



ARTÍCULO ORIGINAL

## Actividad biológica de nuevas cepas cubanas de *Trichoderma* spp. efectivas en el control de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood

*Biological activity of new Cuban strains of Trichoderma spp. effective in the control of Meloidogyne incognita (Kofoid & White) Chitwood*

Yuramis Quesada-Mola<sup>1\*</sup>, Emilio Fernández-González<sup>1</sup>, Katherine Casanueva-Medina<sup>1</sup>, Enrique Ponce-Grijuela<sup>1</sup>, María Elena Márquez-Gutiérrez<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, Cuba.

<sup>2</sup> Dirección de Ciencia y Técnica, Universidad de La Habana, Cuba

<sup>3</sup> Facultad de Biología, Universidad de la Habana, Cuba.

\* Autor para correspondencia: [yquesada@inisav.cu](mailto:yquesada@inisav.cu)

### RESUMEN

Los nematodos del género *Meloidogyne* causan afectación en numerosos cultivos de interés agrícola. La especie de mayor importancia en Cuba, es *M. incognita*, y para su manejo se utilizan diversas prácticas que incluyen la utilización de agentes de control biológico. El aislamiento y selección de cepas efectivas en la reducción de poblaciones de este nematodo, forma parte del esquema de desarrollo de bioproductos para la protección de los cultivos. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la acción biológica de aislados autóctonos de *Trichoderma* spp. sobre *M. incognita*, y la determinación de la persistencia del efecto antagonista bajo condiciones *in vitro*. En el estudio se incluyeron las cepas patrón A-34 de *T. harzianum* y TS-3 de *T. viride* que pertenecen a la colección del Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Los nuevos aislados T-905, T-929 y T-942 redujeron la eclosión de la masa de huevos del nematodo entre 80-98%, comportamiento similar a la cepa de referencia TS-3, y se destacan por una acción antagonista irreversible. Los tratamientos con las cepas A-34 y A-53 alcanzaron valores de 81,98 - 75,11% respectivamente. Se observó deformación y parasitismo en los huevos de *M. incognita* y detención del proceso embrionario, algunos de ellos en estado necrótico. Se detectó actividad de enzimas quitinasas en todos los aislados ensayados. Estos resultados demuestran que los aislados T-905, T-929 y T-942, tienen potencialidades para el control de nematodos, y pueden ser usados para estudios en condiciones semicontroladas.

**Palabras clave:** bioproductos, nematodos, eclosión, efecto irreversible

Recibido: 2018-07-16

Aceptado: 2019-05-30

**ABSTRACT**

*Nematodes of the genus Meloidogyne cause affectation in numerous crops of agricultural interest. The most important species in Cuba is M. incognita, and for its management various practices are used that include the use of biological control agents. The isolation and selection of effective strains in the reduction of populations of this nematode, is part of the development scheme of bioproducts for the protection of crops. The objective of this work was to evaluate the biological action of autochthonous isolates of Trichoderma spp. on M. incognita, and the determination of the persistence of the antagonist effect under in vitro conditions. The study included the standard strains A-34 of T. harzianum and TS-3 of T. viride which belong to the collection of the Plant Health Research Institute. The new isolates T-905, T-929 and T-942 reduced the hatching of the egg mass of the nematode between 80-98%, behavior similar to the reference strain TS-3, and stand out for an irreversible antagonistic action. The treatments with strains A-34 and A-53 reached values of 81.98 - 75.11% respectively. Deformities and parasitism were observed in the eggs of M. incognita and also the embryonic process was stopped; some eggs were observed in a necrotic state. Chitinase enzyme activity was detected in all tested isolates. These results demonstrate that the isolates T-905, T-929 and T-942, have potentials for the control of nematodes, and can be used for studies in semicontrolled conditions.*

**Keywords:** bioproducts, nematodes, hatching, irreversible effect

**INTRODUCCIÓN**

Los nematodos fitoparásitos son una plaga importante de los cultivos agrícolas a nivel mundial. Causan pérdidas cercanas a los 350 billones de dólares de acuerdo a estimados en 37 cultivos y los datos de la producción del periodo 2010-2013 (Abd- Elgawad, 2014). Dentro de estos, los formadores de agallas del género *Meloidogyne*, se asocian a daños severos en numerosos cultivos de interés agrícola para Cuba, tales como el tomate, el café, los viveros de ornamentales, los sistemas de cultivo protegido, organopónicos, entre otros (Almarales *et al.*, 2014). Aunque se informan varias especies presentes, la especie de mayor distribución e importancia es *M. incognita* (Liriano *et al.*, 2012).

Sikora *et al.* (2005) destacaron que el concepto de control de nematodos ha evolucionado desde el enfoque de manejo integrado de plagas con alta dependencia del uso de químicos, hasta el manejo integrado de cultivos que favorece los métodos culturales y el manejo no químico. Los enfoques actuales tienden a ser más holísticos, con una amplia gama de combinaciones de herramientas para el manejo de nematodos, basados principalmente en las necesidades de los agricultores y no en la ideología de los científicos. La utilización de agentes de control biológico, ocupan un lugar importante en las estrategias que se complementan como parte del manejo integrado (Arias *et al.*, 2009; Flor-Peregrín, 2013).

Las especies del género *Trichoderma* constituyen eficientes agentes de biocontrol, muchas son producidas comercialmente y se aplican de forma preventiva en ambientes donde hay ataque severo de hongos patógenos de suelo. Además, se ha descrito como un antagonista efectivo, establecido en ecosistemas de cultivo que permanece activo sobre patógenos blancos bajo condiciones favorables (Martínez *et al.*, 2013). También pueden actuar sobre los fitonemátodos (Prabhakaran *et al.*, 2015; Santana *et al.*, 2016). Los mecanismos que mejor explican el antagonismo de *Trichoderma* son atribuidos a su velocidad de crecimiento, la capacidad de colonizar diferentes ambientes, en especial la rizósfera, y la excreción de metabolitos secundarios no volátiles de tipo enzimático, tales como quitinasas, celulasas y la  $\beta$ -1,3-glucanasas que hidrolizan el componente principal de las paredes celulares del nematodo (Kubicek *et al.*, 2011).

En Cuba, existen cepas de *T. harzianum* que se reproducen en los Centros de Reproducción de Entomófagos y Entomopatógenos del país (CREE), efectivas en el manejo de nematodos bajo condiciones de campo. Estudios previos realizados por Pérez *et al.* (2006) demostraron la acción biorreguladora de *T. harzianum* Rifai (cepa comercial A-34) y *T. viride* Persoon (cepa comercial TS-3), al evaluar su efecto en huevos y larvas de suelos infestados de nematodos. Sin embargo, otras cepas, procedentes de diferentes regiones del país, pueden ser evaluadas como nuevas alternativas de biocontrol que potencien el efecto

antagónico y en específico la acción bionemática ya que no todas tienen esta capacidad. El objetivo del trabajo fue evaluar la acción antagonista *in vitro* de cepas autóctonas de *Trichoderma* spp. contra *M. incognita* (Kofoed & White) Chitwood.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron nuevas cepas T-905, T-929 y T-942 del género *Trichoderma* incorporadas al cepario del INISAV, conservados en agar Papa Dextrosa (PDA) a 5°C. Se incluyeron en el estudio las cepas de producción A-34 y A-53, caracterizadas para el control de hongos fitopatógenos en trabajos previos (Pérez *et al.*, 2013; Samaniego-Fernández *et al.*, 2018) y la TS-3 conocida por su control contra nematodos (Fernández *et al.*, 2015) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Origen de las cepas de *Trichoderma* spp. utilizados en el ensayo. (\*) Nuevas cepas ensayadas

**Table 1.** Origin of the strains of *Trichoderma* spp. used in this essay. (\*) New strains tested.

Cepas	Sustrato	Procedencia	Identificación
T-905 (*)	Suelo	Lisa, La Habana	<i>T. viride</i> Persoon
T-929 (*)	Rizosfera de cactus	Jardín Botánico de Holguín	<i>Trichoderma</i> sp.
T-942 (*)	Rizosfera de plátano	Santo Domingo, Villa Clara	<i>Trichoderma</i> sp.
A-34	Rizosfera de Frijol	Estación Experimental de Alquizar	<i>T. harzianum</i> Rifai
A-53	Suelo	Zona tabacalera en Pinar del Río	<i>T. harzianum</i> Rifai
TS-3	Suelo rizosférico	Villa Clara	<i>T. viride</i> Persoon

La población de *M. incognita* obtenida en el Laboratorio de Nematología del INISAV en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), fue identificada mediante criterios morfológicos según Orton Williams (1973). Se emplearon masas de huevos con uniformidad en su tamaño.

### Efecto *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre la eclosión de masas de huevos de *M. incognita*

Las cepas se sembraron en tubos de cultivo con medio PDA y se incubaron a 30°C hasta su esporulación. Se realizaron diluciones decimales con agua destilada estéril y Tween 80 al 0,1 %. La concentración y la germinación de conidios se determinó de acuerdo a los métodos descritos por Márquez *et al.* (2010).

Se prepararon suspensiones a concentraciones de  $10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$  conidios/ml en vidrios reloj de 6 cm de diámetro, esterilizados y como control negativo se empleó agua destilada estéril. Las masas de huevos se desinfectaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 1 %, durante 20 segundos, se lavaron 3 veces con agua destilada esterilizada por 1 minuto y posteriormente se colocó una masa de huevos en cada vidrio reloj. A su vez, se ubicaron en placas de Petri estériles de 16 cm de diámetro en condiciones de cámara húmeda. Se utilizaron 4 réplicas por tratamiento y se incubaron entre 27-30 °C.

Se contaron los juveniles del segundo estadio ( $J_2$ ) emergidos a partir de las 24 hasta las 96 horas mediante observación al microscopio estereoscópico (250 X). Al finalizar el experimento se aplastaron las masas de huevos con ayuda de un portaobjeto y agua destilada estéril, observaciones a 400 X al microscopio óptico de campo claro Olympus. Se determinó el % de Reducción de la eclosión para cada uno de los tratamientos, según la siguiente ecuación (Márquez y Fernández, 2006).

$$\frac{(t - le) \times 100}{T}$$

Donde:

*t*: valor medio de larvas eclosionadas en el Testigo

*le*: larvas eclosionadas en los tratamientos

*T*: Testigo

Se describieron las características de los huevos y los  $J_2$  que no eclosionaron, registrando  $J_2$  con vacuolizaciones y deformaciones del sistema digestivo; la aparición de huevos con vacuolas, anomalías del proceso embrionario, necrosis y la presencia de hifas. Los ensayos se repitieron dos veces. En las masas de huevos donde se observó aparente colonización por los hongos evaluados, se realizaron aislamientos mediante la siembra en tubos de ensayo con medio de cultivo PDA. Se incubaron a 30°C y durante 96 horas para observar el crecimiento del hongo y su identificación según lo descrito por Barnett y Hunter (1972), Bisset (1991), Aceves (2003) y Ranasingh *et al.* (2006). Las fotomicrografías se tomaron con una cámara marca Canon, modelo PowerShot D10 y con observación a 400 X.

### Determinación de la persistencia del efecto antagonista de *Trichoderma* spp. en masas de huevos de *M. incognita*

En las masas de huevos que tuvieron poca o ninguna eclosión, se seleccionaron los  $J_2$  que emergieron y no tuvieron movimiento, se colocaron en vidrios reloj

con 2 ml de agua destilada estéril para eliminar la acción del tratamiento de la cepa, en condiciones de cámara húmeda. Fueron contados los ejemplares que emergieron hasta un período de 72 horas, para registrar la persistencia del efecto antagonista.

#### Determinación cualitativa de la producción de enzima quitinasa en *Trichoderma spp*

Se preparó medio de cultivo con 0, 25 g de quitina coloidal; 0,2 g de  $\text{Na}_2\text{NO}_3$ ; 0,001 g de  $\text{MgSO}_4$ ; 0,1 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  y 12 g de Agar nutriente por cada 100 ml de agua. Se esterilizó a 120°C por 20 minutos. Los aislados fueron sembrados en placas de Petri por ponches de 0,5 mm de diámetro e incubados a 30°C.

La hidrólisis se determinó por crecimiento del hongo después de los 7 días de la siembra del disco de agar de 4 mm de diámetro con micelio según los criterios de Pinto *et al.* (2007). Se tomó como resultado positivo la presencia de crecimiento del microorganismo o un halo claro alrededor del mismo, transcurrida una semana de incubación a 30°C.

#### Análisis estadístico

Los porcentajes de eclosión de los huevos de *M. incognita* se transformaron a  $\arcsen \sqrt{v\%}$  y sometidos a ANOVA. Las medias se compararon mediante la prueba de Tukey con un intervalo de confianza de 95%.

## RESULTADOS

#### Efecto *in vitro* de *Trichoderma spp.* sobre la eclosión de masas de huevos de *M. incognita*

Todas las cepas evaluadas provocaron efectos negativos sobre la eclosión de los huevos de *M. incognita* (Tabla 2). En el testigo se observaron más de 70 juveniles en las primeras 24 horas y 287 como promedio, por masa de huevos a las 96 horas. Los  $J_2$  emergidos fueron escasos o nulos y mostraron movimientos normales a las 24 horas en cada tratamiento, con respecto al testigo, sin observarse diferencias significativas entre ellos.

A las 48 horas, se observó que las cepas T- 905 y TS- 3 disminuyeron la emergencia de los juveniles en más del 70 %, sin embargo, el mayor efecto se obtuvo con las cepas T- 942 y A- 34 por presentarse valores superiores al 80 % de reducción de la eclosión.

Las concentraciones de  $10^8$  y  $10^7$  conidios/ml de las cepas T- 905, T- 929 y T- 942 fueron similares a la cepa TS- 3, que se emplea a nivel nacional como bionemática, y superaron los valores de actividad sobre la eclosión de las masas de huevos con respecto a la cepa A- 53.

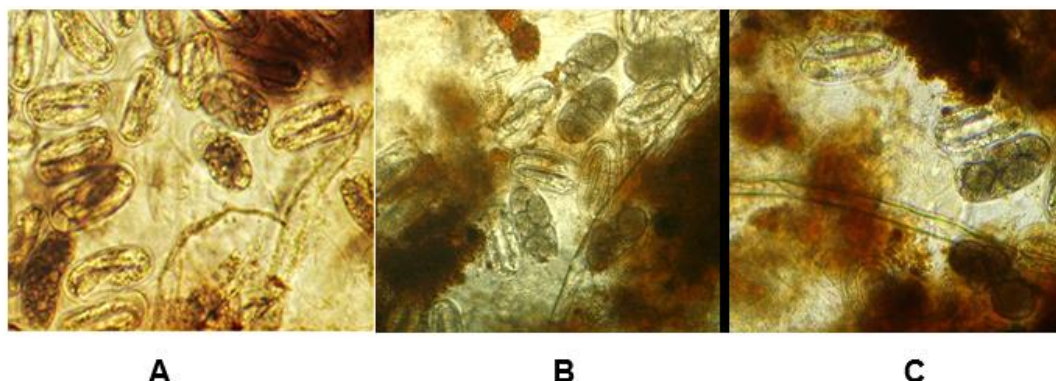
**Tabla 2:** Efecto de las cepas de *Trichoderma* sobre la eclosión de masas de huevos de *M. incognita*

**Table 2:** Effect of the *Trichoderma* strains on the hatching of eggs masses of *M. incognita*

Tratamientos		Evaluaciones			Valores expresados en porcentaje de reducción de la eclosión de los tratamientos con respecto al testigo. Letras no comunes indican diferencias significativas para $p < 0,05$ . Test de Tukey.
	(conidios/ml)	24h (%)	48h (%)	96h (%)	
TS- 3	$10^9$	98,95 a	98,44 a	96,6 a	Percent values of hatching reduction respect to the control. Uncommon letters mean significant differences for $p < 0,05$ Tukey test.
	$10^8$	100 a	81,51 b	76,74 bc	
	$10^7$	100 a	76,45 bc	83,9 b	
A- 34	$10^9$	96,85 a	97,27 a	97,65 a	
	$10^8$	100 a	97,5 a	92,08 a	
	$10^7$	100 a	89,1 ab	81,98 b	
A- 53	$10^9$	100 a	99,02 a	99,21 a	
	$10^8$	100 a	59,92 d	66,58 d	
	$10^7$	100 a	64,69 c	75,11 c	
T- 905	$10^9$	98,95 a	98,83 a	98,25 a	
	$10^8$	100 a	94,35 a	84,59 b	
	$10^7$	100 a	75,68 bc	79,29 bc	
T- 929	$10^9$	91,6 a	78,79 bc	85,20 a	
	$10^8$	100 a	75,48 bc	81,29 b	
	$10^7$	100 a	69,45 c	80,59 b	
T- 942	$10^9$	95,8 a	96,49 a	95,47 a	
	$10^8$	100 a	93,19 a	89,03 ab	
	$10^7$	100 a	89,88 ab	84,59 b	
Testigo	Agua destilada estéril	71,5	128,5	287,33	
		ES: 3,05	ES: 2,80	ES: 3,10	
		CV(%)= 10,0	CV (%)= 9,8	CV (%)= 10,2	

En la Figura 1 se observan fotomicrografías de las afectaciones del desarrollo embrionario de *M. incognita* como resultado de la acción de las cepas T-905, T-929 y T- 942. Se caracterizan por la presencia de

deformaciones, parasitismo de los huevos y detención del proceso embrionario, algunos se encontraron en estado necrótico. Los juveniles presentaron ausencia de respuesta ante estímulos luminosos.



**Figura 1:** Huevos de *M. incognita* con deformaciones y necrosis después de ser tratados con los aislados de *Trichoderma*: (A) T- 905, (B) T- 929 y (C) T- 942. Aumento (400 X)

**Figure 1:** *M. incognita* eggs with deformations and necrosis after being treated with *Trichoderma* isolates: (A) T- 905, (B) T- 929 y (C) T- 942. Magnification (400 X)

#### Efecto antagonista de los aislados de *Trichoderma* sobre masas de huevos de *M. incognita*

Se mantuvo la acción antagonista aun cuando las masas de huevos fueron retiradas de los tratamientos con cada una de las cepas evaluadas (Tabla 3).

Solamente una baja cantidad de juveniles (0- 15) emergieron y presentaron movimientos lentos. Con el tratamiento de mayor concentración de la cepa T-905 no se detectaron alteraciones en el movimiento de los juveniles y con la cepa A- 53 no hubo eclosión.

**Tabla 3:** Efecto de las cepas sobre los juveniles del segundo estadio ( $J_2$ ) que emergieron en agua destilada estéril al ser retirados de los tratamientos.

**Table 3:** Effect of the strains on juveniles of the second-stage ( $J_2$ ) that emerged in sterile distilled water when being removed of the treatments.

Cepa	Características del movimiento/ Reversibilidad del efecto *					
	10 <sup>9</sup> conidios/ml		10 <sup>8</sup> conidios/ml		10 <sup>7</sup> conidios/ml	
	Juveniles ( $J_2$ )	Características del movimiento	Juveniles ( $J_2$ )	Características del movimiento	Juveniles ( $J_2$ )	Características del movimiento
TS- 3	12	Movimiento lento	2	Movimiento lento	10	Movimiento lento
A- 34	4	Movimiento lento	8	Movimiento lento	12	Movimiento lento
A- 53	0	No eclosión	6	Movimiento lento	15	Movimiento lento
T- 905	10	Movimiento normal	4	Movimiento lento	5	Movimiento lento
T- 929	13	Movimiento lento	15	Movimiento lento	14	Movimiento lento
T- 942	6	Movimiento lento	11	Movimiento lento	7	Movimiento lento



### Determinación cualitativa de la producción de enzima quitinasa en *Trichoderma* spp

Se observó la presencia de crecimiento y de un halo claro alrededor del mismo en el medio de cultivo con quitina coloidal, lo que evidencia la capacidad de producción de enzimas quitinasas en las cepas T- 905, T- 929 y T-942, por lo que la detección cualitativa resultó positiva (Fig. 2).



**Figura 2:** Crecimiento de la cepa T- 905 de *Trichoderma* en el medio de cultivo con quitina coloidal.

**Figure 2:** Growth of T-905 strain of *Trichoderma* in the culture medium with colloidal chitin

## DISCUSIÓN

Algunas especies de *Trichoderma* han sido utilizadas satisfactoriamente como agentes de control biológico sobre los nematodos formadores de agallas en las raíces (Meyer *et al.*, 2001). La amplia variabilidad dentro de este género exige de una cuidadosa selección y validación de las cepas con potencialidades como agente de control biológico de nematodos, pues esta capacidad es poco conocida desde el punto de vista comercial en algunos países. Se conoce que las quitinasas son las enzimas que degradan la cutícula de los fitonematodos y junto a otros metabolitos que excretan manifiestan la actividad nematicida, capaz de controlarlos hasta su muerte (Mokbel *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2012).

Se mostró la capacidad antagonista en huevos y J<sub>2</sub> de las tres cepas nativas procedentes de la rizosfera y el suelo con valores entre 79- 98 % de reducción de la eclosión de las masas de huevos de *M. incognita*. Los resultados de la evaluación fueron superiores a los informados por Moura *et al.* (2012), quienes indicaron que en Brasil, bajo condiciones de casas de cultivo protegido, *T. harzianum* parasitó e inmovilizó entre el 68, 7 y el 59, 4 % de huevos y juveniles del segundo estadio de *M. incognita* respectivamente en ensayos *in vitro*.

En el presente estudio se demostró la actividad nematicida de *Trichoderma*, anteriormente registrada por Kariuki *et al.* (2014) al afirmar que las especies de *Trichoderma* son generalmente antagonistas de otros hongos, y que solo algunas especies y cepas pueden tener también acción nematicida, principalmente frente a *Meloidogyne*.

Las cepas TS- 3 de *T. viride* Pers y A- 34 de *T. harzianum*, constituyen ingredientes activos de los bioproductos TRICOSAVE- 3 y TRICOSAVE- 34, respectivamente (Pérez *et al.*, 2006; Méndez y Polanco, 2006) y se emplean a nivel nacional para el control de hongos fitopatógenos. La actividad nematicida de ambos productos biológicos se demostró en plantaciones de café, viveros de ornamentales, cultivos protegidos, organopónicos y otros sistemas de producción agraria, con resultados significativos en el manejo del nematodo (Stefanova, 2007; Santana *et al.*, 2010). Las cepas T- 905 (*T. viride*), T- 929 y T- 942 se evalúan por primera vez en ensayos *in vitro* contra nematodos, por lo que se desconoce aún su acción contra otros fitopatógenos.

Ferreira *et al.* (2008) informaron que el género *Trichoderma* es capaz de parasitar los huevos, reducir su eclosión y afectar la movilidad de los juveniles en concentraciones superiores a 10<sup>8</sup> conidios/ ml. Los resultados alcanzados en este estudio mostraron que los juveniles tratados a la menor concentración ensayada con los aislados de *Trichoderma* provocaron afectaciones en la motilidad de los juveniles. Sharon *et al.* (2007) demostraron que los huevos parasitados por conidios del hongo fueron no viables y disminuyeron el promedio de eclosión. Freitas *et al.* (2012) plantearon que otro de los mecanismos de acción puede relacionarse con la mortalidad del embrión, y se evidencia por un oscurecimiento de los huevos a causa de la acción enzimática, como fue detectado en este trabajo.

Diferentes investigaciones sugieren que los mecanismos conocidos como el parasitismo y la actividad letal de metabolitos secundarios, también resultan efectivos en su acción contra los nematodos formadores de agallas. El micoparasitismo es uno de los mecanismos para ejercer el control biológico mediante la producción de enzimas quitinasas, proteasas y glucanasas (González *et al.*, 2011).

Precisamente para comprobar la persistencia del antagonismo de las tres nuevas cepas de *Trichoderma*, se realizó la evaluación de la persistencia del efecto antagonista sobre las masas de huevos de *M. incognita*. El comportamiento observado sugiere que el efecto tuvo un mayor componente nematocida.

La determinación de efectos nematocidas irreversibles, sobre la eclosión de huevos de *M. incognita* por los nuevas cepas de *Trichoderma*, constituyen un aspecto de importancia en la protección fitosanitaria destacado por Cristóbal *et al.* (2015), quienes demostraron la acción de varias cepas de *Trichoderma* en la supresión de *M. incognita* en el cultivo del chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq), con el uso de cepas nativas de *T. harzianum*, *T. atroviride* sp. que redujeron significativamente la formación de agallas y el número de huevos. Este resultado pudiera constituir el inicio de formas novedosas de aplicación, al combinar cepas, aspecto que actualmente constituye una práctica de manejo de nematodos en diferentes países, por lo que pudiera ser considerado en el control biológico de esta plaga en Cuba.

De acuerdo a lo informado por Nava (2009) las enzimas quitinasas pueden ser inducidas artificialmente cuando estos hongos son cultivados en medios suplementados con quitina. Howell (2003) informa que las cepas de *Trichoderma* sintetizan enzimas quitinasas y se diferencian entre sí por los niveles de expresión de las mismas, lo que determina su capacidad antagónica. La función de las quitinasas en la infección de huevos de nematodos se informó en hongos de los géneros *Pochonia* y *Paecilomyces* por Peteira *et al.* (2009), Abd-Elgawad y Askary (2018), y se comprobó en *Trichoderma* por Hernández *et al.* (2015), en su estudio de efecto de *T. harzianum* sobre *M. javanica*. Estos últimos autores señalaron que es posible que la penetración a los huevos se favorece por la acción de otras enzimas líticas.

La acción de las enzimas quitinasas detectadas en las distintas cepas utilizadas como tratamientos sobre las masas de huevos de *M. incognita*, puede deberse a

que este género parasita al fitopatógeno mediante enrollamiento y apresorios que penetran la pared celular por la acción hidrolítica de estas enzimas. Esto justifica la afectación observada en los huevos con los distintos tratamientos de las especies de *Trichoderma*. Jin *et al.* (2005), Mokbel *et al.* (2009) y Yang *et al.* (2012) informaron, además, que varias especies de este género son capaces de envolver a los nematodos con su micelio y además segregar metabolitos con actividad nematocida. Al respecto, Manzanilla-López *et al.* (2013) en su compendio acerca de agentes de control biológico, señalaron que aislados de *T. asperellum* tuvieron un alto porcentaje de parasitismo (95 %), en huevos de nematodos formadores de agallas en ensayos *in vitro*.

Las especies de *Trichoderma*, se emplean a nivel mundial, para incrementar el rendimiento de los cultivos, disminuir el costo ecológico y económico que trae consigo la aplicación de los plaguicidas químicos. Cepas pertenecientes a este género son amigables con el ambiente, pueden ser aplicadas directamente al suelo o a las posturas y brindar protección contra los nematodos formadores de agallas, además de sus propiedades antifúngicas, que contribuyen a la sanidad de la raíz y el suelo. Los resultados obtenidos con las cepas T-905, T-929 y T-942, demostraron su acción nematocida, lo que puede garantizar un uso inmediato para el desarrollo de nuevos bionematocidas atractivos desde el punto de vista comercial en Cuba.

## LITERATURA CITADA

- Abd-Elgawad M. M. M. (2014) Plant-parasitic nematode threats to global food security. *Journal of Nematology* 46(2): 130.
- Abd-Elgawad M. M. M. y T. H. Askary (2018) Fungal and bacterial nematocides in integrated nematode management strategies. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 28:74.
- Aceves A. (2003) Cepas nativas de *Trichoderma* spp. (Euscomycetes Hypocreales), su antibiosis y micoparasitismo sobre *Fusarium subglutinans* y *F. oxysporum* (Hyphomycetes: Hyphales). Tesis de Doctorado, Universidad de Colima, México.
- Almarales M., C. V. Martín, R. Leresma (2014) Prospección de nematodos en las zonas agrícolas de la provincia de Cienfuegos. *Revista Agroecosistemas* 2(2): 337- 348.
- Arias Y.; I. González, M. Rodríguez, C. Rosales, *et al.* (2009) Aspectos generales de la interacción tomate (*Solanum lycopersicon* L.)– *Meloidogyne incognita*. *Revista Protección Vegetal* 24(1): 1-13.

- Bisset, J. (1991) A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section Pachybasium. Can. J. Bot. 69: 2373- 2417.
- Cristobal J., J. Candelero, M. Reyes, J. M. Tun, *et al.* (2015) Aislados nativos de *Trichoderma* spp. en la supresión de *Meloidogyne incognita*. En: Resúmenes de la 47 Reunión Anual de la Organización de Nematólogos de los Trópicos Americanos (ONTA). Varadero, Cuba.
- Fernández E., K. Casanueva, H. Gandarilla, M. E. Márquez *et al.* (2015) Nematodos en cultivos protegidos de hortalizas y su manejo en tres localidades de La Habana. Fitosanidad 19 (1): 13-22.
- Ferreira P., S. Ferraz, E. Lopes, L. Grassi (2008) Parasitismo de ovos de *Meloidogyne exigua* por fungos nematófagos e estudo da compatibilidade entre os isolados fúngicos. Rev. Trópica- Ciências Agrárias e Biológicas 2 (3): 15.
- Flor- Peregrín, E. (2013) Uso de agentes de control y protección biológica frente a nematodos del género *Meloidogyne* en cultivos protegidos bajo plástico. Tesis de Doctorado, Universidad de Granada, España.
- Freitas M. A., E. M. R. Pedrosa, R. L. R. Mariano, L. M. P. Guimarães (2012) Seleção de *Trichoderma* spp. como potenciais agentes de biocontrole para *Meloidogyne incognita* em cana-de-açúcar. Nematropica 42: 115- 122.
- González I., D. Infante, B. Peteira, B. Martínez, *et al.* (2011) Caracterización bioquímica de aislamientos de *Trichoderma* spp. promisorios como agentes de control biológico. II. Expresión de la actividad glucanasa. Rev. Protección Vegetal 26 (1): 23- 29.
- Hernández O. D., M. G. Rodríguez, B. Peteira, I. Miranda, *et al.* (2015) Efecto de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg sobre el desarrollo del tomate y *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. Revista de Protección Vegetal 30 (2):139-147.
- Howell C. (2003) Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The story and evolution of current concepts. Plant Diseases 87 (1): 4- 10.
- Jin, R., J. Suh, R. Park, Y. Kim, *et al.* (2005) Effect of chitin compost and broth on biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Rev Nematology 7: 125- 132.
- Kariuki G. M., L. Muriuki, A. K. Thuo, J. W. Kibunja, *et al.* (2014) Safe and effective nematode and other pests management strategies to strengthen the tomato value chain in coastal Kenya. Journal of nematology 46(2):185-186.
- Kubicek, C. P., A. Herrera-Estrella, V. Seidl-Seiboth, D. A. Martinez (2011) Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. Genome Biology 12(4):40.
- Liriano, R.; O. Mirabal, R. Rodríguez, M. Viltres (2012) Uso del hongo *Trichoderma* spp. para el manejo de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en tomate. Centro Agrícola 39(4): 49- 54.
- Manzanilla-López, R.H., I. Esteves, M.M. Finetti-Sialer, P.R. Hirsch, *et al.* (2013) Journal of Nematology 45 (1): 1- 7.
- Márquez M. E., E. Fernández (2006) Selección de cepas de *Bacillus thuringiensis* con efecto nematocida. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 78: 63- 69.
- Márquez M. E., O. Fernández-Larrea, J. Jiménez, O. Elósegui, *et al.* (2010) Producción masiva de bioplaguicidas para el control biológico de plagas y enfermedades. Centro de Información y Documentación de Sanidad Vegetal (CIDISAV). <http://www.inisav.cu>. ISBN 978-959-7174-30-9.
- Martínez, B., D. Infante, Y. Reyes (2013) *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Revista Protección Vegetal 28(1): 1-11.
- Méndez, M. R. y A. Polanco (2006) Métodos de control de nematodos con *Trichoderma harzianum* en casas de cultivo. Fitosanidad 10: 174.
- Meyer S., D. Roberts, D. Chitwood, L. Carta, *et al.* (2001) Application of *Burkholderia cepacia* and *Trichoderma virens*, alone and in combination against *Meloidogyne incognita* on bell pepper. Nematropica 31: 75- 86.
- Mokbel A. A., I. M. Obad, I. K. Ibrahim (2009) The role of antagonistic metabolites in controlling root-knot nematode, *Meloidogyne arenaria* on tomato. Alexandria Journal of Agricultural Research 54 (1): 199- 205.
- Moura G., M. Ferreira, J. Vieira de Araujo (2012) *Trichoderma harzianum* reduces population of *Meloidogyne incognita* in cucumber plants under greenhouse conditions. Journal of Entomology and Nematology 4 (6): 54- 57.
- Nava I. (2009) Demostración de la actividad de quitina desacetilasa en *Bacillus thuringiensis*. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. México.
- Orton Williams K. J. (1973) *Meloidogyne incognita*. C. I. H. Descriptions of Plant Parasitic Nematodes. Set 2 No. 18.
- Pérez J., A. Pérez, O. Acosta, H. Garandilla, *et al.* (2006) *Trichoderma*, alternativa para el control biológico de nematodos dentro de una agricultura sostenible. Fitosanidad 10 (2): 165.
- Pérez, E. J., A. Bernal, P. Milanés, M. Leiva, *et al.* (2013) Influencia del tiempo de incubación de *Trichoderma harzianum* Rifai en la actividad antifúngica del filtrado de cultivo contra *Bipolaris oryzae*. Centro Agrícola 40(2): 25-30.
- Peteira B., I. Estevez, S. Atkins, L. Hidalgo, *et al.* (2009) Inducción de enzimas extracelulares con huevos de *Meloidogyne incognita* y *Globodera pallida*. Rev. Protección Vegetal 24 (2): 94- 101.
- Pinto A., L. Uribe, J. Blanco, G. Fontecha, *et al.* (2007) Actividades enzimáticas en aislamientos bacterianos de tractos digestivos de larvas y del contenido de pupas de *Automeris zugana* y *Rothschildia lebeau* (Lepidóptera: Saturniidae). Revista Biología Tropical. 55(2): 401- 415.



- Prabhakaran, N.; T. Prameeladevi, M. Sathiyabama, D. Kamil (2015) Screening of different *Trichoderma* species against agriculturally important foliar plant pathogens. *Journal of Environmental Biology* 36(1):191.
- Ranasingh N., A. Saurabh, M. Nedunchezhiyan (2006) Use of *Trichoderma* in Disease Management. *Orissa Review*: 68-70.
- Samaniego-Fernández L. M., O.C. Maimouna, A. J. Rondón-Castillo, I. Placeres-Espinosa (2018) Aislamiento, identificación y evaluación de cepas autóctonas de *Trichoderma* spp. antagonistas de patógenos del suelo. *Revista Protección Vegetal* 33 (3).
- Santana, Y.; C. Casola; P. Cussy. (2010) Uso de *Trichoderma harzianum* R. como control biológico de *Cercospora beticola* (Sacc.), en el cultivo de la remolacha (*Beta vulgaris* Lin.) en sistemas de organopónicos. *Fitosanidad* 14 (1): 66- 67.
- Santana Y., A. del Busto, M. Rodríguez, F. L. Rodríguez, *et al.* (2016) Interacción de *Trichoderma harzianum* Rifai y *Azadirachta indica* A. Juss. sobre población de *Meloidogyne* spp. en plántulas de *Solanum lycopersicum* L. *Revista Protección Vegetal* 31(1): 114-119.
- Sharon E., I. Chet, A. Viterbo, M. Bar-Eyal, *et al.* (2007) Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix. *European Journal of Plant Pathology* 118: 247- 258.
- Sikora, R. A., J. Bridge, J. L. Star (2005) Management practices: An Overview of Integrated Nematode Management Technologies. En: *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Nematology*, Eds. Luc M., R. A. Sikora y J. Bridge. CABI Bioscience, Egham. pp 793- 825.
- Stefanova M. (2007) Introducción y eficacia técnica del biocontrol de fitopatógenos con *Trichoderma* spp. en Cuba. *Fitosanidad* 11 (3): 75- 79.
- Yang Z., Z. Yu, L. Lei, Z. Xia, *et al.* (2012) Nematicidal effect of volatiles produced by *Trichoderma* sp. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 15 (4): 647- 650.