

**Control de *Meloidogyne* spp. en pepino
(*Cucumis sativa*) con Micorriza Vesículo
Arbuscular (VAM) (Mycoral[®]),
Trichoderma harzianum y *Paecilomyces
lilacinus***

Diego Andrés Cedeño Sanmartín

Zamorano, Honduras
Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria
Noviembre, 2005

**Control de *Meloidogyne* spp. en pepino
(*Cucumis sativa*) con Micorriza Vesículo
Arbuscular (VAM) (Mycoral[®]),
Trichoderma harzianum y *Paecilomyces
lilacinus***

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado
Académico de Licenciatura

presentado por

Diego Andrés Cedeño Sanmartín

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2005

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor

Diego Andrés Cedeño Sanmartín

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2005

**Control de *Meloidogyne* spp. en pepino (*Cucumis sativa*) con
Micorriza Vesículo Arbuscular (VAM) (Mycoral[®]),
Trichoderma harzianum y *Paecilomyces lilacinus***

Presentado por:

Diego Andrés Cedeño Sanmartín

Aprobada:

Alfredo Rueda, Ph. D.
Asesor Principal

Abelino Pitty, Ph.D.
Coordinador de Área Temática de
Fitotecnia

Rogelio Trabanino, M. Sc.
Asesor

Abelino Pitty, Ph.D.
Director Interino de la Carrera de
Ciencia y Producción Agropecuaria

Manuel A. Jaco, Agrón.
Lic. Admón. Agropecuario
Asesor

George Pilz, Ph.D.
Decano Académico

Gloria Arévalo de Gaugel, M. Sc.
Asesor

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

DEDICATORIA

A mis padres Ramón y Guadalupe, por la formación personal que inculcaron en mi persona desde pequeño, por ser ejemplo de superación, perseverancia y coraje en la lucha diaria por mi preparación académica.

A mis hermanos Darío y Doris, por ser ellos los pequeñitos de la familia, quisiera que sigan el mismo ejemplo de persona que soy.

A mis asesores el Dr. Rueda, Ing. Trabanino, Ing. Gloria de Gaugel, Dr. Phil y al Ing. Jaco por la formación profesional que transmitieron hacia mi persona.

A Erin Barnes por su cariño y aprecio.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por el apoyo incondicional, los consejos diarios que han ayudado a la formación personal e intelectual.

A mis abuelitos, abuelitas, tíos y tías, primos y primas por las palabras de apoyo y los consejos en todo momento.

Al Dr. Alfredo Rueda por la paciencia y esfuerzo de todos los días durante mi proyecto de tesis, sin importar horarios que lo limiten.

Al Ing. Rogelio Trabanino por brindarme la ayuda técnica y carisma que tiene para con sus asesorados.

Al Ing. Antonio Jaco por apoyarme en los dos últimos años en la identificación de géneros de nemátodos.

A la Ing. Gloria Arévalo de Gaugel por el cariño y comprensión durante la asesoría de mi proyecto de tesis.

Al Dr. Phil Arneson por su amistad y apoyo de trabajo en mi tesis.

A los ingenieros: Joel Méndez, Eliana Rosales y Octavio Ávila por el apoyo incondicional en todos los momentos.

A mis amigos: Gustavo, Rafael, Elisa, Lía, Lenin, Víctor, Patty, Juan, Chema.

A mis hijos zamoranos: Freddy, Huguito, José, Alejandro, Alicia, Mariel y Marcela que me brindaron su amistad en todo este año. Éxitos hijos.

A todos mis amigos del laboratorio de control biológico: Chimino, Pablito, Mario, Chele, Omar, Tabo, Giovanni, Rosa O. Olga, Jorge, Rosa P., al Júnior por la confianza y apoyo de trabajo dentro del laboratorio. Los aprecio mucho.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

A mis padres Ramón Cedeño y Guadalupe de Cedeño y a mis tíos Daniel Conforme y Susana de Conforme por el apoyo económico durante mis estudios.

RESUMEN

Cedeño Sanmartín, D. A. 2005. Control de *Meloidogyne* spp. en pepino (*Cucumis sativa*) con Micorriza Vesículo Arbuscular (VAM) (Mycoral®), *Trichoderma harzianum* y *Paecilomyces lilacinus*. Proyecto especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano. Honduras. 16 p.

El manejo de los nemátodos fitoparásitos es uno de los principales problemas que enfrentan los productores orgánicos y convencionales. El estudio fue dirigido al control del nemátodo nodulador (*Meloidogyne* spp.), que ataca las raíces reduciendo la producción. El objetivo fue evaluar el efecto de los hongos Mycoral®, *Trichoderma harzianum* y *Paecilomyces lilacinus* en el control de *Meloidogyne* spp. en pepino (*Cucumis sativa*) variedad Tropi cuke II. Las variables que se midieron fueron: población y porcentaje infectada y no infectada de nemátodo nodulador *Meloidogyne* spp. y nemátodos de vida libre y número de nódulos, longitud de raíces y planta. Se utilizaron 30 bolsas con sustrato (3:2:1) compost, casulla, arena y pasteurizado tres horas treinta minutos. Los tratamientos fueron: *T. harzianum* a una concentración de 1.25×10^9 conidias, *P. lilacinus* 1.75×10^{10} conidias a una dosis de 240 g/ha. siembra y transplante. Mycoral® 3g a la siembra y 30 g en transplante al pie de la plántula, Oxamyl (Vydate®) en transplante a dosis de 4 L/ha. El efecto de Mycoral® es levemente positivo a la disminución de larvas de *Meloidogyne* spp. sin embargo no reduce la nodulación en las raíces. No afecta a los nemátodos de vida libre. La aplicación de *P. lilacinus* reduce considerablemente la población del nemátodo nodulador *Meloidogyne* spp. No disminuyó en su totalidad la población de nemátodos de vida libre y obtuvo el porcentaje más alto de infección en nemátodo nodulador. La aplicación de *T. harzianum* no reduce la población de nemátodo nodulador, pero si afecta considerablemente a la población de nemátodos de vida libre, debido al movimiento acelerado en el suelo quedando atrapados en las hifas del hongo. La aplicación de Oxamyl redujo a cero la población del nemátodo nodulador y la población de nemátodos de vida libre. Fue el tratamiento con menor cantidad de nódulos en las raíces y porcentaje de control. No hubieron diferencia significativa en la longitud de raíz y planta entre los tratamientos con *Trichoderma*, *P. lilacinus* y Testigo; pero sí fue significativo en comparación con Oxamyl (Vydate®). Los porcentajes de control fueron: Oxamyl de 100% y *Paecilomyces lilacinus* con 85%.

Palabras clave: Bioprotectores, conidias, control biológico, *Meloidogyne* spp., Mycoral®, Oxamyl, *P. lilacinus*, *T. harzianum*, VAM, Vydate®.

CONTENIDO

	Portadilla	i
	Autoría.....	ii
	Página de firmas	iii
	Dedicatoria	iv
	Agradecimientos.....	v
	Agradecimiento a Patrocinadores.....	vi
	Resumen	vii
	Contenido	vii
	Índice de cuadros.....	x
1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	<i>MELOIDOGYNE</i> SPP.	3
2.1.1	Distribución	3
2.1.2	Morfología.....	3
2.1.3	Ciclo de vida.....	4
2.2	<i>TRICHODERMA HARZIANUM</i>	4
2.3	<i>PAECILOMYCES LILACINUS</i>	5
2.4	MICORRIZA VESÍCULO ARBUSCULAR (VAM) (MYCORAL®)	5
3	MATERIALES Y MÉTODOS	7
3.1	LOCALIZACIÓN	7
3.2	MATERIALES.....	7
3.2.1	Material vegetal.....	7
3.2.2	Sustrato.....	7
3.3	METODOLOGÍA	7
3.3.1	Extracción de huevos y larvas de nemátodos <i>Meloidogyne</i> spp.	8
3.3.2	Activación de <i>Paecilomyces lilacinus</i>	8
3.3.3	Inoculación de huevos de <i>Meloidogyne</i> spp. en el sustrato.....	8
3.3.4	Tratamientos.....	9
3.4	VARIABLES MEDIDAS	9
3.4.1	Densidad poblacional de nemátodos <i>Meloidogyne</i> spp. y nemátodos de vida libre.	9
3.4.2	Población de nemátodos <i>Meloidogyne</i> spp y nematodos de vida libre infectados y no infectados.	10
3.4.3	Longitud de planta y raíces.	10
3.4.4	Número de nódulos de <i>Meloidogyne</i> spp.	10
3.5	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	10
3.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	10
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
4.1	DENSIDAD POBLACIONAL TOTAL DE NEMÁTODOS <i>MELOIDOGYNE</i> SPP. Y DE VIDA LIBRE.	11

4.2	POBLACIÓN INFECTADA Y NO INFECTADA DE NEMÁTODO NODULADOR <i>MELOIDOGYNE</i> SPP Y NEMÁTODOS DE VIDA LIBRE A LOS 42 DÍAS.	12
4.3	PORCENTAJE DE POBLACIÓN INFECTADA Y SOBREVIVIENTE DE NEMÁTODO NODULADOR <i>MELOIDOGYNE</i> SPP. Y NEMÁTODOS DE VIDA LIBRE A LOS 42 DÍAS.....	13
4.4	NÚMERO DE NÓDULOS DE <i>MELOIDOGYNE</i> SPP., LONGITUD DE RAÍCES Y PLANTAS.....	13
5	CONCLUSIONES	15
6	RECOMENDACIONES	16
7	BIBLIOGRAFÍA	17

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Extracción de huevos de nemátodo <i>Meloidogyne</i> spp. con Hipoclorito de Sodio a diferentes concentraciones, Zamorano, 2005	8
Cuadro 2. Nemátodo nodulador <i>Meloidogyne</i> spp., en 100 g de suelo a los 7, 24 y 42 días después de la aplicación, Zamorano, 2005	11
Cuadro 3. Efecto de los bioprotectores y Oxamyl (Vydate®) a los 7, 24 y 42 días después del transplante en el número de nemátodo de vida libre. Zamorano, 2005	12
Cuadro 4. Población infectada y no infectada por los bioprotectores en nemátodo nodulador <i>Meloidogyne</i> spp. y nemátodo de vida libre a los 42 días, Zamorano, 2005	13
Cuadro 5. Porcentaje de población infectada y no infectada por los bioprotectores en los nemátodos <i>Meloidogyne</i> spp. y de vida libre, Zamorano, 2005	13
Cuadro 6. Longitud de raíces y plantas comparándolos con el número de nódulos de nemátodos de <i>Meloidogyne</i> spp. a los 42 días. Zamorano, 2005	14

1 INTRODUCCIÓN

Cada día la frontera agrícola crece debido al gran consumo de productos hortícolas y frutales. Una de las limitantes para la producción en el sector agrícola en los trópicos son los nemátodos, el género *Meloidogyne* spp. ó nemátodo nodulador es un microorganismo endoparásito de las raíces. Existen varias especies las más importantes son: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla*, *M. arenaria* (Taylor y Sasser 1983).

En los campos de producción de la Escuela Agrícola Panamericana las poblaciones de nemátodo nodulador *Meloidogyne incognita* en la época de verano llegan a 680 larvas en 100 g de suelo, causando daños irreversibles a distintas hortaliza y en la época de invierno estas poblaciones aumentan a 730 larvas en 100 g de suelos con lo que el daño aumenta en los cultivos hortícolas reduciendo la producción hasta un 80 %.

La densidad poblacional de nemátodos *Meloidogyne* spp. y nemátodos de vida libre se relaciona con el número de individuos y la interacción en el suelo donde viven, por ende los nemátodos de vida libre siempre van a estar en el suelo degradando materia orgánica lo que es bueno para un suelo completamente saludable; pero la densidad poblacional de los nemátodos noduladores *Meloidogyne* spp. puede variar por el ciclo de vida que ellos cumplen, al momento que encuentran la raíz de la planta comienzan a alimentarse y a reproducirse introduciéndose en la raíz de la planta lo que hace que varíe las poblaciones reduciéndolas en el suelo, esto hace pensar que el suelo no tiene nemátodos pero a los 25 días las larvas nemátodos noduladores que se encuentran en la bolsa gelatinosa eclosionan y por consiguiente la población de estos tienden a aumentar y el daño aumenta en la producción.

Paecilomyces lilacinus es un nematopatógeno muy agresivo. Bernal et al. (2002) asegura que parasita hembras y huevos de nemátodos causando destrucción de ovarios y reducción de la eclosión, resultando exitoso en el control biológico, este hongo parasita las masas de huevos de nemátodos, también ataca la masa gelatinosa donde son colocados en colonias por el hongo y dentro de algunos días eclosionan causando la muerte para los nemátodos.

Méndez (2003) reporta que *T. harzianum* se describe como un hongo micoparasítico, coloniza las raíces de las plantas rápidamente, impidiendo que otros hongos patógeno intenten infectar la raíz, ayuda en la solubilización y absorción de nutrientes como zinc, fósforo y magnesio, se puede aplicar en chorro al pie de la planta, también no es nocivo para el operario ni para el medio ambiente.

Micorriza Vesículo Arbuscular (VAM) (Mycoral®) ayuda a la absorción de nutrientes en suelos pobres optimizando la producción en diferentes cultivos como café y árboles forestales.

Raddatz (2001) detalla bastantes observaciones muy positivas en el cultivo de café como alta producción y reducción en las poblaciones de nematodos.

En diferentes estudios Raddatz (2001) afirma que para apreciar el efecto benéfico que causa la micorriza, hay que ver los dos efectos mencionados como dos transparencias, una detrás de la otra. La conclusión sería: una raíz bien equipada con micorriza tiene menor población de nemátodos, que consecuentemente causa menos daño que una población numerosa. Además el daño que causa el reducido número de nemátodos se ve en parte compensado por la acción de las hifas como suministradoras de nutrientes y agua.

Este estudio fue dirigido al control del nemátodo fitoparásito *Meloidogyne incognita* utilizando tres microorganismos bioprotectores que son: *Trichoderma harzianum*, *Paecilomyces lilacinus* y Micorriza Vesículo Arbuscular (VAM) (Mycoral®) comparándolos con un testigo y el tratamiento químico con Oxamyl (Vydate®) en pepino (*C. sativa*).

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Meloidogyne* spp.

Los nemátodos del género *Meloidogyne* spp. son ampliamente conocidos por la habilidad de producir cambios en el sistema radicular de las plantas, induciendo la pérdida de absorción de nutrientes por la planta. La absorción de nutrientes se limita por la alteración fisiológica de la raíz, el metabolismo para generar fuente de alimento se interrumpe y como efecto de esto la planta reduce su crecimiento (enanismo) y su producción baja ocasionando grandes pérdidas en cultivos (Sasser y Taylor 1983).

Los nemátodos del género *Meloidogyne* spp. están distribuidos desde los 5 a 30 cm debajo de la superficie del suelo, poseen tres etapas en su ciclo de vida: huevo, tres estadios larvales y adulto, la etapa infectiva es durante el segundo y tercer estadio larval. En esta etapa se movilizan a través de los poros del suelo húmedo (Sasser y Taylor 1983).

Los síntomas primarios en las raíces son hinchamientos y agallas en las raíces primarias y menor cantidad de raíces secundarias y terciarias, conforme se va alimentando secreta una sustancia llamada oxido-reductasa, la cual afecta a las células de las raíces provocando el desarrollo de células gigantes llamadas sincitos; causada por una multiplicación desordenada del núcleo denominado hiperplasia alrededor de la cabeza de la larva, produciendo síntomas secundarios como amarillamiento en las partes aéreas de la planta, hojas más angostas, detención del crecimiento de la planta y menor producción, con pérdidas hasta del 57 % (De Waele y Davide 1998).

2.1.1 Distribución

Meloidogyne spp. se distribuye mundialmente y no se conoce bien su lugar de origen. Estos nemátodos tienen un amplio rango de hospedantes, especialmente plantas dicotiledóneas, que a menudo se encuentran en las áreas donde se cultivan Musáceas (De Waele y Davide 1998).

2.1.2 Morfología

Los machos, las hembras y las larvas de *Meloidogyne* spp. tienen estiletes que consisten en una punta cónica, una columna derecha y tres nódulos. El estilete puede ser sacado por medio de músculos adheridos a los nódulos. Es usado para perforar las células de las plantas. El estilete tiene una abertura cerca de la punta que conduce al lumen del estilete que es continuado con el lumen del esófago adherido a los nódulos, el lumen tiene una ramificación corta llamada orificio de la glándula dorsal (OGD). Los músculos adheridos a la válvula la dilatan y contraen alternativamente, de modo

que funciona como una bomba, trasladando el alimento al intestino. Para alimentarse, el nemátodo empuja la punta del estilete dentro de la célula de la planta. Las secreciones de la glándula dorsal esofágica fluyen a través de la abertura del estilete hacia el interior de la célula de la planta. Esta secreción y posiblemente las secreciones de las dos glándulas subventrales tienen un gran efecto en la planta.

2.1.3 Ciclo de vida

El ciclo de vida de la especie de *Meloidogyne* spp. comienza con un huevo, generalmente en estado unicelular, depositado por una hembra que esta completa o parcialmente incrustada en una raíz del hospedero. Los huevos son depositados en una matriz gelatinosa que los mantiene juntos en masas o sacos de huevos. El desarrollo del huevo comienza breves horas después de la ovoposición, resultando en 2, 4, 8 ó mas células, hasta que se ve una larva completamente formada, con un estilete, enrollada en la membrana del huevo. La primera muda tiene lugar en el huevo y no es difícil ver separada la cutícula del primer estadio, sobresaliendo más allá de la cabeza del segundo estadio larval. Poco después la larva emerge de un agujero hecho en un extremo del cascaron flexible del huevo, por medio de pinchazos repetidos con el estilete (Sasser y Taylor 1983).

La larva del segundo estadio larval que ha emergido puede dejar o no dejar inmediatamente la masa de huevos. Generalmente hay varias larvas emergidas en la masa de huevos junto a huevos en varios estados de desarrollo. Después de dejar la masa de huevos, la larva se mueve a través del suelo en busca de una raíz de la que pueda alimentarse. Parece que la búsqueda es al azar hasta que la larva se acerca a unos cuantos centímetros de una raíz. Luego guiado por alguna sustancia que emana de la raíz, se va trasladando directamente hacia la punta radicular. Las larvas de segundo estadio larval infectivo generalmente penetran en la raíz justamente sobre la caliptra. Se mueven principalmente entre las células no diferenciadas de la raíz y finalmente se colocan con sus cabezas en el cilindro central de desarrollo. Esto da lugar a la formación de células gigantes llamadas sincitos, formadas por un agrandamiento de las células conocido por hipertrofia. Al mismo tiempo, hay una intensa multiplicación de células vegetales denominado hiperplasia alrededor de la cabeza de la larva (Sasser y Taylor 1983).

2.2 *Trichoderma harzianum*

Candela (2004) describe que el género *Trichoderma* posee buenas cualidades para el control de enfermedades en plantas causadas por patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium* entre otros. Las especies de *Trichoderma* actúan como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas a los que se les atribuyen los cambios estructurales a nivel celular, tales como vacuolización, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular, encontrados en los organismos con los que interactúa.

Cordero y Acevedo (2000) detallaron un estudio del control biológico de los nemátodos parásitos de plantas probando *T. harzianum*, incorporándose así como una

alternativa usada dentro del control integrado de plagas, para mantener las poblaciones de los nemátodos por debajo de los rangos económicos y evitar el uso indiscriminado de nematicidas sintéticos.

2.3 *Paecilomyces lilacinus*

Los conidióforos del género *Paecilomyces* spp. son: ramificados, agrupados o irregulares. Las conidias se encuentran agrupadas en forma de cadena. *P. lilacinus* presenta un rápido crecimiento de sus hifas. El conidióforo presenta grupos de ramificaciones laterales, cada una de las cuales presenta de 2 a 4 divisiones ovaladas antes de las conidias. Estas últimas, tienen una longitud de 2.5-3.0 μm y de 2.0-2.2 μm de ancho; presentan coloración lila (Samson 1975).

En caso de vibración o movimientos de aire, estas conidias se liberan en grandes cantidades, es por esto que el hongo se propaga efectivamente. La facultad que posee para parasitar huevos de nemátodos, también se ve algunas veces o se expresa sobre nemátodos en estados libres o móviles, o sobre hembras sedentarias, pero es más agresivo sobre los huevos. (Cabanillas et al. 1989).

La EPA (2005) recalca que *Paecilomyces lilacinus* es un hongo que naturalmente está en diferentes tipos de suelo distribuido en todo el mundo, es un pesticida biológico utilizado para controlar nemátodos que atacan a las raíces, el hongo no es tóxico, ni patógeno en roedores y varios vertebrados, por lo que no puede causar efectos contrarios en el humano y el ambiente.

El hongo *Paecilomyces lilacinus* acciona al parasitar los huevos del nemátodo juveniles y adultos, durante esta etapa inicial no hay producción de toxinas, cuando las esporas del *P. lilacinus* entran en contacto con los nemátodos se inicia el proceso de infección porque encuentran las condiciones ideales para iniciar el proceso de germinación, estas esporas producen enzimas que diluyen la cutícula y penetran al interior del nemátodo (Biocontrol 2005).

2.4 Micorriza Vesículo Arbuscular (VAM) (Mycoral®)

Las micorrizas VAM (Mycoral®), en general, tienen un efecto directo muy benéfico para las plantas en la absorción de agua y nutrientes, además de esta capacidad de absorción, las micorrizas tienen un efecto fitosanitario beneficioso, no menos importante que el primero, ya que permiten que las plantas tengan mayor resistencia a varios agentes que causan daños. También hay un efecto beneficioso sobre la estructura del suelo, lo que favorece mucho a las plantas en forma indirecta (Raddatz 2001).

En muchos ensayos se investigó la zona radicular de las plantas inoculadas con y sin micorrizas. En las raíces bien equipadas con micorriza se encontró una población bastante reducida de nemátodos vs. plantas sin micorriza (Raddatz 2001).

Para apreciar el efecto benéfico que causa la micorriza, hay que ver los dos efectos mencionados como dos transparencias, una detrás de la otra. La conclusión sería: Una

raíz bien equipada con VAM (Mycoral[®]) tiene menor población de nemátodos, que consecuentemente causa menos daño que una población numerosa. Además el daño que causa el reducido número de nemátodos se ve en parte compensado por la acción de las hifas como suministradoras de nutrientes y agua (Raddatz 2001).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LOCALIZACIÓN

El experimento se realizó de agosto a octubre de 2005 en el área de experimentación del Laboratorio de Control Biológico, en Zamorano, localizado en el Valle del Río Yeguary, Departamento de Francisco Morazán a 30 kilómetros al este de Tegucigalpa, 14° latitud norte, 87° longitud oeste, a 800 msnm, precipitación de 1200 mm promedio anual y una temperatura promedio anual de 23°C.

3.2 MATERIALES

3.2.1 Material vegetal

Para el estudio se utilizó la variedad de pepino Tropi cuke II de la casa comercial Seminis-Honduras. Es una planta de alta producción con madurez temprana, la cosecha comienza a los 60 días después del trasplante. La fruta es carnosa y de color blanca. Tiene resistencia a antracnosis, mancha angular de la hoja, mildiu polvoso y virus de mosaico del pepino (CMV).

3.2.2 Sustrato

El sustrato que se utilizó fue 3:2:1 (compost, casuya de arroz, arena) pasteurizado a 70°C durante tres horas treinta minutos, posterior al enfriado se procedió a colocar en bolsas plásticas de polietileno de 19 × 16. Se hicieron tres fertilizaciones con gallinaza (0.5 lb/bolsa) a los 8, 25 y 34 días después del trasplante.

3.3 METODOLOGÍA

En el semillero se utilizaron 4 bandejas plásticas de 96 celdas cada una, las cuales fueron llenadas con el sustrato Sunshine Mix (Peat Moss). En tres bandejas separadas individualmente con de cada hongo se sembró 20 semillas inoculadas con los hongos Micorriza Vesícula Arbuscular (VAM) (Mycoral®), *Trichoderma harzianum* y *Paecilomyces lilacinus*, en la otra bandeja se sembraron 40 semillas. Las semillas germinaron tres días después de la siembra y las plántulas fueron transplantadas a sus bolsa definitivas a los 9 días de germinadas.

3.3.1 Extracción de huevos y larvas de nemátodos *Meloidogyne* spp.

Para la extracción de huevos y larvas de nemátodos se utilizó raíces de lechuga infectadas por nemátodo nodulador *Meloidogyne incognita*, se cortaron las raíces de lechuga infectadas en pedazos de 1.5 cm, después se colocaron las raíces en un erlenmeyer durante 4 minutos en una solución de 49 ml de cloro comercial al 5% y 451 ml de agua destilada, el cloro provocó un efecto de desintegración en la bolsa que protege a los huevos de nemátodos expulsándolos a la solución clorada, se notó que por cada 2 ml habían 80 huevos de nemátodos, 60 huevos estaban en el primer estadio larval y se descartaron 20 huevos inmaduros de nemátodos *Meloidogyne* spp (Cuadro 1).

Cuadro 1. Extracción de huevos de nemátodo *Meloidogyne* spp. con Hipoclorito de Sodio a diferentes concentraciones, Zamorano, 2005.

[%]final	Volumen ¹ . (ml)	<i>Meloidogyne</i> spp en 2 ml de H ₂ O
0.1	9.8	48
0.5	49	80
1.0	98	120
1.5	147	113

Después de los 4 minutos se colocó la solución clorada en un tamiz de 200 y 500 mesh para retener los pedazos de raíces y huevos nemátodos respectivamente, se sometió inmediatamente a un lavado con agua durante 10 minutos para retirar el cloro de los huevos de nemátodos, el material retenido en este último tamiz se centrifugó en 35 ml. de agua azucarada a 2,300 revoluciones por minutos (rpm) durante dos minutos, luego se procedió a lavar con agua destilada durante tres minutos para eliminar residuos de azúcar en las larvas y huevos de nemátodos, se recogieron los huevos y larvas de nemátodos en un elenmeyer en 1,000 ml de agua destilada (Cuadro 1).

3.3.2 Activación de *Paecilomyces lilacinus*

Se utilizó huevos de nemátodos para la activación de *Paecilomyces lilacinus*, se colocaron los huevos en una solución de 400 ml de agua y se agregó esporas de *Paecilomyces lilacinus* inactivo, este hongo pudo reproducirse en agua sin problema, a la vez que infecto a los nemátodos estas esporas subieron a la superficie de la solución y es ahí donde comenzó el crecimiento, a los 7 días esporuló y con una asa se pasó a placas PDA para extraer esporas puras de este hongo después de 7 días.

3.3.3 Inoculación de huevos de *Meloidogyne* spp. en el sustrato.

Con el protocolo de extracción de nemátodos se extrajo entre 40,000 huevos y larvas de *Meloidogyne* spp. y 10,000 larvas de nemátodos de vida libre y estos fueron colocados en un erlenmeyer con 1,000 ml de agua destilada, para facilitar el conteo de nemátodos se hizo en una caja petri dividida por 20 líneas a lo largo y una línea transversal pasándola por el centro de la caja separando así en dos secciones, cada mitad tenía 2 ml de dicha solución. Para la inoculación en el sustrato se agitó el

erlenmeyer y se procedió a colocar 20 ml de esta solución con aproximadamente entre huevos y larvas 750 nemátodos *Meloidogyne* spp. y 250 nemátodos de vida libre en cada bolsa de sustrato para pepino.

3.3.4 Tratamientos

Todos los tratamientos con bioprotectores fueron aplicados manualmente al medio de Sunshine Mix con ayuda de una probeta y para el transplante se hizo una solución de los bioprotectores *Trichoderma harzianum* y *Paecilomyces lilacinus* aplicados al suelo dentro del hoyo donde iba la planta. Las micorrizas fueron aplicadas directamente alrededor y dentro del hoyo y para el vidate se hizo una solución.

Tratamiento 1: TRICHOZAM[®] (*Trichoderma harzianum*) se aplicó a una concentración de 1.25×10^9 conidias por gramo en siembra por cada semilla en cada celda de bandeja en invernadero, igual para el transplante alrededor del hoyo a una dosis de 240 g por hectárea de producto comercial en 15 litros de agua.

Tratamiento 2: PAZAM[®] (*Paecilomyces lilacinus*) se aplicó a una concentración de 1.75×10^{10} conidias por gramo en siembra por cada semilla en cada celda de bandeja en invernadero y en transplante para cada plántula alrededor del hoyo a una dosis de 240 g por hectárea de producto comercial en 15 litros de agua.

Tratamiento 3: MYCORAL[®] (Micorriza Vesículo Arbuscular) (VAM) se aplicó 3 gramos de producto comercial por semilla en cada celda de bandeja en invernadero y 30 g en el transplante a una dosis de 1666.7 kg/ha de producto comercial.

Tratamiento 4: VIDATE[®] (Oxamyl) se aplicó a una dosis de 4 L/ha del producto comercial al transplante.

Testigo: No se aplicó nada.

3.4 VARIABLES MEDIDAS

3.4.1 Densidad poblacional de nemátodos *Meloidogyne* spp. y nemátodos de vida libre.

Para esta variable se contó la población de nemátodos a los 7, 24 y 42 días después de las aplicaciones en los tratamientos para determinar el desarrollo del *Meloidogyne* spp. y nemátodos de vida libre.

Para esto se extrajeron los nemátodos de 100 g de suelo recolectados cerca de la rizósfera de la planta de pepino, una vez en el laboratorio se utilizó el protocolo de extracción Centrifugación - Flotación (Sasser, 1983). Fueron analizados en una cámara de conteo que consistió en una caja petri dividida por 20 líneas longitudinales y una transversal que pasaba por el centro y se colocó 4 ml de la solución extraída pero solo se contó los nemátodos que habían en 2 ml de solución.

3.4.2 Población de nemátodos *Meloidogyne* spp y nemátodos de vida libre infectados y no infectados.

Para esta variable se contó la población de nemátodos a los 7, 24 y 42 días después de las aplicaciones en los tratamientos para evaluar la población infectada y no infectada de nemátodo *Meloidogyne* spp. y nemátodos de vida libre por tratamiento, así podremos sacar el porcentaje de infección de los nemátodos por cada uno de los tratamientos.

3.4.3 Longitud de planta y raíces.

Para esta variable se recolectaron las raíces de pepino al final del experimento, se lavaron con agua dejándolas bien limpias. Se midió con un metro la longitud de la planta desde el cuello de la raíz hasta la última yema terminal y la longitud de la raíz se midió desde el cuello de la raíz hasta la punta de la raíz principal conocida como cofia, esta medición se hizo a todas las plantas de cada tratamiento.

3.4.4 Número de nódulos de *Meloidogyne* spp.

Después de medir las raíces se procedió a contar los nódulos de las raíces esto se hizo con ayuda de una lupa, los nódulos que estaban uno sobre otro se les tomó como uno solo; también se contó los nódulos pequeños.

3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con cinco tratamientos y diez repeticiones en total 50 unidades experimentales. Cada unidad experimental constituyó una planta por bolsa inoculada con nemátodos.

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el programa estadístico "Statistical Analysis System" (SAS, 2001). Se realizó un Análisis Completamente al Azar (DCA) usando un Modelo Lineal General (GLM) y una separación de medias usando TUKEY para las variables mencionadas. El nivel de significancia exigido fue de $P < 0.05$.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Densidad poblacional total de nemátodos *Meloidogyne* spp. y de vida libre.

A los siete días, en los tratamientos donde se aplicó *T. harzianum*, *P. lilacinus* y VAM la población de nemátodos noduladores era igual, Oxamyl (Vydate®) resultó el mejor tratamiento para reducir la población de *Meloidogyne* spp con una alta significancia manteniendo así las poblaciones mas bajas de nemátodos durante todas las fechas. A los 24 y 42 días se observó que la aplicación con VAM (Mycoral®) tiende a reducir el número de *Meloidogyne* spp. (Cuadro 2).

En el Testigo las poblaciones de nemátodos noduladores aumentaron a través del tiempo, el motivo por que las poblaciones de nemátodo nodulador aumento en el Testigo a los 42 días fue por la eclosión de huevos que hubo a los 25 días después de las aplicaciones cumpliéndose el primer ciclo en la raíz de los nemátodos noduladores *Meloidogyne* spp. (Cuadro 2).

Cuadro 2. Nemátodo nodulador *Meloidogyne* spp., en 100 g de suelo a los 7, 24 y 42 días después de la aplicación, Zamorano, 2005

Tratamiento	Días después del transplante		
	7	24	42
<i>Trichoderma harzianum</i>	381.6a ^Ω	344.0b ^Ω	344.0b
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	404.5a	385.5b	581.3a ^Ω
Micorriza VAM (Mycoral®)	398.1a	135.6c ^Ω	196.0c
Oxamyl (Vydate®)	18.8c	33.5c	89.8d
Testigo	289.8b	517.0a	644.0a

^ΩValores con igual letra en los conteos no difieren significativamente (P<0.05) según la prueba Tukey.

A los 7 días después de la aplicación se reduce considerablemente la población de nemátodos de vida libre con el tratamiento de Oxamyl (Vydate®), no encontrando así diferencias significativas en los demás tratamientos, a los 24 días las poblaciones de nemátodos de vida libre se reducen con las aplicación de *P. lilacinus*, aunque el tratamiento con Oxamyl (Vydate®) reduce aún más las poblaciones de nemátodos de vida libre (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto de los bioprotectores y Oxamyl (Vydate®) a los 7, 24 y 42 días después del trasplante en el número de nemátodo de vida libre. Zamorano, 2005

Tratamiento	Días después del trasplante		
	7	24	42
<i>Trichoderma harzianum</i>	639.8a ^Ω	575.5a ^Ω	794.1a
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	585.8a	287.8b ^Ω	533.6b
Micorriza VAM (Mycoral®)	429.6b ^Ω	604.5a	735.6ab ^Ω
Oxamyl (Vydate®)	33.5c	58.5c	229.5c
Testigo	354.5b	367.0b	633.5ab

^ΩValores con igual letra en los conteos no difieren significativamente (P<0.05) según la prueba Tukey

4.2 Población infectada y no infectada de nemátodo nodulador *Meloidogyne* spp y nemátodos de vida libre a los 42 días.

Se observa que a los 42 días las poblaciones infectadas de nemátodos *Meloidogyne* spp. se reducen con el tratamiento de *Paecilomyces lilacinus* resultando así el mejor tratamiento, pero también infecta nemátodos de vida libre, el tratamiento con Oxamyl presenta cero infección pero el motivo es por ser químico reduciendo las poblaciones matando a los nemátodos después de la primera aplicación donde lo único que se observa son los nemátodos que quedaron sobreviviendo en el sustrato (Cuadro 4).

Con los nemátodos de vida libre infectados los tratamientos con *Paecilomyces lilacinus* y *Trichoderma harzianum* no hay diferencia significativa pero si hay una reducción de nemátodos de vida libre considerable con el tratamiento de *Trichoderma harzianum*, el tratamiento con Oxamyl (Vydate®) la población de estos nemátodos se reduce a cero (Cuadro 4).

Esto se puede explicar debido a que cuando ingresa al hospedero, el hongo *P. lilacinus* se reproduce muy rápidamente emitiendo metabolitos tóxicos que envenenan a los nemátodos; causándole deformaciones, vacuolizaciones y pérdida de movimiento hasta causarle la muerte. Las toxinas producidas por parte del *P. lilacinus* afectan el sistema nervioso y causan deformación en el estilete de los nemátodos que sobreviven, lo que permite reducir el daño y sus poblaciones. A valores de pH ligeramente ácidos, se producen toxinas que afectan el sistema nervioso de los nemátodos (Biocontrol 2005)

T. harzianum tiene el mayor número de nemátodos de vida libre quedando atrapados en las hifas del hongo esto se da por el movimiento rápido que tienen los nemátodos de vida libre. En los tratamientos con Micorriza Vesículo Arbuscular (VAM) (Mycoral®) y Testigo se notó nemátodos infectados por un hongo extraño (Cuadro 4).

Cuadro 4. Población infectada y no infectada por los bioprotectores en nemátodo nodulador *Meloidogyne* spp. y nemátodo de vida libre a los 42 días, Zamorano, 2005.

Tratamientos	<i>Meloidogyne</i> spp.		Nemátodo de vida libre	
	Infectados	No infectados	Infectados	No infectados
<i>Trichoderma harzianum</i>	129.5b	214.8b ^Ω	467.0a ^Ω	327.1b ^Ω
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	496.1a	85.8c ^Ω	319.0a	215.0b
Micorriza VAM (Mycoral [®])	23.1c ^Ω	173.1b	39.6b ^Ω	696.0a ^Ω
Oxamyl (Vydate [®])	0.0c	89.8c	0.0b	229.5b
Testigo	10.6c	633.3a	27.1b	606.3a

^ΩValores con igual letra no difieren significativamente (P<0.05) según la prueba Tukey

4.3 Porcentaje de población infectada y sobreviviente de nemátodo nodulador *Meloidogyne* spp. y nemátodos de vida libre a los 42 días.

A los 42 días después de las aplicaciones se observa diferencia significativa entre los tratamientos, siendo *P. lilacinus* el mejor tratamiento ya que tiene un porcentaje alto de infección en las poblaciones de *Meloidogyne* spp. El tratamiento con Oxamyl (Vydate[®]) también es una de los mejores reduciendo el porcentaje de nemátodo *Meloidogyne* spp. El porcentaje de sobrevivencia del nemátodo nodulador es alto en el Testigo pero muy reducido en los tratamientos con Oxamyl (Vydate[®]) y *P. lilacinus* (Cuadro 5).

Los tratamientos con *P. lilacinus* y *T. harzianum* son significativamente iguales en el porcentaje de infección de nemátodos de vida libre pero el tratamiento con VAM (Mycoral[®]) no registra ningún efecto negativo en los nemátodos de vida libre (Cuadro 5).

Cuadro 5. Porcentaje de población infectada y no infectada por los bioprotectores en los nemátodos *Meloidogyne* spp y de vida libre a los 42 días, Zamorano, 2005.

Tratamiento	<i>Meloidogyne</i> spp (%)		N. de vida libre (%)	
	Infectado	Sobreviviente	Infectados	Sobreviviente
<i>Trichoderma harzianum</i>	38.0b	28.6b ^Ω	59.0a ^Ω	38.3c
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	85.8a	11.4c ^Ω	54.2a	61.3b
Micorriza VAM (Mycoral [®])	10.7c	23.0b	4.9b ^Ω	83.0a ^Ω
Oxamyl (Vydate [®])	0.0d ^Ω	11.9c	0.0b	9.7d
Testigo	1.7cd	84.4a	4.8b	93.4a

^ΩValores con igual letra no difieren significativamente (P<0.05) según la prueba Tukey

4.4 Número de nódulos de *Meloidogyne* spp., largo de raíces y planta.

Con respecto a la longitud de raíces y plantas no se encuentran diferencias significativas, más que en el tratamiento con Oxamyl (Vydate[®]) teniendo plantas con mayor longitud diferentes a los demás tratamientos (Cuadro 6).

Se mostró diferencias entre los tratamientos con *T. harzianum* presentando el número más alto de nódulos comparándolo con los bioprotectores evaluados, en el Testigo se

observó raíces primarias y secundarias llenas de nódulos, sin embargo el número de nódulos se redujo considerablemente con el tratamiento de Oxamyl (Vydate®). *P. lilacinus* es igual estadísticamente comparándolo con Oxamyl (Vydate®) siendo así el mejor tratamiento de los bioprotectores para reducir nódulos de *Meloidogyne* spp en las raíces (Cuadro 6).

Cuadro 6. Longitud de raíces y plantas comparándolos con el número de nódulos de nemátodos de *Meloidogyne* spp. a los 42 días. Zamorano, 2005.

Tratamiento	Longitud		Nódulos
	Planta (m)	Raíz (cm)	
<i>Trichoderma harzianum</i>	1.08ab ^Ω	20b ^Ω	22.2b
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	0.99ab	22b	2.5cd
Micorriza VAM (Mycoral®)	0.95b	18b	16.8bc
Oxamyl (Vydate®)	1.10a	28a	1.8d
Testigo	0.99ab	22b	67.5a

^ΩValores con igual letra no difieren significativamente (P<0.005) según la prueba Tukey

5 CONCLUSIONES

El efecto de Micorriza Vesículo Arbuscular (VAM) (Mycoral[®]) es levemente positivo a la disminución de larvas de *Meloidogyne* spp. sin embargo no reduce la nodulación en las raíces. No afecta a los nemátodos de vida libre.

La aplicación de *Paecilomyces lilacinus* reduce considerablemente la población del nemátodo nodulador *Meloidogyne* spp. No disminuyó en su totalidad la población de nemátodos de vida libre y obtuvo el porcentaje mas alto de infección en nematodo nodulador, trabaja igual al Oxamyl (Vydate[®]).

La aplicación de *Trichoderma harzianum* no reduce la población de nemátodo nodulador, pero si afecta considerablemente a la población de nemátodos de vida libre, debido al movimiento acelerado en el suelo quedando atrapados en las hifas del hongo.

La aplicación de Oxamyl (Vydate[®]) redujo a cero la población del nemátodo nodulador y la población de nemátodos de vida libre. Fue el tratamiento con menor cantidad de nódulos en las raíces y porcentaje de control.

No hubo diferencia significativa en la longitud de raíces y plantas entre los tratamientos con *T. harzianum*, *P. lilacinus* y Testigo; pero sí fue significativo en comparación con Oxamyl (Vydate[®]).

6 RECOMENDACIONES

Probar el experimento con otras especies de plantas susceptibles como frutales, hortalizas, etc.

Evaluar el efecto de la interacción de estos hongos bioprotectores bajo condiciones controladas y de campo.

Comparar otros nematopatógenos con los productos del Laboratorio de Control Biológico.

Evaluar el efecto de la residualidad del químico Oxamyl (Vydate®) y la permanencia de los bioprotectores Micorriza Vesículo Arbuscular (VAM) (Mycoral®), *Paecilomyces lilacinus* y *Trichoderma harzianum* con los nemátodos de vida libre y *Meloidogyne* spp a los 45, 90 y 120 días.

7 BIBLIOGRAFÍA

Bernal, B.; Fernández, E.; Vásquez, L. 2002. Manejo de plagas en la agricultura urbana. La Habana, Cuba. Consultado el 3 de Marzo de 2005. Disponible en: <http://www.aguascalientes.gob.mx/agro/produce/AGRIURBA.htm>

Biocontrol. 2005. La agricultura biológica. Palmira, Colombia. Consultado el 3 de Marzo de 2005. Disponible en: <http://www.controlbiologico.com/lilacinol.htm>.

Cabanillas, E.; Barker, K. R.; Daykin, M. E. 1988. Histology of the interactions of *Paecilomyces lilacinus* with *Meloidogyne incognita* on tomato. J. Nematol. 20 (3), 362-365p

Candela, M. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Murcia, España. Consultado el 24 de Septiembre de 2005. Disponible en: <http://64.233.161.104/search?q=cache:MWgl7pAdpJsJ:www.um.es/analesdebiologia/números/26/PDF/05-TRICHODERMA.pdf+candela+2004+%2B+Trichoderma&hl=es>

Cordero, M.; Acevedo, R. 2000. Evaluación de la capacidad de parasitismo en hongos asociados con el nemátodo quiste de la papa, *Globodera spp.* Venez. 13:29.33.

De Waele, D.; Davide, R. 1998. Nemátodos noduladores de las raíces del banano, *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949 y *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949. En: Plagas de Musa. Hoja divulgativa No 3. Consultado el 3 de Agosto de 2005. Disponible en: http://64.233.161.104/search?q=cache:5jLWVjdvqREJ:www.accefyn.org.co/PubliAcad/Periodicas/Volumen28/107/295_301.pdf+Meloidogyne+spp+en+Honduras&hl=es

Environmental Protection Agency (EPA). 2005. *Paecilomyces lilacinus* strain 251 (028826) Fact sheet. Consultado el 28 de Septiembre de 2005. Disponible en: http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/factsheets/factsheet_028826.htm.

Méndez Martínez, J.A. 2003. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* y *Paecilomyces lilacinus* en el rendimiento de lechuga orgánica en Zamorano, Proyecto especial del Programa de Ingeniero Agrónomo, Zamorano, Honduras. 19 p.

Morales Díaz, J.C. 2001 Poblaciones de nemátodos fitoparásitos (*Pratylenchus sp.* y *Meloidogyne sp.*) en plantaciones mixtas de café y musáceas. Proyecto especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras. 32 p.

Raddatz, E. 2001. VAM, y la resistencia de las plantas contra causantes de daños. Cali, Colombia. Consultado el 28 de Febrero de 2005. Disponible en: http://mafalda.univalle.edu.co/~naturambiente/tecnologia1/VAMMYCORAL_y_la_Resistencia_1_.doc

Romero Villagra, D.C. 2004. Efecto de la aplicación de *Paecilomyces lilacinus* en el control de *Meloidogyne* spp. en pepino. Proyecto especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras. 20 p.

Samson, R. A. 1975. *Paecilomyces* and some allied hyphomycetes. Studies in Mycology 6, 1-119 Centraalbureau voor Schimmelcultures; Baarn (NL)

Sasser, J.; Taylor, A. 1983. Biología identificación y control de los nemátodos de nódulo de la raíz. Ed. Artes Graficas de la Universidad del Estado de Carolina del Norte. Carolina del Norte, Estados Unidos. 111 p.