que M. incognita y M. javanica son encontrados en suelos agrícolas en 52 y 31% respectivamente (24).

## 2.1. Interacciones con otros patógenos:

Meloidogyne adquiere importancia económica, cuando se asocia con otros microorganismos produciendo complejos etiológicos. Este género causa grandes pérdidas cuando actúa sinérgicamente con otros organismos, resultando un efecto aditivo de la patogenicidad, pueden causar la pérdida de la resistencia de las plantas a hongos o bacterias (22).

Una de las primeras interacciones de enfermedades conocidas ocurren en el algodón, tomate, y otros cultivos, entre Fusarium oxysporium (Sacc) Snyder y Meloidogyne sp. La incidencia y severidad de la marchitez por fusariosis son incrementadas en plantas infectadas de nemátodos comparadas a las libres de nemátodos (24).

## VI. METODOLOGIA

### VI.1 Localización del estudio:

En el presente estudio se efectuaron tres experimentos, dos se llevaron a cabo en la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, uno en el laboratorio y otro en el invernadero. El experimento de campo se realizó en la Sección de Hortalizas del Instituto Técnico de Agricultura (ITA), Bárcena, Villa Nueva, departamento de Guatemala.

### VI.2 Descripción del Area Experimental:

#### a. Ubicación geográfica:

El ensayo de campo se localizó en una parcela del Instituto Técnico de Agricultura, que coincide con la intersección de las coordenadas geográficas de 14°30' 15" latitud Norte y 90°36' 35" longitud Oeste y una altitud de 1400 m.s.n.m. (16).

#### b. Factores climáticos:

Según Holdridge (10) la zona ecológica corresponde a la de Bosque húmedo Subtropical (Templado).

La precipitación pluvial media es de 1,000 mm/año, caídos en un total medio de 111 días, entre los meses de mayo a octubre principalmente.

La temperatura máxima es de 24.8 °C y una mínima de 14.5 °C, con una media de 19.5 °C. Los meses más cálidos son abril y mayo y los más fríos diciembre y enero.

La humedad relativa promedio durante todo el año es de un 75% (10).

#### c. Factores edáficos:

Suelos de la serie Guatemala, textura franco-arcillosa, con un horizonte A de 24 cms. Posee un pH de 6.8, la estructura es granular en la superficie y bloques subangulares poco desarrollados en el subsuelo.

Su topografía es regular, con pendientes que oscilan entre 2-5%. Poseen un buen drenaje y una adecuada retención de humedad (26).

### VI.3 Determinación del mejor medio de cultivo para la reproducción masiva del hongo.

El aislamiento inicial de Paecilomyces lilacinus fue obtenido de una muestra de suelo proporcionado por el Dr. Parviz Jatala, del Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú.

Los granos evaluados fueron: arroz, trigo, maíz y sorgo. Los últimos tres granos fueron quebrados, ya que debido al tipo de testa que tienen, no permite el crecimiento deseable del hongo.

Para esta determinación se siguió el siguiente procedimiento:

1. Los granos se remojaron en agua por espacio de 12 horas, luego se secaron con papel toalla.
2. Los granos se colocaron en frascos erlenmeyer de 125 mls., en cantidad de 30 gramos por frasco, tapándolos con algodón y papel aluminio y se esterilizaron en autoclave a 120 °C, por 30 minutos a 18 lbs. de presión.
3. Se echó agua destilada y esterilizada de 8-10 mls. en los tubos de ensayo o cajas de petri, conteniendo cultivo puro de 14 días y luego las esporas se desprendieron con una aguja de disección.
4. Se recolectó la suspensión de esporas de los tubos de ensayo o cajas de petri y se inocularon las semillas esterilizadas con 5 mls. de la suspensión por frasco erlenmeyer, con la ayuda de una pipeta debidamente esterilizada.
5. Se dejaron los frascos erlenmeyer a temperatura ambiente debidamente sellados, agitando los diariamente para promover el crecimiento uniforme del hongo, durante 14 días, para luego hacer la evaluación (24).

A los 14 días del crecimiento fue evaluado mediante el conteo de esporas/cc. de agua, se hizo el conteo con dilución 1:1,000, bajo el microscopio compuesto, usándose el método de conteo de French y Hebert (13).

Para este caso como se trabajó en condiciones de laboratorio se usó el diseño Completamente al azar, con 4 tratamientos, es decir cada tipo de grano representó un tratamiento; y con 4 repeticiones.

La variable que se investigó fue: No. de esporas/cc.

El Análisis de resultados se hizo por medio del análisis de varianza y se aplicó la prueba de TUKEY.

#### VI.4 Evaluación de la efectividad de control de Paecilomyces lilacinus sobre Meloidogyne sp. en invernadero.

El ensayo se llevó a cabo en plantas de tomate, debido a que esta planta es susceptible al ataque del nemátodo agallador.

Las semillas de tomate variedad Roma gigante fueron colocadas en pequeños semilleros con una mezcla de suelo, posteriormente a los 8 días después de emergidas, las plántulas fueron puestas en vasos plásticos de 125 mls, conteniendo una mezcla de 50o/o de tierra, 40o/o de arena y 10o/o de materia orgánica.

Teniendo las plantas un tamaño adecuado, con 4-5 hojas verdaderas se trasplantaron a macetas de plástico con la misma mezcla de suelo de los vasos; las macetas que se usaron tenían un diámetro de 8" (20 cms). Todo el suelo mezclado usado en semillero, vasos y macetas fue esterilizado previamente.

Al momento de efectuar el trasplante se hizo la inoculación tanto del nemátodo como del hongo, para el caso del nemátodo se colocaron 6 agallas en cada planta, dispuestas alrededor de la raíz a profundidades de 6-8 cms, los hoyos fueron tapados inmediatamente.

La inoculación del hongo se efectuó en dos formas:

Una fue con granos de arroz infestado en dosis de 3 o 4.5 grs. en cada maceta según el tratamiento, aplicado alrededor de las raíces de las plantas, la otra forma de inoculación fue con suspensión de esporas, se agregaron 10 mls./maceta y se regó inmediatamente para mejorar la penetración del hongo.

La suspensión de esporas fue obtenida de cultivos puros de 14 días de P. lilacinus crecidos sobre PDA en cajas de petri, usando agua destilada esterilizada para la suspensión.

Los granos infestados fueron obtenidos por el procedimiento de laboratorio descrito anteriormente. El nematicida terbufós se aplicó a los 7 días después del trasplante, en dosis de 1 gr/planta.

Los tratamientos fueron:

1. Testigo absoluto
2. Planta + nemátodo
3. Planta + nemátodo + 3 grs. de arroz infestado.
4. Planta + nemátodo + 4,5 grs. de arroz infestado.

5. Planta + nemátodo + suspensión de esporas.
6. Planta + nemátodo + terbufós.

Por las condiciones donde se efectuó la prueba que fue en invernadero, se utilizó el Diseño completamente al azar, usando los 6 tratamientos expuestos y con 5 repeticiones.

Todas las macetas fueron colocadas en una mesa rectangular distanciadas equitativamente.

Las variables que se investigaron fueron:

- altura de la planta (en cms.).
- peso en materia seca (en grs.).
- índice de agallamiento (escala 0-10).

Transcurridas 8 semanas después de las inoculaciones, las plantas fueron cosechadas para la obtención de datos.

El índice de agallamiento fue establecido según la clasificación gráfica del nemátodo nodulador (ver figura No. 2 en apéndice).

El Análisis de resultados se hizo por medio del análisis de varianza (ANDEVA) y se efectuaron Comparaciones ortogonales.

Se establecieron diferencias entre los principales tratamientos del comportamiento del nemátodo de las agallas, para llegar a tal objetivo se hizo una tinción de raíces. Según Dropkin (11) los nemátodos dentro de los tejidos de la planta, los mismos retienen la tinción mientras que los tejidos vegetales se destiñen.

Para establecer las diferencias entre los tratamientos se prepararon soluciones de lactofenol, dos lotes de lactofenol fueron preparados. Ambos lotes contenían lo siguiente:

Ingrediente	Cantidad
Fenol . . . . .	.20 mls.
Acido láctico . . . . .	.20 mls.
Glicerina . . . . .	.40 mls.
Agua destilada . . . . .	.20 mls.

A una solución se le agregaron 5 mls, de fuccina ácida al 10/o, el otro lote se dejó sin teñir y se procedió a lo siguiente:

- Se lavaron las raíces en el chorro, luego se llevó el lactofenol teñido a ebullición en un

lugar bien ventilado y se hirvieron las raíces en la solución teñida por 1 minuto, se tuvo el cuidado de usar un recipiente grande, porque la adición de las raíces a la solución podía causar efervescencia.

- Luego se lavó el exceso de las raíces después de hervidas, seguidamente se secaron las raíces con papel toalla.
- Las raíces ya secadas se pusieron en solución de lactofenol claro hasta que las raíces fueran traslúcidas, usualmente se necesita un tiempo de 2-3 días.
- Finalmente se examinaron las raíces en glicerina bajo el estereoscopio, para preparar los montajes a analizar bajo el microscopio (11).

#### VII.5 Evaluación de la efectividad de control de Paecilomyces lilacinus sobre Meloidogyne sp. en campo.

El ensayo se llevó a cabo en el cultivo del tomate por ser una planta susceptible al ataque por el nemátodo agallador. Se cultivó la variedad Roma gigante, que es de tipo pasta o ciruelo, con un ciclo de producción de 80-90 días después del trasplante. Para su cultivo se hizo previamente un semillero con las prácticas necesarias, como fueron la preparación y desinfección del suelo; el trasplante se realizó a las 4 semanas después de haber hecho el semillero.

La inoculación del hongo se efectuó en el momento del trasplante en dos formas: una fue con grano de arroz infestado con el hongo en una dosis de 3 grs./postura, aplicado en la base de las plantas, la otra forma de inoculación fue sumergiendo las raíces en una cubeta conteniendo una suspensión de esporas, el inóculo que se utilizó se obtuvo también por el procedimiento de laboratorio.

Los nematicidas se aplicaron a los 6 días después del trasplante, el terbufós en dosis de 1gr/postura y el carbofurán 1.5 gr/postura, también la materia orgánica se aplicó hasta los 6 días en una cantidad de 1 libra/planta o postura, enterrada arriba de la planta en forma de media luna.

Los tratamientos fueron:

1. Testigo absoluto.
2. Terbufós.
3. Carbofurán.
4. Materia orgánica.
5. Grano de arroz infestado.
6. Suspensión de esporas.

En el terreno existe una pendiente del 30/o, por lo tanto se utilizó el diseño de Bloques al azar, con 4 repeticiones.

Para el establecimiento de este ensayo se utilizó el sistema de siembra de surco simple

colocando 1 planta/postura, se utilizaron 4 surcos de 15 plantas cada uno, dando una densidad de 60 plantas por parcela o unidad experimental.

Las distancias entre surcos fueron 1 m. y 0.45 m. entre plantas.

El área de ensayo fue de 913.50 m.<sup>2</sup>

El área de la unidad experimental bruta contó con 28 m.<sup>2</sup> con las medidas de 4m. de ancho por 7.0 m. de largo con calles de 1.25 metros.

El área de la parcela neta fue de 14 m.<sup>2</sup>

El análisis del índice de agallamiento, se hizo también usando la clasificación gráfica del nemátodo nodulador (ver figura No. 2 en apéndice) de Bridge y Page (6).

La variable que se investigó fue:

- rendimiento (en Kgs).

El Análisis de los resultados de rendimiento se hizo por medio del análisis de Varianza (AN-DEVA).

## VII. RESULTADOS

### VII.1 Determinación del mejor medio de cultivo para la reproducción masiva del hongo.

Para la determinación del mejor medio del cultivo, se hizo un conteo de esporas/cc. en cada uno de los tratamientos evaluados, en frascos erlenmeyer de 125 mls. a temperatura ambiente a los 14 días después de haber hecho las inoculaciones.

En el transcurso de dicha evaluación se mantuvo una temperatura ambiente media de 17.8 °C.

En el cuadro No. 1 se presenta la producción de esporas según el medio del cultivo.

CUADRO No. 1  
PRODUCCION DE ESPORAS ( $\times 10^9$ )/cc. DEL HONGO *Paecilomyces lilacinus*,  
A TEMPERATURA AMBIENTE, CON LUZ, EN CUATRO MEDIOS  
DE CULTIVO

Medio de Cultivo	Tratam. 1	Tratam. 2	Tratam. 3	Tratam. 4
Arroz	14.232	13.388	14.050	13.326
Sorgo	9.656	9.354	9.444	9.826
Maiz	9.538	9.710	9.150	9.046
Trigo	9.632	8.778	9.044	8.758

CUADRO No. 2  
ANALISIS DE VARIANZA DEL NUMERO DE ESPORAS/CC DEL HONGO  
*Paecilomyces lilacinus*

Fuentes de Var.	G.L.	Suma de C.	Cuadrado M.	F <sub>c</sub>	F <sub>t</sub>	
					0.05	0.01
Tratamientos	3	0.089254	0.0297513	134.39	3.49	5.95 ++
Error	12	0.002655	0.0002212			
Total	15	0.091909				

Nota: se usó transformación logarítmica para el análisis.

++ = Indica Diferencia altamente significativa al 0.01 respecto a F<sub>t</sub>. Coeficiente de variación = 10/o

CUADRO No. 3

COMPARACION DE MEDIAS DEL NUMERO DE ESPORAS/CC DE Paecilomyces lilacinus  
EN CUATRO MEDIOS DE CULTIVO, A TEMPERATURA AMBIENTE  
Y CON LUZ NATURAL

MEDIO DE CULTIVO	No. ESPORAS /CC	
Arroz	10.13808	a
Sorgo	9.98082	b
Maiz	9.97113	b
Trigo	9.95646	b

Nota: Las medias con la misma letra son estadísticamente iguales al 50/o de significancia.

El comparador  $W=0.0312324 \times 10^9$  esporas/cc.

En los frascos erlenmeyer donde se incrementó el inóculo en granos básicos como medios de cultivo, se dió la contaminación frecuente con Penicillium sp. y algunas veces con Aspergillus flavus.

VII.2 Evaluación de la efectividad de control de Paecilomyces lilacinus en inverdadero.

Para determinar la efectividad de control del hongo se midieron las alturas de todas las plantas, luego de cosecharlas se determinó el índice de agallamiento por la escala de Bridge y Page (figura 2) y por último se tomó el peso de las plantas en materia seca.

Los resultados de alturas (en cms), peso en materia seca (en grs) e índice de agallamiento (escala 0-10) se presentan en el cuadro No. 4; los Análisis de Varianza se presentan en los cuadros Nos. 5, 6 y 7 respectivamente.

CUADRO No. 4  
 RESULTADOS DE ALTURA, PESO E INDICE DE AGALLAMIENTO DE  
 PLANTAS DE TOMATE, DE SEIS TRATAMIENTOS EN EL INVERNADERO

TRATAMIENTO	MACETA No.	ALTURA (cms. )	PESO SECO (grs. )	INDICE DE AGALLAMIENTO (Escala 0-10)
1 TESTIGO ABSOLUTO	2	38.0	5.5	0
	4	37.5	6.2	0
	9	36.5	6.5	0
	18	41.5	7.7	0
	22	41.0	8.0	0
2 PLANTA + NEMATODO	8	39.0	3.8	5
	17	42.0	4.5	6
	21	38.0	4.5	4
	25	35.0	4.0	4
	29	44.5	6.5	8
3 GRANO INFESTADO 3 grs.	3	48.0	9.7	3
	10	42.0	7.0	4
	12	55.5	7.5	3
	19	52.0	7.5	3
	26	50.0	8.5	4
4 GRANO INFESTADO 4.5 grs.	5	61.0	10.3	4
	7	50.0	8.0	3
	11	52.0	7.8	5
	27	56.5	8.5	5
	30	52.0	9.0	3
5 SUSPENSION DE ESPORAS	13	30.5	5.3	1
	15	51.0	5.3	5
	20	42.0	7.7	2
	23	45.0	7.0	4
	28	53.5	8.0	3
5 NEMATOCIDA COUNTER (TERBUFOS)	1	31.0	5.0	2
	6	46.5	6.0	5
	14	37.5	5.3	4
	16	41.5	5.0	5
	24	42.5	8.5	5

**CUADRO No. 5**  
**ANALISIS DE VARIANZA DE ALTURA (cms.) DE PLANTAS DE TOMATE,**  
**DE SEIS TRATAMIENTOS**

Fuentes de V.	G.L.	Suma de C.	Cuadrado M.	Fc	Ft.	
					0.05	0.01
Tratamientos	5	987.567	197.5134	6.613	2.62	3.9 ++
Error	24	716.8	29.8666			
Total	29	1704.367				

++=Indica diferencia altamente significativa al 0.01 respecto a Ft. Coeficiente de Variación=12.30o/o

**CUADRO No. 6**  
**ANALISIS DE VARIANZA DE PESO (grs.) DE PLANTAS DE TOMATE,**  
**DE SEIS TRATAMIENTOS**

Fuentes de V.	G.L.	Suma de C.	Cuadrado M.	Fc	Ft.	
					0.05	0.01
Tratamientos	5	52.6457	10.52914	7.647	2.62	3.9 ++
Error	24	33.044	1.37683			
Total	29	85.6897				

++= Indica diferencia altamente significativa al 0.01 respecto a Ft. Coeficiente de Variación=17.25o/o

**CUADRO No. 7**  
**ANALISIS DE VARIANZA DEL INDICE DE AGALLAMIENTO**  
**(Escala 0-10) EN PLANTAS DE TOMATE, DE SEIS TRATAMIENTOS**

Fuentes de V.	G.L.	Suma de C.	Cuadrado M.	Fc.	Ft.	
					0.05	0.01
Tratamientos	5	6.99	1.398	19.18	2.62	3.9 ++
Error	24	1.75	0.0729			
Total	29	8.74				

Nota: Se usó transformación Raíz cuadrada para este análisis.

++= Indica diferencia altamente significativa al 0.01 respecto a Ft. Coeficiente de Variación=13.42o/o

CUADRO No. 8

COMPARACIONES ORTOGONALES APLICADAS A MEDIAS DE ALTURA,  
PESO E INDICE DE AGALLAMIENTO, DE SEIS TRATAMIENTOS  
EN INVERNADERO

COMPARACION	ALTURA	PESO	INDICE DE A.
Testigo vs. Control	+	++	++
Control biológico vs. Control químico	++	++	N.S
Grano Arroz infestado vs. Suspensión esporas	+	+	N.S
Arroz infestado 3 grs. vs. Arroz infestado 4.5 grs.	N.S	N.S	N.S

+ = Indica diferencia significativa al 0.05 respecto a Ft.

++ = Indica diferencia altamente significativa al 0.01 respecto a Ft.

N.S = Indica que no hubo diferencia significativa al 0.05 respecto a Ft.

Resultados de la Tinción de Nemátodos:

Se tomaron al azar raíces de plantas infectadas de los principales tratamientos, para ser examinados bajo el microscopio a 40X, por medio de disecciones. Se aislaron hembras y masas de huevo de *Meloidogyne sp.* para observar el desarrollo y existencia de los mismos en los tejidos de las raíces infectadas.

Tratamiento Planta + Nemátodo (Testigo):

Se observaron hembras unas más grandes que otras, presentaban masas de huevos en la parte inferior del cuerpo globoso.

Los huevos se localizaron en una membrana gelatinosa, que es característica de *Meloidogyne*. Al observar detenidamente los huevos se encontraron que unos ya estaban en el estadio L<sub>2</sub>, representaban la mayoría, aproximadamente en un 60%.

Tratamiento Grano Infestado, 3 grs:

Los huevos se encontraban en la membrana gelatinosa, se notó que los huevos estaban completos, con presencia de algunos diminutos filamentos que se atribuyó a la presencia del micelio del hongo.

Se observó bien la capa exterior envolvente de los huevos.

Observando detenidamente los huevos se comprobó también que en un 30% de los mismos se encontraba un estadio L<sub>2</sub>, o sea en estadio larval.

Tratamiento Suspensión de Esporas:

Se comprobó la presencia de la matriz gelatinosa que envolvía los huevos. Se notó rompimiento de la pared celular de los huevos, probablemente debido al parasitismo del hongo.

Los huevos se encontraban en estadio L<sub>2</sub>, en un 30o/o y la mayoría de ellos no habían iniciado este estadio.

Tratamiento Nematicida Counter (Terbufós):

Las hembras al preparar los montajes se destruían fácilmente. Aparentemente no hubo formación de la masa gelatinosa.

Habían pocas masas de huevo, las que habían al tocarlas se dispersaban con facilidad, incluso los huevos estando dentro del tejido vegetal tenían movimiento al momento de hacer las disecciones y tratar de aislarlos.

Esta dispersión dificultó mucho la preparación de montajes.

### VII.3 Evaluación de la efectividad de control de Paecilomyces lilacinus en campo.

Luego de efectuar todas las prácticas necesarias para el cultivo del tomate, así como la aplicación de cada uno de los diferentes tratamientos, se llegó a determinar el rendimiento del fruto en kilogramos de cada tratamiento.

Además se estableció el índice de agallamiento después de la cosecha.

Se hicieron 6 cortes para la cosecha, resulta muy importante dar a conocer que en las parcelas con tratamientos de grano infestado, en el primer corte la cantidad cosechada fue mínima en comparación con los otros tratamientos; en cambio en el último corte sí dieron una cantidad superior en comparación con los demás tratamientos, dándose entonces un corte atrasado.

Los resultados de rendimiento se dan a conocer en el cuadro No. 9 y el Análisis de Varianza en el cuadro No. 10.

CUADRO No. 9  
 RENDIMIENTO DE FRUTO DE TOMATE (Kgs.), DE SEIS TRATAMIENTOS  
 EN CAMPO. GUATEMALA, 1984.

Tratamientos	B L O Q U E S				Total	$\bar{y}$
	I	II	III	IV		
Testigo	26.36	29.23	33.42	30.87	119.85	29.96
Materia orgánica	31.38	31.67	33.31	27.41	123.77	30.94
Terbufós	27.69	37.90	40.74	30.87	137.20	34.30
Carbofurán	33.65	30.36	27.58	25.65	117.24	29.31
Grano infestado	29.40	32.91	29.28	27.81	119.40	29.85
Suspensión de esporas	26.22	26.39	33.77	30.82	117.20	24.30

CUADRO No. 10  
 ANALISIS DE VARIANZA DE RENDIMIENTO (Kgs.), DE TOMATE DE  
 SEIS TRATAMIENTOS EN CAMPO. GUATEMALA, 1984.

Fuentes de V.	G.L.	Suma de C.	Cuadrado M	Fc	Ft
Bloques	3	69.51		1.	0.05
Tratamientos	5	72.52	14.504	1.234	2.90 N.S
Error	15	176.32	11.754		
Total	23	318.35			

N.S. = Indica que no hubo diferencia significativa al 0.05 respecto a Ft.

Coefficiente de Variación = 11.20o/o

Luego de realizar la cosecha, se tomó 1 gr. de raíces de los diferentes tratamientos, para efectuar un análisis bajo el estereoscopio.

Al hacer el análisis del índice de agallamiento en los 6 tratamientos se observó lo siguiente:

#### Tratamiento 1, Testigo:

Se observaron pequeñas agallas, determinándose en la clasificación gráfica del índice de agallamiento en la escala 2. Se establecieron lesiones en diferentes partes de las raíces, debido a la infección por el nemátodo lesionador Pratylenchus sp. que se presentó en el área de ensayo.

#### Tratamiento 2, Materia Orgánica:

Se presentaron pequeñas agallas, pero pocas, se clasificó en la escala 1. Las lesiones también se observaron en forma clara, como en el tratamiento.

#### Tratamiento 3, Nematicida Counter (Terbufós):

No se encontraron agallas, se catalogó en la escala 0, se comprobó que este tratamiento presentó el rendimiento más alto en fruto.

#### Tratamiento 4, Nematicida Furadán (Carbofurán):

Las agallas que se encontraron eran pequeñas, difíciles de encontrar, se clasificó así en la escala 1.

#### Tratamiento 5, Grano Infestado:

No se encontraron agallas en las raíces, se clasificó en la escala 0. Las raíces en este tratamiento crecieron muy vigorosas comparadas con las raíces de los tratamientos anteriores, aparentando haber obtenido una fertilización adicional, el follaje creció normalmente.

#### Tratamiento 6, Suspensión de Esporas:

No se observaron agallas en las raíces, se catalogó en la escala 0. También en éste tratamiento, como en el anterior, las raíces se presentaron altamente vigorosas, aunque el follaje creció normalmente.

## VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

En la determinación del grano básico más apropiado como medio de cultivo para la reproducción masiva del hongo Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson, se determinó que fue el arroz el mejor medio de cultivo ya que presentó el mayor No. de esporas/cc. comparado con los otros tres medios.

Los otros tres medios evaluados (maíz, trigo y sorgo) demostraron un crecimiento inferior respecto al arroz.

Además es importante aclarar que en estos tres últimos granos, se tuvo la necesidad de quebrar los mismos para lograr una buena esporulación del hongo; y esto viene a constituir una desventaja pues el quebrado de granos representa un trabajo más, que en términos económicos aumenta el precio de uso de los tres granos en mención.

Haciendo un análisis económico de los precios por kg. de los diferentes granos evaluados, encontramos que el precio del arroz es de Q. 0.55/Kg., trigo Q. 0.40/Kg., sorgo Q. 0.35/Kg., y el maíz Q. 0.22/Kg.

Teniendo presente lo anterior, en el caso de no usar arroz, se considera el uso indistinto de los tres granos restantes.

En lo particular del maíz, es indistinto usar maíz blanco o amarillo pues mostraron una misma esporulación.

En relación a la efectividad de control del hongo P. lilacinus sobre Meloidogyne sp. se han reportado estudios muy importantes; en el Perú en pruebas preliminares de invernadero, se trataron tubérculos de papa con esporas de P. lilacinus antes de sembrarlos en un suelo infestado con M. incognita. En los tubérculos tratados con el hongo el número de masas de huevos y agallas en las raíces fueron reducidos en un 70o/o, en comparación con los tubérculos no tratados (testigo).

Adicionalmente, hasta un 60o/o de los huevos dentro de las masas de huevos fueron infectados por el hongo, reduciendo así el número de generaciones siguientes del nemátodo (14, 21).

Resultados de experimentos de invernadero en calabaza (Cucurbita pepo L.) señalaron que Paecilomyces lilacinus pudo reducir infestaciones de Meloidogyne arenaria. Todos los estudios de enmiendas con granos de avena redujeron el número de agallas por gramo de raíz fresca. La reducción mayor fue observada en suelos tratados con avenas colonizadas con Paecilomyces lilacinus.

El número de agallas por gramo de raíz en plantas provenientes del suelo tratado con gramos de avena no inoculados fue 34o/o abajo del número en el suelo sin enmienda (testigo), mientras que la reducción en suelos tratados con P. lilacinus fue de 54o/o (15).

Además otra investigación similar de invernadero en tomate (Lycopersicum esculentum Rutgers) demostró que P. lilacinus pudo reducir el crecimiento de agallas en las raíces y la reproducción de M. incognita por arriba del 50o/o. La asociación de P. lilacinus con huevos de M. incognita pudo ser observado en el microscopio a 100X.

El micelio proliferó por toda la masa de huevo y rodeó los huevos individualmente (24).

Los anteriores reportes de éxitos de control obtenidos con P. lilacinus, fueron reafirmados en el presente estudio en la evaluación de la efectividad de control en plantas de tomate en el invernadero. Se determinó que el hongo sí fue capaz en el control del nemátodo agallador (Meloidogyne sp.).

Según los análisis estadísticos se concluyó que cualquiera de las dos dosis de inoculación del hongo en grano de arroz infestado, ya sea de 4.5 o 3 grs/planta son convenientes, además la aplicación de la suspensión de esporas en 10 mls./planta mostró buen resultado, aunque el promedio más alto de desarrollo de las plantas fue con la aplicación de 4.5 grs/planta de grano infestado, también se notó que con la aplicación de 10 mls/planta de la suspensión de esporas se obtuvo la menor media en el índice de agallamiento.

En experimentos de campo, indican que plantas de papa que crecieron en lotes inoculados con P. lilacinus, tuvieron un índice de agallas de la raíz significativamente más abajo que el de las plantas de papa que crecieron en lotes tratados con Temik 10o/o G, Nematicur 5o/o G, Furadan 5o/o G y materia orgánica. El 86o/o de las masas de huevos recolectadas de plantas que crecieron en los lotes tratados con el hongo estaban infectadas y el 54.7o/o de los huevos dentro de las masas fueron destruidos (14, 21).

También en experimento de campo en tomate "Rutgers" se demostró que P. lilacinus pudo sobrevivir en las condiciones naturales del medio ambiente y efectivamente redujo el número de agallas de la raíz por un 50o/o (24).

En la evaluación de la efectividad de control en el campo, según los análisis de rendimiento, no se presentaron diferencias significativas en los seis tratamientos aplicados, debido a que había baja población de nemátodos en la parcela de ensayo, únicamente se observaron pequeñas agallas en los tratamientos con carbofuran, materia orgánica y el testigo; además de que no hubo una explosión de la población en el tiempo de cultivo; cabe mencionar que fue cultivo de tomate en invierno.

Sin embargo se comprobó que en los dos tratamientos con el hongo en campo, las plantas mostraron un crecimiento vigoroso en sus tallos y raíces, en tanto que el follaje tuvo un desarrollo normal respecto a los demás tratamientos.

## IX. CONCLUSIONES

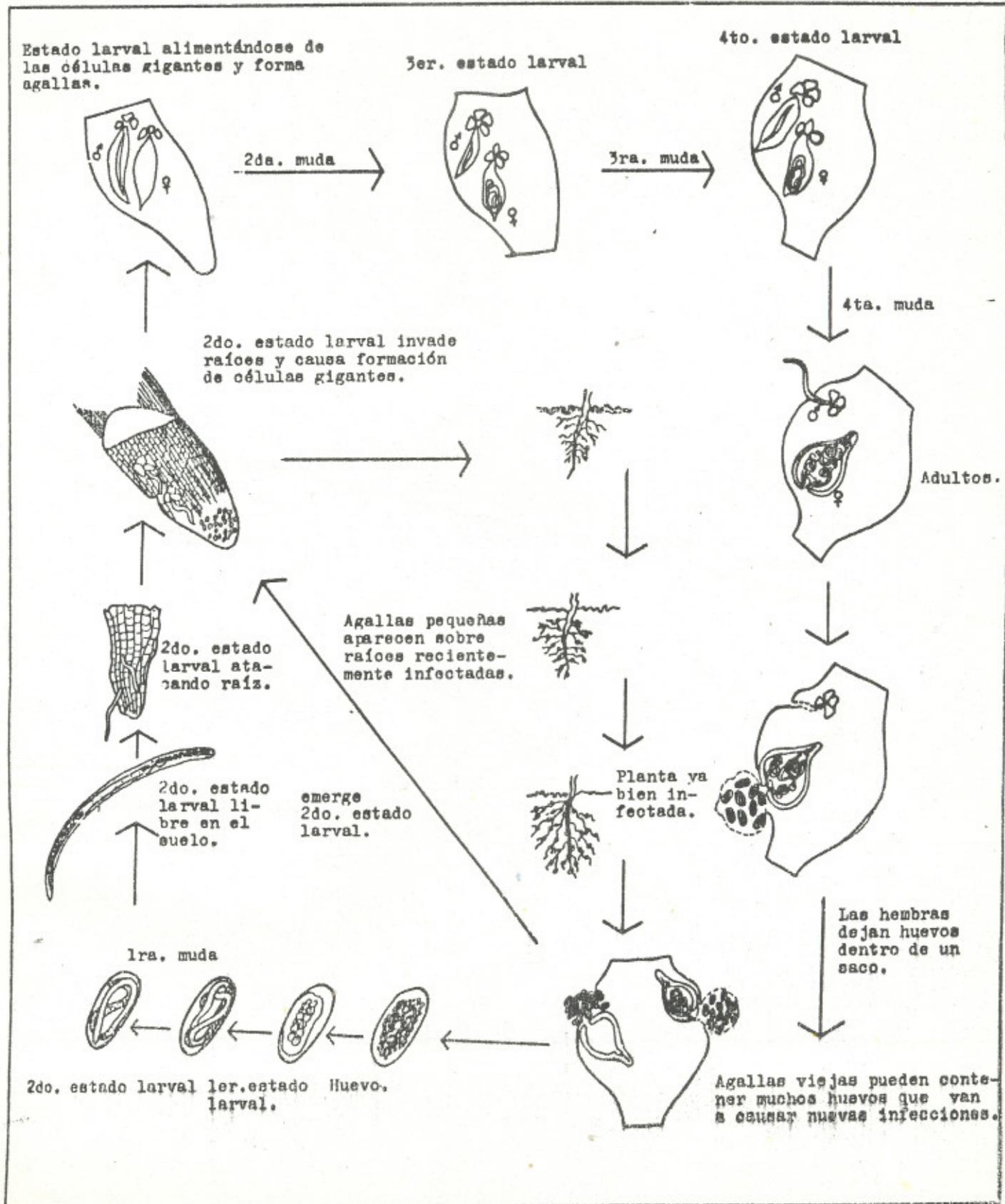
1. De acuerdo al análisis estadístico se comprobó que el mejor medio de cultivo para la reproducción masiva de Paecilomyces lilacinus es el grano de arroz, seguido indistintamente de los tres granos restantes: sorgo, maíz o trigo; con la condición de que tienen que ser quebrados.
2. En la evaluación de la efectividad de control de Paecilomyces lilacinus sobre Meloidogyne sp. en tomate en el invernadero, se concluyó que es mejor usar la dosis de 4.5 grs/planta de grano de arroz infestado, seguido de 3 grs/planta y por último la aplicación de 10 mls/planta de suspensión de esporas.
3. En el experimento de campo, también sobre la evaluación de la efectividad de control del hongo en el cultivo del tomate, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos, solamente se observó un desarrollo radicular vigoroso en los tratamientos de 3 grs/postura de grano infestado y la sumersión de las raíces en una suspensión de esporas al momento del trasplante.

## X. RECOMENDACIONES

1. Al usar los granos básicos como medios de cultivo para la reproducción masiva de P. lilacinus, definitivamente se recomienda el uso del arroz, por presentar alta esporulación.
2. Al no hacer uso de arroz como medio de cultivo, se puede usar sorgo o maíz o trigo indistintamente, en el entendido de que tienen que ser granos quebrados.
3. Realizar experimentos de invernadero con otros cultivos susceptibles a Meloidogyne sp. , mediante la aplicación de P. lilacinus.
4. Determinar la efectividad de control de P. lilacinus en el campo en cultivos comerciales afectados por Meloidogyne sp.
5. Realizar ensayos de campo en el cultivo del tomate en otras zonas con el hongo Paecilomyces lilacinus. (Thom) Samson, diferentes a la zona subtropical (clima templado).

**XI. APENDICE**

# CICLO DE LA ENFERMEDAD DE AGALLAS CAUSADA POR EL GENERO MELOIDOGYNE s.pp



ESQUEMAS VALORATIVOS DE SEVERIDAD DEL DAÑO SOBRE LAS RAICES CAUSADO POR NEMATODOS DEL TIPO Meloidogyne SEGUN BRIDGE, J. y PAGE, S.L.J. (6)

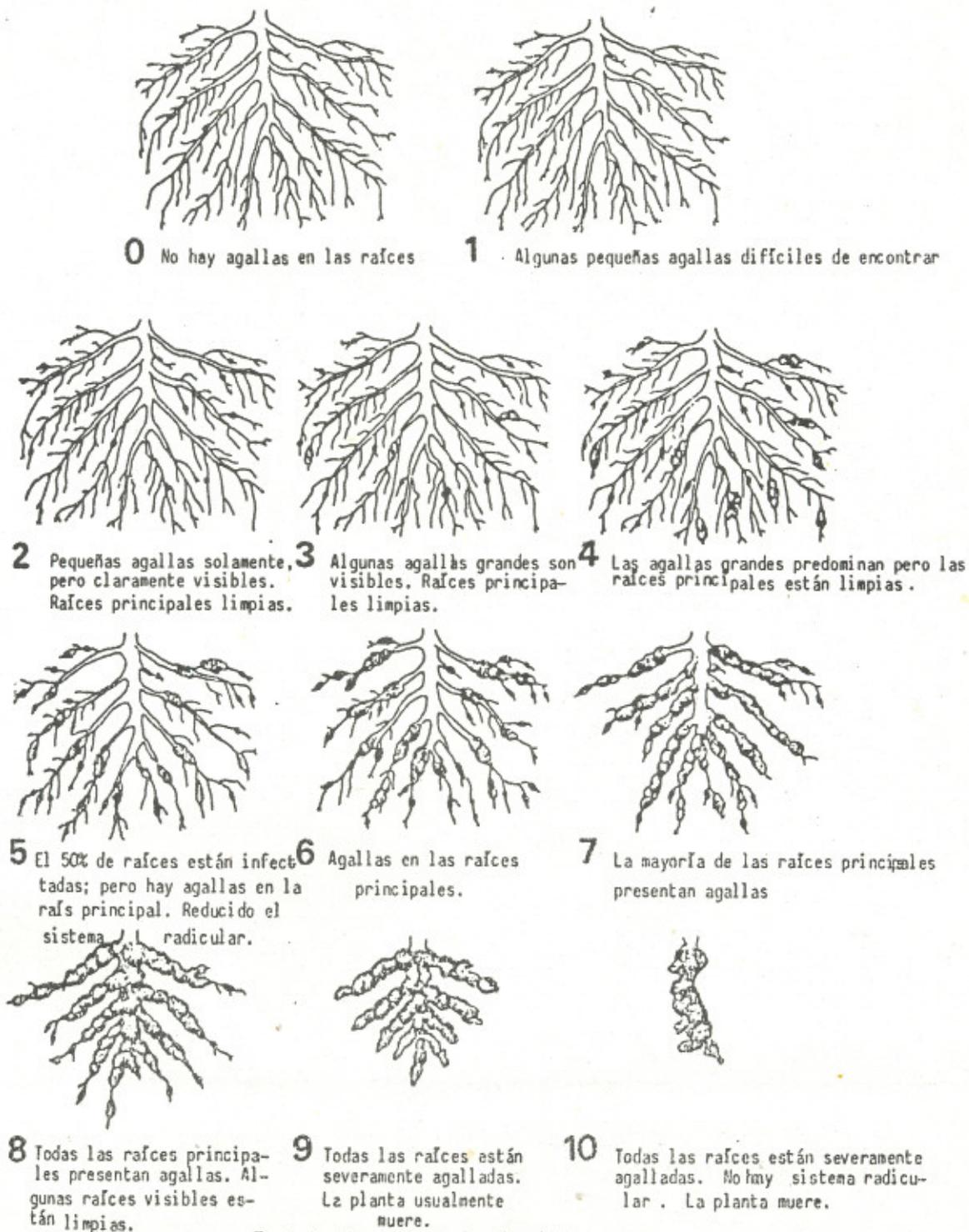


Fig. 1. Root-knot nematode rating chart.

## XII. BIBLIOGRAFIA

1. AGRIOS, G.N. Plant pathology. 2 ed. New York, Academic Press, 1973. p.630.
2. AINSWORTH, G.C; SPARRON, F.K, and SUSSMAN, A.S. The fungi: an advanced treatise. New York, Academic Press, 1973. v.4-A pp.62-63, 425-426.
3. ALEXOPOULOS, C.J. Introductory mycology. 2 ed. New York, Wiley, 1962. pp.401, 407-415.
4. BACH, P.DE. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Trad. por Carlos Manuel Castaños, México, Continental, 1968. pp.390-434.
5. BEUCHAT, R.L. Food and beverage mycology. s.l., Avi Publishing Company, 1977. pp.22, 28-29, 38.
6. BRIDGE, J. and PAGE, J.L.J. Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a rating chart. Tropical Pest Management 26(3): 296-298. 1980.
7. BURGESS, H.D. and HUSSEY, N.W. Microbial control of insects and mites. London, Academic Press, 1971. pp.38-42, 127-128, 376, 666, 734-735.
8. CHRISTIE, J.R. Nemátodos de los vegetales; su ecología y control. México, Centro Regional de Ayuda Técnica, AID, 1970. pp.62-75.
9. CONANT, N.F. *et al.* Manual of clinical mycology. 3 ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1971. pp.667-679.
10. CRUZ, J.R. DE LA. Clasificación de las zonas de vida de Guatemala basada en el sistema Holdridge. Guatemala, INAFOR, 1976. 24p.
11. DROPKIN, V.H. Introduction to plant nematology. New York, Wiley, 1980. pp.65-66.
12. FERRON, P. Les champignons entomopathogenes evolution des recherches au cours des dix dernieres annees. France, Secrétariat Général de la SROP, 1975. pp.9-10, 21, 29, 34-35, 38.
13. FRENCH, E.R. y HEBERT, T.T. Métodos de investigación fitopatológica. San José, Costa Rica, IICA, 1980. pp.176-179.
14. A FUNGUS BIOCONTROL for root-knot nematode. International Potato Center. Circular (Perú) 8(10):1-3. 1980.

15. GODOY, G, RODRIGUEZ-KABANA, R. and MORGAN-JONES, G. Fungal parasites of Meloidogyne arenaria eggs in an Alabama soil. A mycological survey and greenhouse studies. *Nematropica* 13(2):201-213. 1983.
16. GUATEMALA, INSTITUTO NACIONAL DE SISMOLOGIA, VULCANOLOGIA, METEOROLOGIA E HIDROLOGIA. Tarjetas de control de estaciones meteorológicas de Guatemala. Guatemala, 1984.
17. LAMBERTI, F. and TAYLOR, C.E. Root-knot nematodes (Meloidogyne species). Systematics, biology and control. London, Academic Press, 1979. pp.173-178.
18. LEWIS, G.M. *et al.* An introduction to medical mycology. 4 ed. Chicago, The Year Book Publishers, 1958. p.428.
19. MORGAN-JONES, G, WHITE, J.F. and RODRIGUEZ-KABANA, R. Phytonematode pathology: ultrastructural studies. II. Parasitism of Meloidogyne arenaria eggs and larvae by Paecilomyces lilacinus. *Nematropica* 14(1):57-71. 1984.
20. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Control de nemátodos parásitos de plantas. Trad. por Joaquín Palenzuela. México, Limusa, 1978. v.4 p.19.
21. PLAN DE acción VI. Control de nemátodos e insectos de importancia en la papa. Informe Anual (Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú) 1979: 39-41.
22. REPUBLICA DOMINICANA, SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, DEPTO. DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS. Primer Seminario sobre Tomate Industrial. República Dominicana, Centro de Investigaciones aplicadas a Zonas Aridas, 1981. pp.75-78. (Boletín Técnico No. 1).
23. RODAS CASTAÑEDA, E.A. Evaluación de medios de cultivo para la reproducción masiva del entomopatógeno Beauveria bassiana (Bals) Vuill. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos, Facultad de Agronomía, 1982. pp.11-12.
24. RODRIGUEZ, E.R. Paecilomyces lilacinus as a biological control agent of Meloidogyne sp. The root-knot nematode. Thesis Mag. Sc; Morgantown, West Virginia University, 1983. pp.3-9, 91-96.
25. SAYRE, R.M. Promising organisms for biocontrol of nematodes. *Plant Dis.* 64:527-532. 1980.
26. SIMMONS, CH.S; TARANO, J.M. and PINTO, J.H. Clasificación de reconocimiento de los suelos de la república de Guatemala. Guatemala, José de Pineda Ibarra, 1959. pp.32-44.

27. TAYLOR, A.L. y SASSER, J.N. Biología, identificación y control de los nemátodos de nódulo de la raíz (Especies de Meloidogyne). Carolina del Norte, Universidad, 1983. pp.1-3, 7-9, 33-35, 57-58, 94.
28. WALKER, J.CH. Patología vegetal. Barcelona, España, Omega, 1965. pp.290-301.

Co. Co.  
D. Pérez



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



ACULTAD DE AGRONOMIA

Ciudad Universitaria, Zona 12.

Apartado Postal No. 1545

GUATEMALA, CENTRO AMERICA

Referencia .....

Asunto .....

"IMPRIMASE"



ING. AGR. CÉSAR A. CASTAÑEDA S.  
DECANO