

Nota técnica

DETERMINACIÓN DEL CRECIMIENTO DE HONGOS NEMATÓFAGOS EN DIVERSAS FUENTES DE CARBONO

Martha Orozco A.^{1/*}, Ana Jiménez R.^{**}, Oscar Acuña N.^{***}, Víctor Álvarez C.^{****}

Palabras clave: *Arthrobotrys oligospora*; *Candelabrella musiformis*; enmienda orgánica; fase depredadora; fase saprofítica; fuente de carbono.

Keywords: *Arthrobotrys oligospora*; *Candelabrella musiformis*; carbon source; organic amendment; predatory phase; saprophytic phase.

Recibido: 02/09/14

Aceptado: 11/03/15

RESUMEN

Las enmiendas orgánicas han sido utilizadas para estimular la acción antagónica de los hongos nematófagos depredadores (HND) del suelo, sin embargo, su uso ha producido resultados inconsistentes en el control de nematodos parásitos. Las inconsistencias han sido atribuidas parcialmente a la composición de las enmiendas orgánicas, específicamente al contenido de carbono y nitrógeno. Conocer las preferencias de fuentes de carbono podría ser de utilidad para favorecer la fase depredadora de los HND del suelo. El presente trabajo tiene por objetivo determinar el crecimiento de HND nativos de Costa Rica en fuentes de carbono diversas. Para esto, cepas de HND de las especies *Candelabrella musiformis* y *Arthrobotrys oligospora* fueron cultivadas en medios artificiales con diversas fuentes de carbono. La velocidad de crecimiento desarrollada por los HND en los medios de

ABSTRACT

Determination of the growth of nematophagous fungi on diverse carbon sources. Organic amendments have been widely used to stimulate the populations of predatory nematophagous fungi (PNF) in soil; however, the use of organic amendments has produced inconsistent results in the control of parasitic nematodes. The inconsistencies have been partially attributed to the chemical composition of the organic amendments, specifically to carbon and nitrogen contents. Therefore, to know the carbon preferences of these fungi could be helpful to promote the predatory phase of the PNF in soil. The aim of this study was to determine the growth of native PNF strains from Costa Rica in diverse carbon sources. The PNF *Arthrobotrys oligospora* and *Candelabrella musiformis* were grown in artificial culture media containing the following carbon sources:

1 Autor para correspondencia. Correo electrónico: marthaoa2001@yahoo.com.mx

* Maestría en Agricultura Alternativa con mención en Agricultura Ecológica, Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

** Laboratorio de Parasitología Veterinaria, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

*** Laboratorio de Bioquímica de Procesos Orgánicos, Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

**** Dirección General de Sanidad Animal, Ministerio de Agricultura y Ganadería, Heredia, Costa Rica.

cultivo fue determinada y comparada. Las cepas de *C. musiformis* y de *A. oligospora* desarrollaron velocidades de crecimiento en las fuentes de carbono en el siguiente orden: celulosa>quitina>pectina>almidón>leche descremada. Únicamente hubo diferencias significativas en la velocidad de crecimiento en el medio con celulosa, en comparación con los otros medios de cultivo. En dicho medio ambas especies fúngicas crecieron más rápidamente, pero las cepas de *A. oligospora* crecieron más rápidamente en comparación con las cepas de *C. musiformis*. Ambas especies de HND desarrollaron velocidades de crecimiento bajas en los medios que contenían almidón y leche descremada.

cellulose, chitin, pectin, starch, and skim milk. The growth rate developed by the PNF in each one of the culture media was determined and compared. The growth rates developed by both fungal species followed the next order: cellulose>chitin>pectin>starch>skim milk. Significant differences in the growth rates developed by the fungal strains were detected only in culture medium containing cellulose, in comparison with culture media containing other carbon sources. In culture medium containing cellulose both *A. oligospora* and *C. musiformis* grew faster with respect to the other culture media, but *A. oligospora* strains grew faster in comparison with *C. musiformis* strains. Both fungal species developed the lowest growth rates in culture media containing starch and skim milk.

INTRODUCCIÓN

Las enmiendas orgánicas estimulan la acción antagonista de las poblaciones de hongos nematófagos depredadores (HND) del suelo (Stirling 1991, Akhtar y Malik 2000, Oka 2010), lo cual es requerido en una estrategia de control biológico de nematodos parásitos de plantas o de animales. Las enmiendas orgánicas que han sido utilizadas para estimular la actividad depredadora de los HND son de diversa naturaleza, por ejemplo residuos vegetales, estiércoles animales, materiales quitinosos, o compost (Akhtar y Mahmood 1996, Akhtar y Malik 2000, Dong y Zhang 2006, Oka 2010). Sin embargo, en la práctica el uso de dichas enmiendas orgánicas para estimular el control biológico de nematodos parásitos mediante HND frecuentemente presenta resultados inconsistentes (Siddiqui y Mahmood 1996, Dong y Zhang 2006, Oka 2010, Tabarant et ál. 2011). Este comportamiento ha sido atribuido entre otros aspectos a la composición química de la enmienda orgánica empleada y

a la fisiología particular de los HND (Akhtar y Malik 2000, Jaffee 2004a, Nguyen et ál. 2007, Tabarant et ál. 2011). Diversos experimentos han evidenciado un incremento en la actividad depredadora de algunos HND por la adición de enmiendas orgánicas al suelo, mientras que la misma enmienda orgánica puede no producir el mismo efecto en otras especies de HND (Jaffee et ál. 1998, Jaffee 2004a, Nguyen et ál. 2007). En este escenario, resulta una necesidad investigar aspectos nutricionales de HND específicos de una manera detallada. Dicha información permitiría manipular las condiciones ambientales del suelo donde los HND van a actuar para proporcionarles ventajas competitivas para llevar a cabo su función como biocontroladores.

Las enmiendas orgánicas usadas para estimular las poblaciones de HND pueden contener diversos tipos de fuentes de carbono. Sin embargo, es probable que estos hongos presenten preferencias nutricionales por algunas fuentes de carbono, es decir, los HND pueden ser capaces

de metabolizar eficientemente algunas fuentes de carbono, pero no otras (Satchuthananthavale y Cooke 1967, Tabarant et ál. 2011). Esto resulta relevante, ya que diversas investigaciones reportan que la competencia entre los HND y otros microorganismos del suelo por sustratos orgánicos, es el fenómeno que activa o inactiva la fase depredadora de los HND (Cooke 1962, Pramer 1964, Quinn 1987). En una estrategia de control biológico de nematodos, es precisamente la fase depredadora la que nos interesa activar y mantener por sobre la fase saprofitica.

En suelos de Costa Rica los HND se encuentran ampliamente distribuidos, hongos como *Arthrobotrys oligospora*, *A. conoides*, *A. dactyloides*, *Candelabrella musiformis* y *Mona-crosporium* sp., han sido aislados de diversos tipos de sustratos, sistemas productivos, y áreas geográficas (Peraza et ál. 2011, Soto et ál. 2011), por lo que su uso como biocontroladores de nematodos parásitos de plantas y animales a nivel local es viable. Los HND nativos de Costa Rica han demostrado ser biocontroladores eficientes de nematodos parásitos (Orozco et ál. 2009, Soto et ál. 2011); sin embargo, para mejorar su

desempeño en una estrategia de control biológico en el suelo, métodos apropiados de aplicación/inoculación o incremento de las poblaciones autóctonas deben ser desarrollados, dentro de los cuales el uso de enmiendas orgánicas es factible. El presente trabajo tiene por objetivo determinar el crecimiento diferencial de HND nativos de Costa Rica en fuentes de carbono diversas, mediante la determinación de la rapidez (velocidad de crecimiento) con que colonizan medios de cultivo artificiales con dichas fuentes de carbono.

MATERIALES Y MÉTODOS

Hongos nematófagos depredadores

Quince cepas de HND nativos provenientes de 5 provincias de Costa Rica (Alajuela, Cartago, Heredia, Limón y San José) fueron utilizadas en el presente trabajo. Las cepas fueron aisladas de diversos tipos de sustratos provenientes de sistemas productivos con manejos diferentes, y de varias áreas geográficas distintas (Cuadro 1). De las 15 cepas, 9 fueron identificadas como *C. musiformis*, que es un HND

Cuadro 1. Hongos nematófagos depredadores utilizados y su origen.

| Cepa | Especie | Sustrato | Origen del sustrato |
|-------|----------------------|--|----------------------|
| BBP1 | <i>C. musiformis</i> | Bocashi elaborado a partir de estiércol de bovino | Poasito, Alajuela |
| BBP2 | <i>A. oligospora</i> | Bocashi elaborado a partir de estiércol de bovino | Poasito, Alajuela |
| C4 | <i>A. oligospora</i> | Estiércol de cabra | Coronado, San José |
| DAP | <i>A. oligospora</i> | Suelo de potrero, ganado vacuno, finca lechera orgánica | Moravia, San José |
| DEPG | <i>C. musiformis</i> | Suelo de potrero rotativo de gallinas, producción orgánica | África, Limón |
| FDH1 | <i>C. musiformis</i> | Suelo sistema agroforestal de producción de cacao | Talamanca, Limón |
| G1 | <i>A. oligospora</i> | Estiércol de bovino, finca ganadera | Guápiles, Limón |
| G3 | <i>C. musiformis</i> | Estiércol de bovino, finca ganadera | Guápiles, Limón |
| LS | <i>C. musiformis</i> | Suelo y hojarasca bosque secundario | Sarapiquí, Heredia |
| MEG | <i>C. musiformis</i> | Estiércol de bovino, manejo ecológico | Pococí, Limón |
| MO1 | <i>A. oligospora</i> | Suelo de plantación de morera orgánica, abonada con lombricompost de cabra | Santa Lucía, Heredia |
| PFC | <i>C. musiformis</i> | Suelo de potrero, finca diversificada en transición | Coronado, San José |
| PFSL1 | <i>C. musiformis</i> | Suelo de potrero proyecto lechero, ganado bovino | Santa Lucía, Heredia |
| UCR1a | <i>A. oligospora</i> | Estiércol ganado bovino lechero | Turrialba, Cartago |
| UCR1b | <i>C. musiformis</i> | Estiércol ganado bovino lechero | Turrialba, Cartago |

formador de redes adhesivas bidimensionales, y 6 fueron identificadas como *A. oligospora*, que es un HND formador de redes adhesivas tridimensionales (Watanabe 1937, Haard 1968, De Hoog 1985, Rubner 1996). Para la obtención del inóculo para el experimento, todos los hongos fueron reproducidos en agar-agua (AA) e incubados a temperatura ambiente (23-26°C) y luz artificial por una semana.

Determinación de la velocidad de crecimiento de los hongos nematófagos depredadores en medios de cultivo artificiales con fuentes de carbono diversas

La determinación de la velocidad de crecimiento de los HND se realizó en cajas petri de 9 cm de diámetro con medios de cultivo formulados con las siguientes fuentes de carbono: celulosa (Villena y Gutiérrez 2003), pectina (Malvessi y Moura 2004), leche descremada, quitina y almidón (Sánchez 2000). En las bases de todas las cajas petri se trazaron 2 ejes perpendiculares, en cuya intersección se depositaron de 4000 a 6000 conidios de cada una de las cepas de HND. La velocidad de crecimiento de los hongos en cada medio de cultivo diferente se realizó por triplicado. Todas las cajas, se incubaron a temperatura ambiente (23-26°C) y luz artificial. A partir de las 24 h y hasta que los hongos cubrieron toda la superficie del medio se midió (en cm) el crecimiento fúngico sobre los ejes (French y Hebert 1980). Posteriormente se calculó el promedio de las 3 repeticiones y con los datos obtenidos se construyó la curva de crecimiento de cada una de las cepas en los diferentes medios de cultivo. La curva de crecimiento permitió calcular la velocidad de crecimiento (en $\text{cm}\cdot\text{h}^{-1}$) por medio de la determinación de la pendiente de la curva en la fase logarítmica. La velocidad de crecimiento de los HND se midió también en los medios papa-dextrosa agar (PDA) y AA, los cuales fungieron como testigos, ya que en el primero los HND crecen rápidamente y producen gran cantidad de biomasa, en el segundo los hongos crecen lentamente y producen una baja cantidad

de biomasa debido a que se trata de un medio de cultivo extremadamente pobre.

Análisis estadísticos

Para determinar diferencias en las velocidades de crecimiento desarrolladas por las cepas de *C. musiformis* y *A. oligospora* en los medios de cultivo a partir de fuentes de carbono diversas, análisis permutacional multivariado de varianza (PERMANOVA) y análisis de varianza de una vía (ANOVA) fueron utilizados. El PERMANOVA fue llevado a cabo por medio del set completo de velocidades de crecimiento desarrolladas por las cepas de HND en todos los medios de cultivo; para visualizar diferencias evidenciadas por el PERMANOVA, un escalamiento multidimensional se utilizó el análisis de coordenadas principales (PCO; Anderson 2001) fue construido. Posteriormente, ANOVAs de una vía fueron llevados a cabo para comparar las velocidades desarrolladas por *C. musiformis* y *A. oligospora* en cada medio de cultivo de manera individual. Para realizar todos los análisis estadísticos, el software PRIMER v6 +PERMANOVA (PRIMER-E Ltd) fue utilizado.

RESULTADOS

Las cepas de *C. musiformis* y *A. oligospora* desarrollaron velocidades de crecimiento diferentes en los medios de cultivo que contemplan las diversas fuentes de carbono y las diferencias fueron estadísticamente significativas ($F_{1, 21}=11$, $p=0,001$; Figura 1). Al analizar la velocidad de crecimiento desarrollada en cada uno de los medios de cultivo, fue evidente que las diferencias observadas en el análisis multivariado fueron el resultado de las diferencias desarrolladas por *C. musiformis* y *A. oligospora* específicamente en los medios con celulosa y PDA donde las cepas de ambas especies crecieron significativamente más rápido en comparación con los medios que contenían otras fuentes de carbono. En el medio con celulosa, las cepas de *C. musiformis* crecieron más lentamente en comparación con las cepas de *A. oligospora* y estas

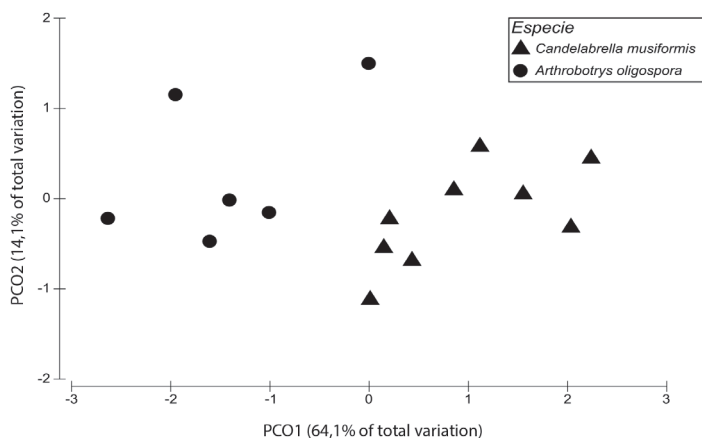


Fig. 1. Escalamiento multidimensional por medio del análisis de coordenadas principales de las velocidades de crecimiento desarrolladas por cepas de hongos nematófagos depredadores de las especies *Candelabrella musiformis* y *Arthrobotrys oligospora* en medios de cultivo con celulosa, quitina, pectina, almidón y leche descremada como fuentes únicas de carbono.

diferencias fueron estadísticamente significativas ($F_{1,12}=21,29$, $p=0,002$ para el medio con celulosa; $F_{1,7}=38,7$, $p=0,001$ para el medio PDA; Cuadros 2 y 3). Las cepas de *C. musiformis* desarrollaron velocidades de crecimiento promedio en el siguiente orden descendente: celulosa > quitina > PDA > AA > pectina > almidón > leche descremada (Cuadro 2). Las cepas de *A. oligospora*

desarrollaron velocidades de crecimiento promedio en el siguiente orden descendente: celulosa > PDA > quitina > AA > pectina > almidón > leche descremada (Cuadro 3). Excepto por los testigos (PDA y AA), el patrón de comportamiento que siguieron *C. musiformis* y *A. oligospora* en cuanto a velocidades de crecimiento en las diferentes fuentes de carbono fue similar.

Cuadro 2. Velocidades de crecimiento promedio desarrolladas por las cepas de *Candelabrella musiformis* en medios de cultivo con fuentes de carbono diversas.

| Cepa | Velocidad de crecimiento (cm.h ⁻¹) | | | | | | |
|-------------------------------|--|----------|------------------|---------|---------|----------|-------|
| | Fuentes de carbon | | | | | Testigos | |
| | Pectina | Celulosa | Leche descremada | Quitina | Almidón | PDA | AA |
| BBP1 | 0,036 | 0,067 | 0,017 | 0,061 | 0,041 | 0,059 | 0,051 |
| DEPG | 0,047 | 0,054 | 0,011 | 0,055 | 0,030 | 0,050 | 0,052 |
| FDH1 | 0,045 | 0,062 | 0,013 | 0,057 | 0,029 | 0,058 | 0,053 |
| G3 | 0,038 | 0,068 | 0,018 | 0,060 | 0,037 | 0,059 | 0,060 |
| LS | 0,042 | 0,062 | 0,018 | 0,059 | 0,035 | 0,059 | 0,057 |
| MEG | 0,035 | 0,075 | 0,019 | 0,055 | 0,044 | 0,053 | 0,061 |
| PFC | 0,039 | 0,067 | 0,012 | 0,044 | 0,031 | 0,046 | 0,051 |
| PFSL1 | 0,044 | 0,055 | 0,017 | 0,054 | 0,037 | 0,052 | 0,047 |
| UCR1b | 0,041 | 0,071 | 0,019 | 0,060 | 0,038 | 0,057 | 0,056 |
| Media | 0,041 | 0,064 | 0,016 | 0,056 | 0,036 | 0,055 | 0,054 |
| Desviación estándar | 0,004 | 0,007 | 0,003 | 0,005 | 0,005 | 0,005 | 0,005 |
| Valor máximo | 0,047 | 0,075 | 0,019 | 0,061 | 0,044 | 0,059 | 0,061 |
| Valor mínimo | 0,035 | 0,054 | 0,011 | 0,044 | 0,029 | 0,046 | 0,047 |
| Coefficiente de variación (%) | 10,3 | 11,0 | 19,6 | 9,0 | 13,8 | 8,7 | 8,6 |

Cuadro 3. Velocidades de crecimiento promedio desarrolladas por las cepas de *Arthrobotrys oligospora* en medios de cultivo con fuentes de carbono diversas.

| Cepa | Velocidad de crecimiento (cm.h ⁻¹) | | | | | | |
|-------------------------------|--|----------|------------------|---------|---------|----------|-------|
| | Fuentes de carbon | | | | | Testigos | |
| | Pectina | Celulosa | Leche descremada | Quitina | Almidón | PDA | AA |
| BBP2 | 0,034 | 0,096 | 0,022 | 0,065 | 0,03 | 0,069 | 0,054 |
| C4 | 0,041 | 0,082 | 0,017 | 0,066 | 0,034 | 0,068 | 0,057 |
| DAP | 0,041 | 0,070 | 0,014 | 0,045 | 0,028 | 0,070 | 0,062 |
| G1 | 0,037 | 0,084 | 0,023 | 0,065 | 0,036 | 0,068 | 0,055 |
| MO1 | 0,045 | 0,083 | 0,017 | 0,056 | 0,039 | 0,064 | 0,063 |
| UCR1a | 0,035 | 0,083 | 0,015 | 0,065 | 0,022 | 0,074 | 0,063 |
| Media | 0,039 | 0,083 | 0,018 | 0,061 | 0,032 | 0,069 | 0,059 |
| Desviación estándar | 0,004 | 0,008 | 0,004 | 0,008 | 0,006 | 0,003 | 0,004 |
| Valor máximo | 0,045 | 0,096 | 0,023 | 0,066 | 0,039 | 0,074 | 0,063 |
| Valor mínimo | 0,034 | 0,070 | 0,014 | 0,045 | 0,022 | 0,064 | 0,054 |
| Coefficiente de variación (%) | 10,8 | 10,2 | 19,8 | 13,2 | 19,5 | 4,5 | 7,1 |

DISCUSIÓN

Las cepas de HND desarrollaron velocidades de crecimiento significativamente mayores en el medio con celulosa en comparación con los otros medios de cultivo. Las cepas de *C. musiformis* y *A. oligospora* desarrollaron un patrón de velocidades de crecimiento similar en los medios de cultivo con fuentes de carbono diversas. Sin embargo, en el medio con celulosa, las cepas de *A. oligospora* crecieron significativamente más rápido con respecto a las cepas de *C. musiformis*. Por otro lado, las cepas de ambas especies crecieron más lentamente en los medios con almidón y leche descremada.

Los HND presentan una fase depredadora durante la cual se alimentan de nematodos vivos, y una fase saprofítica que les permite crecer en muchos sustratos orgánicos (Jairajpuri 1990, Persson et ál. 2000, Nguyen et ál. 2007, Swe et ál. 2009). Durante la adición de una enmienda orgánica al suelo, la fase depredadora de los HND se presenta inmediatamente pero declina a niveles bajos entre los 7 y 9 días, tras lo cual los hongos regresan a su fase saprofítica (Satchuthanathavale y Cooke 1967). Los HND han sido reportados como competidores poco eficientes por sustratos orgánicos. Durante periodos de competencia

intensa, como por ejemplo durante la adición de enmiendas orgánicas al suelo, se genera estrés por competencia en los HND, los cuales optan por utilizar una fuente de energía alternativa inaccesible para otros hongos del suelo, por ejemplo, los nematodos (Cooke 1962). Por lo tanto, la depredación de nematodos por parte de los HND puede considerarse como una estrategia de supervivencia durante los periodos de actividad microbiana intensa (Cooke 1962, Quinn 1987, Jairajpuri 1990, Stirling 1991).

Durante el ensayo, las cepas de *C. musiformis* y *A. oligospora* presentaron la mayor velocidad de crecimiento en el medio con celulosa, lo que indica que ambos hongos poseen la maquinaria enzimática para metabolizar dicha fuente de carbono (Satchuthanathavale y Cooke 1967, Persson et ál. 2000, Jaffee 2004b). Este hallazgo resulta lógico, ya que estos hongos habitan el suelo (Watanabe 1937), donde la celulosa es depositada con regularidad en forma de residuos vegetales. Los HND probados presentaron diferencias particulares en la rapidez con la que colonizaron el medio con celulosa, específicamente las cepas de *A. oligospora* presentaron una mayor velocidad de crecimiento en esta fuente de carbono con respecto a las cepas de *C. musiformis*. Este resultado sugiere que diferentes especies de

HND pueden presentar diferentes capacidades de asimilación de la celulosa, lo cual contribuiría a explicar por qué ciertos materiales vegetales estimulan la fase depredadora en algunos HND, mientras que en otros HND el mismo material vegetal estimula la fase saprofítica (Scholler y Rubner 1994, Jaffee 2004a). En otras palabras, algunos tipos de residuos vegetales son capaces de producir estrés por competencia en algunas especies de HND, que a su vez activan de esta manera, la fase depredadora, mientras que en otras especies de HND los mismos materiales no producen dicho estrés que promueve la fase saprofítica. De acuerdo con los resultados, la celulosa produce estrés por competencia tanto en *C. musiformis* como en *A. oligospora*, pero en menor grado en la última especie.

Tanto las cepas de *C. musiformis* como las de *A. oligospora* presentaron una velocidad de crecimiento similar en el medio con quitina. Después del medio con celulosa, el medio con quitina fue colonizado con mayor rapidez por los HND, aunque la velocidad de crecimiento desarrollada en este medio no difirió significativamente de las velocidades desarrolladas en otras fuentes de carbono, como pectina, almidón o leche descremada. Los HND producen enzimas quitinolíticas que les permiten degradar la cutícula de los nematodos (Tikhonov et ál. 2002, Gortari y Hours 2008, Yang et ál. 2013). Por lo tanto, los HND pueden considerarse buenos competidores por sustratos que contienen material quitinoso, de tal manera que es probable que este material produzca bajo estrés por competencia en los hongos. En consecuencia, la adición al suelo de una enmienda orgánica constituida de material quitinoso promovería la fase saprofítica de los HND por sobre la fase depredadora (Nguyen et ál. 2007). Sin embargo, varios mecanismos de control de nematodos, además de la depredación directa por parte de los HND, han sido descritos como resultado de la adición de quitina al suelo (Oka 2010), por lo que la adición de quitina al suelo ha presentado resultados aceptables en el control de nematodos parásitos (Akhtar y Malik 2000, Nguyen et ál. 2007, Gortari y Hours 2008).

Las cepas de *C. musiformis* y *A. oligospora* desarrollaron las velocidades de crecimiento más bajas en los medios con almidón y leche descremada, lo que sugiere que ambas especies son competidoras poco eficientes por estos sustratos orgánicos en comparación con otros grupos de microorganismos del suelo. Este resultado indica que sustratos orgánicos como el almidón o algún subproducto lácteo adicionados al suelo podrían producir estrés por competencia en las poblaciones de *C. musiformis* y *A. oligospora*, que provoca su fase depredadora y que a la vez favorece el control biológico de nematodos parásitos. Sin embargo, esta hipótesis debe explorarse más a fondo.

En conclusión, para un control biológico eficiente de nematodos parásitos de plantas o animales mediante HND es necesario conocer aspectos nutricionales de los últimos. Esto es relevante en el caso de los agroecosistemas de Costa Rica, donde los HND están ampliamente distribuidos en los suelos. En este caso, es ideal desarrollar métodos para incrementar la densidad de inóculo de los HND durante periodos no críticos del cultivo, por ejemplo por medio de la adición de enmiendas orgánicas ricas en celulosa o quitina. Por otro lado, es necesario desarrollar métodos para favorecer la fase depredadora de los HND durante periodos críticos del cultivo, por ejemplo mediante la adición de enmiendas orgánicas ricas en almidón o algún subproducto lácteo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a las siguientes personas por su contribución en la realización de este trabajo: Luis Roberto Villegas, Ilse Delgado y Andrea Sancho de la Escuela de Química, UNA; Aida Lobo y José García de la Escuela de Ciencias Agrarias, UNA; Silvia Mau de la Escuela de Biología, UNA; Miguel Obregón de Asesoramiento Fitosanitario Laboratorios Doctor Obregón.

LITERATURA CITADA

AKHTAR M., MAHMOOD I. 1996. Organic soil amendments in relation to nematode management

- with particular reference to India. *Integrated Pest Management Reviews* 1:201-215.
- AKHTAR M., MALIK A. 2000. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. *Bioresource Technology* 74:35-47.
- ANDERSON M.J. 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology* 26:32-46.
- COOKE R.C. 1962. Behaviour of nematode-trapping fungi during decomposition of organic matter in the soil. *Transactions of the British Mycological Society* 45(3):314-320.
- DE HOOG G.S. 1985. Taxonomy of the *Dactylaria* complex IV-V. *Centraalbureau Voor Schimmelcultures Baarn. Studies in Mycology* 26:61-96.
- DONG L.Q., ZHANG K.Q. 2006. Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five-party interaction. *Plant and Soil* 288:31-45.
- FRENCH E.R., HEBERT T.T. 1980. *Métodos de Investigación Fitopatológica*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica. 289 p.
- GORTARI M.C., HOURS R.A. 2008. Fungal chitinases and their biological role in the antagonism onto nematode eggs. A review. *Mycological Progress* 7:221-238.
- HAARD K. 1968. Taxonomic studies on the genus *Arthrobotrys* Corda. *Mycologia* 60:1140-1159.
- JAFFEE B.A. 2004a. Do organic amendments enhance the nematode-trapping fungi *Dactylellina haptotyla* and *Arthrobotrys oligospora*? *Journal of Nematology* 36(3):267-275.
- JAFFEE B.A. 2004b. Wood, nematodes, and the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Soil Biology & Biochemistry* 36:1171-1178.
- JAFFEE B.A., FERRIS H., SCOW K.M. 1998. Nematode-trapping fungi in organic and conventional cropping systems. *Ecology and Population Biology* 88(4):344-350.
- JAIRAJPURI M.S. 1990. *Nematode Bio-Control*. CBS Publishers & Distributors. Nueva Delhi, India. 152 p.
- MALVESSI E., MOURA DA S.M. 2004. Influence of medium composition and pH on the production of polygalacturonases by *Aspergillus oryzae*. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47(5):693-702.
- NGUYEN V.L., BASTOW J.L., JAFFEE B.A., STRONG D.R. 2007. Response of nematode-trapping fungi to organic substrates in a coastal grassland soil. *Mycological Research* 111:856-862.
- OKA Y. 2010. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments—A review. *Applied Soil Ecology* 44:101-115.
- OROZCO A.M., ÁLVAREZ C.V., JIMÉNEZ R.A., ACUÑA N.O. 2009. Evaluación in vitro de hongos nematófagos para el control biológico de nemátodos gastrointestinales de rumiantes. *Revista MVZ Córdoba* 14(3):1820-1830.
- PERAZA W., OROZCO M., ESQUIVEL A., RIVERA G., CHAVERRI F. 2011. Aislamiento e identificación de hongos nematófagos nativos de zonas arroceras de Costa Rica. *Agronomía Mesoamericana* 22(2):233-243.
- PERSSON C., OLSSON S., JANSSON H-B. 2000. Growth of *Arthrobotrys superba* from a birch wood resource base into soil determined by radioactive tracing. *FEMS Microbiology Ecology* 31:47-51.
- PRAMER D. 1964. Nematode-trapping fungi. *Science* 144(3617):382-388.
- QUINN M.A. 1987. The influence of saprophytic competition on nematode predation by nematode-trapping fungi. *Journal of Invertebrate Pathology* 49:170-174.
- RUBNER A. 1996. Revision of predacious hyphomycetes in the *Dactylella-Monacrosporium* complex. *Centraalbureau Voor Schimmelcultures Baarn and Delft. Studies in Mycology* 39:1-134.
- SÁNCHEZ C.M. 2000. *Manual de prácticas de Microbiología industrial para las carreras de IBQ y QBP*. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F. 65 p.
- SATCHUTHANANTHAVALA V., COOKE R.C. 1967. Carbohydrate nutrition of some nematode-trapping fungi. *Nature* 214(15):321-322.
- SCHOLLER M., RUBNER A. 1994. Predacious activity of the nematode-destroying fungus *Arthrobotrys oligospora* in dependence of the medium composition. *Microbiology Research* 149(2):145-149.
- SIDDIQUI Z.A., MAHMOOD I. 1996. Biological control of plant-parasitic nematodes by fungi: a review. *Bioresource Technology* 58:229-239.
- SOTO N., DE OLIVEIRA J., VEGA R., MONTERO D., VARGAS B., HERNÁNDEZ J., OROZCO C. 2011. In-vitro predatory activity of nematophagous fungi from Costa Rica with potential use for controlling sheep and goat parasitic nematodes. *Revista de Biología Tropical* 59(1):37-52.
- STIRLING G.R. 1991. *Biological control of plant-parasitic nematodes*. CAB International, Wallingford, UK. pp. 101-152.
- SWE A., JEEWON R., POINTING S.B., HYDE K.D. 2009. Diversity and abundance of nematode-trapping fungi from decaying litter in terrestrial, freshwater and mangrove habitats. *Biodiversity Conservation* 18:1695-1714.
- TABARANT P., VILLENAVE C., RISEDE J.M., ROGER J., THURIES L., DOREL M. 2011. Effects of four organic amendments on banana parasitic nematodes and soil nematode communities. *Applied Soil Ecology* 49:59-67.
- TIKHONOV V.E., LOPEZ L.V., SALINAS J., JANSSON H.B. 2002. Purification and characterization of

- chitinases from the nematophagous fungi *Verticillium chlamyosporium* and *V. suchlasporium*. *Fungal Genetics and Biology* 35:67-78.
- VILLEN A G.K., GUTIÉRREZ C.M. 2003. Biopelículas de *Aspergillus niger* para la producción de celulasas: algunos aspectos estructurales y fisiológicos. *Revista Peruana de Biología* 10(1):78-87.
- WATANABE T. 1937. Pictorial Atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species 2nd edition. CRC Press, USA. pp. 39-190.
- YANG J., YU Y., LI J., ZHU W., GENG Z., JIANG D., WANG Y., ZHANG K-Q. 2013. Characterization and functional analyses of the chitinase-encoding genes in the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Archives of Microbiology* 195:453-462.



Todos los derechos reservados. Universidad de Costa Rica. Este artículo se encuentra licenciado con Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Costa Rica. Para mayor información escribir a rac.cia@ucr.ac.cr