

NOTA TÉCNICA

PRESENCIA DE HONGOS NEMATÓFAGOS EN TRES FINCAS CAFETALERAS DE COSTA RICA¹Walter Peraza Padilla², Tatiana Zamora Araya³

RESUMEN

Presencia de hongos nematofagos en tres fincas cafetaleras del Valle Central de Costa Rica. Suelo recolectado de fincas productoras de café (*Coffea arabica* L.) fue examinado mediante el método de espolvoreado en placa en búsqueda de hongos nematofagos. El muestreo de suelo se realizó entre los meses de agosto a octubre de 2011 en tres fincas cafetaleras ubicadas en las provincias de San José, Alajuela y Heredia. Se aislaron un total de seis hongos nematofagos los cuales se identificaron mediante claves taxonómicas. Se determinó la presencia de los hongos nematofagos *Arthrobotrys oligospora* (n=1), *Candelabrella* sp. (n=1), *Paecilomyces* sp. (n=2) y *Trichoderma* sp. (n=2). Los resultados sugieren la presencia de hongos nematofagos adaptados a las condiciones ambientales y de manejo agrícola en sistemas de producción de café, con potencial para ser utilizados como agentes de combate biológico.

Palabras clave: café, *Arthrobotrys* sp., *Candelabrella* sp., *Paecilomyces* sp., *Trichoderma* sp.

INTRODUCCION

En la historia agrícola de Costa Rica, el café ha sido uno de los productos de exportación más importantes. Las condiciones edáficas y climáticas presentes en el país, permiten el cultivo de diferentes variedades como Caturra, Catuai, Catimor T5175 y Costa Rica 95 (Aguilar 1997). Adicionalmente, el grano de café presenta características organolépticas en cuanto a acidez, cuerpo y aroma que lo hace no solo una bebida muy gustada internacionalmente sino que también una de las mejores del mundo. Para el año 2012, el Café oro ocupó el puesto número cinco entre los principales 50 productos de exportación con un aporte de 411,4 millones de dólares, lo que representó un 90,5% con respecto al año 2011. Los principales destinos fueron Estados Unidos (54%), Bélgica (13%), Alemania (5%), Italia (4%), Holanda (3,5%), Australia (2,5%) y otros (18%) (PROCOMER 2012).

Existen una serie de plagas asociadas al cultivo del café, entre las que se encuentran los nematodos fitoparásitos (Kimpinski *et al.* 2003) capaces de ocasionar pérdidas económicas de hasta un 20% en una gran cantidad de cultivos agrícolas (Padgham *et al.* 2004). Un género importante es el nematodo agallador *Meloidogyne* sp. endoparásito sedentario presente en la mayoría de cultivos agrícolas (Casas-Flores y Herrera-Estrella 2007) incluido el café. Este patógeno produce agallas en la raíz que reducen

la capacidad de absorción de agua y nutrientes disponibles en el suelo. Por tratarse de un parásito muy pequeño normalmente pasa desapercibido, hasta que el daño que origina se expresa en la parte aérea de las plantas donde se observan hojas pequeñas y deformes, clorosis y pérdida de vigor (Magunacelaya *et al.* 2004) aunado a una reducción en el largo de los brotes y entrenudos y a una disminución en el rendimiento (Sasser y Freckman 1987). En este contexto, la búsqueda de formas de manejo biológico basado en la utilización de hongos nematofagos, es una forma prometedora de disminuir el uso de productos químicos contaminantes del ambiente y de reducir la presencia de nematodos fitoparásitos en áreas productoras de café.

Los hongos nematofagos son habitantes del suelo que utilizan sus esporas o micelio para capturar nematodos vermiformes. Se encuentran en diferentes tipos de sustratos y son capaces de sobrevivir en condiciones climáticas o nutricionales extremas en distintas regiones geográficas del mundo (Gray *et al.* 1982). Investigadores como Jansson y López-Llorca (2001), mencionan que una a cinco especies de estos microorganismos son recobrados de una muestra de suelo. Más de 200 especies de hongos nematofagos han sido descritos y tienen un alto potencial para ser usados como agentes de combate biológico para la supresión de nematodos fitoparásitos (Qadri y Seleh 1990, De Leij y Kerry 1991, Khan y Akram 2000, Kerry 2001).

¹ Resultados obtenidos por el segundo autor en su Práctica Profesional Supervisada (PPS) para optar por el grado de Bachiller en Agronomía.

² Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Costa Rica, UNA. Costa Rica. walter.peraza.padilla@una.cr. Sede central de la UNA, Heredia.

³ Estudiante. Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Costa Rica, UNA. Costa Rica. tatiza01@hotmail.com. Sede central de la UNA, Heredia.

Recepción: 19-03-2014. Aceptación: 18-11-2014.

De acuerdo con su estrategia de captura, los hongos se clasifican en endoparásitos y depredadores (Cole y Kendrick 1981). Los endoparásitos se caracterizan por la formación de estructuras adhesivas o de ingestión que infectan a los nematodos o parasitan los huevos con la formación de un apresorio. Los depredadores, se caracterizan por producir una red hifal extensa con estructuras predatoras simples. Además existen otros hongos con la capacidad de producir hifas adhesivas septadas, redes adhesivas, ramificaciones adhesivas, botones adhesivos, anillos no constrictores o altamente especializados en el caso de los anillos constrictores que se encargan de sostener los nematodos vivos (Barron 1977, Gray 1987).

Costa Rica es un país con una amplia diversidad biológica y no es de extrañar la presencia de hongos nematófagos en diferentes agroecosistemas. Aunque la búsqueda de este tipo de microorganismos en nuestro país es aún reducida, es importante conocer su presencia en sistemas de producción y su rol como enemigos naturales de nematodos en estrategias de combate biológico. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue realizar un estudio exploratorio para determinar la presencia de hongos nematófagos en tres fincas dedicadas a la producción de café en Costa Rica.

MATERIALES Y MÉTODOS

La fase de aislamiento e identificación de hongos nematófagos se llevó a cabo en el Laboratorio de Nematología de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. El muestreo de suelo se realizó entre los meses de agosto a octubre del 2011. Se muestrearon tres fincas cafetaleras ubicadas en las provincias de

San José, Alajuela y Heredia. Cada uno de estos sitios, presentaban diferencias en las características ambientales (Cuadro 1).

Se realizó únicamente un estudio exploratorio sin ningún plan de muestreo ya que el objetivo de la investigación no fue realizar un inventario de hongos nematófagos sino determinar la existencia de este tipo de organismos en los predios en estudio. Con la ayuda de un barreno, se tomaron 20 submuestras a lo largo de la parcela hasta obtener una muestra compuesta de aproximadamente 500 g por finca a profundidad de 20 cm. Las muestras se almacenaron en bolsas de polietileno debidamente etiquetadas y se trasladaron al Laboratorio de Nematología para su análisis. Con la ayuda de un GPS (Global Position System) se determinaron las coordenadas de cada parcela.

Las muestras de suelo se procesaron mediante el método de “espolvoreado en placa” descrito por Barrón (1977) para el aislamiento de hongos nematófagos. Por cada muestra compuesta, se realizaron cinco repeticiones las cuales se colocaron en placas de Petri de 9,0 cm de diámetro con el medio de cultivo Agar-Agua (AA) y con 0,5 a 1,0 g de suelo. Las cajas se incubaron a temperatura ambiente entre 23 y 26°C y con luz natural. A partir del quinto día de incubación, cada placa de Petri se observó diariamente en busca de hifas, conidios, esporas o nematodos parasitados con microscopio invertido Olympus CKX41. Una vez observada la presencia de hongos nematófagos y con la ayuda de una asa micológica, se tomaron conidios, micelio, así como nematodos parasitados y se colocaron en medio Papa-Dextrosa-Agar (PDA) con Tetraciclina 0,1 % (p/v) para evitar el crecimiento de bacterias. Los aislamientos se incubaron a temperatura ambiente.

Cuadro 1. Características ambientales altitud, georeferenciación y sistema de cultivo de los sitios de procedencia de las muestras de suelo analizadas. Heredia, Costa Rica. 2011.

Provincia	Cantón o distrito	Zona de vida*	Altitud (msnm)	Precipitación promedio anual (mm)**	Temperatura promedio anual (°C)**	Coordenadas	Tipo de sistema***
Alajuela	Carrizal	bmh-P	1567	3633	19	10°06'04,96" N 84°10'06,83" O	SPC
Heredia	Barva	bmh-P	1220	2693	23	10°01'34,40" N 84°06'49,60" O	SBI
San José	Acosta	bmh-T	1035	2944	22	09°48'09,96" N 84°09'37,41" O	SPC

*Según clasificación de Holdridge (1982): bmh-P (Bosque Húmedo Premontano), bmh-T (Bosque muy Húmedo Tropical).

**Información recolectada de la base de datos del Instituto Meteorológico Nacional (IMN).

***Tipo de sistema: Sistema de Producción Convencional (SPC) y Sistema de Bajos Insumos (SBI) con utilización mínima de agroquímicos.

Una semana después se verificó su crecimiento micelial. Posteriormente, los hongos se transfirieron a medio PDA sin antibiótico para su purificación y replicación.

La identificación taxonómica se realizó mediante la clave "A key to the Nematode – Destroying Fungi" de Cooke y Godfrey (1964) y la clave "Illustrated genera of imperfect fungi" de Barnett y Hunter (1998). A cada hongo se le asignó un código para su identificación posterior. Se prepararon montajes de las estructuras fúngicas de cada una de los hongos en un portaobjetos con lacto-fenol azul como colorante de contraste. Las observaciones se realizaron en un microscopio compuesto a diferentes aumentos y se comparó la morfología de cada aislamiento con las claves disponibles. Las fotografías de las estructuras observadas se tomaron en un microscopio Olympus BX50 con una cámara Nikon DS-Fi1 a 100X.

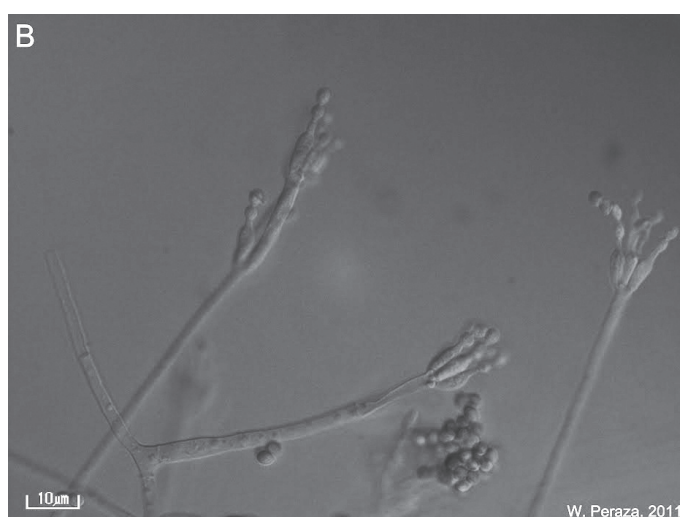
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación de hongos nematófagos

Se obtuvo un total de seis aislamientos de hongos nematófagos, de los cuales se identificaron tres géneros y una especie basados en las descripciones microscópicas y aspectos morfológicos (Cuadro 2). Todos los hongos se encontraron en las placas de Petri a partir del quinto día de incubación. El género *Paecilomyces* sp. Bainier (Pae 1 y Pae 2) (Figura 1. A y B) fue aislado de muestras de suelo procedentes de Carrizal. Los aislamientos de *Trichoderma* sp. Pers (Tri 1 y Tri 2) (Figura 1. C y D) provienen de las muestras de Barva y Acosta. Por último, los hongos *A. oligospora* (Figura 1. E y F) y *Candelabrella* sp. (Arth y Can) (Figura 1. G y H) se hallaron en las muestras de Carrizal y Barva respectivamente.

Cuadro 2. Origen de hongos nematófagos depredadores aislados. Heredia, Costa Rica. 2011.

Género	Código	Procedencia	Tipo de sistema
<i>Paecilomyces</i> sp.	Pae1	Carrizal, Alajuela	SPC
<i>Arthobotrys oligospora</i> .	Arth	Carrizal, Alajuela	SPC
<i>Paecilomyces</i> sp.	Pae2	Carrizal, Alajuela	SPC
<i>Candelabrella</i> sp.	Can	Barva, Heredia	SBI
<i>Trichoderma</i> sp.	Tri1	Barva, Heredia	SBI
<i>Trichoderma</i> sp.	Tri2	Acosta, San José	SPC



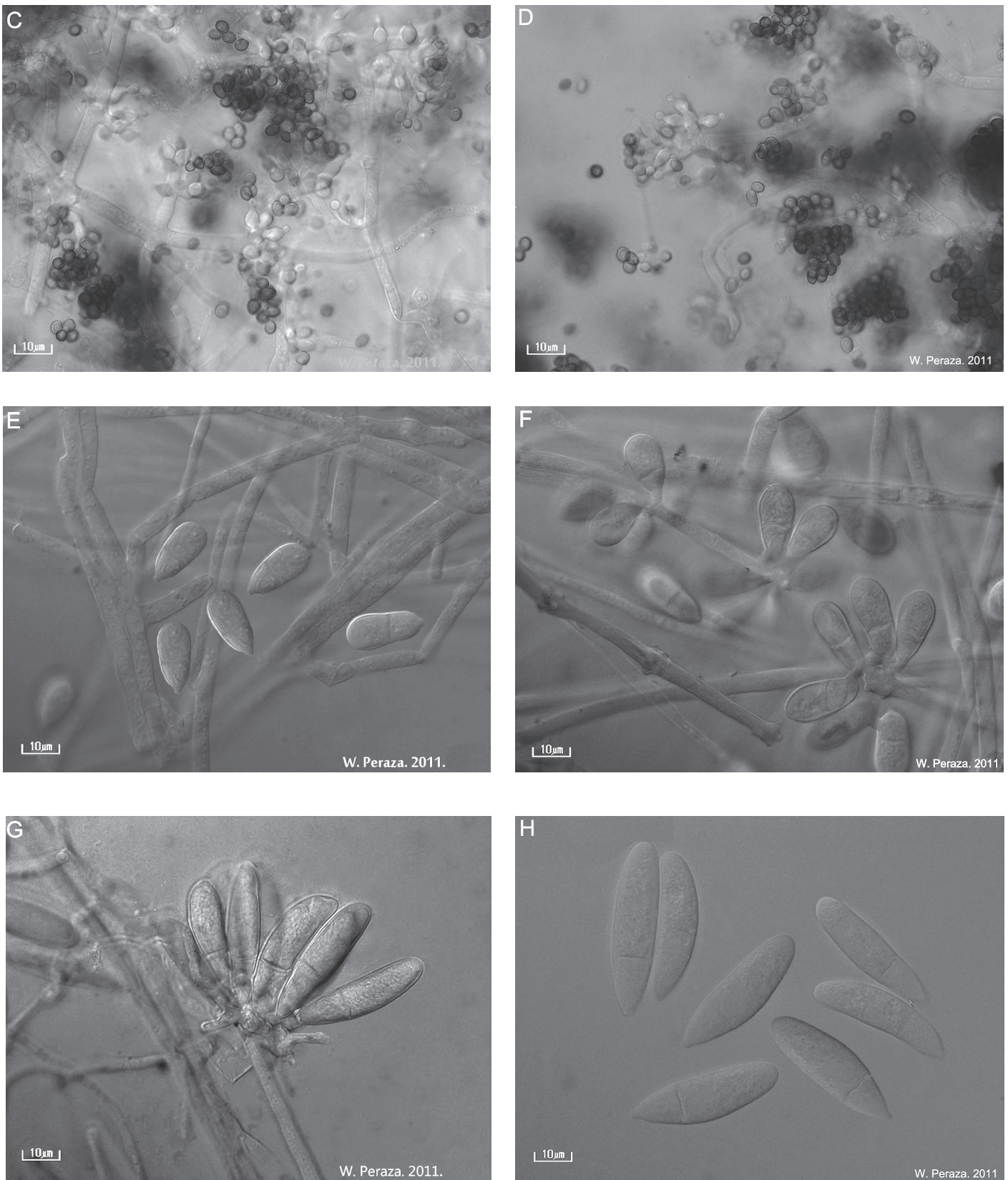


Figura 1. Fotomicrografías de hongos nematófagos aislados de muestras de suelo de Carrizal (Alajuela), Barva (Heredia) y Acosta (San José). A y B. Conidios y conidióforos de *Paecilomyces* sp. C y D. Conidios y Conidióforos de *Trichoderma* sp. E y F. Conidios y conidióforos de *A. oligospora*. G y H. Conidios de *Candelabrella* sp. Escala: 10 µm. Heredia, Costa Rica. 2011

Se comprobó la presencia de hongos nematofagos en las tres fincas cafetaleras muestreadas. Estos datos coinciden con los de Orozco (2005), quien encontró hongos nematofagos en diversos sustratos recolectados en las provincias de Alajuela, Heredia, San José, Cartago y Limón. En ese estudio se encontró *Candelabrella musiformis* Drechsler, *A. oligospora* y *Dactylella* sp. Grove, en sistemas agroforestales, pecuarios y bosques. Por su parte, Soto-Barrientos *et al.* (2011) aislaron un total de 40 hongos depredadores en 51 fincas en las siete provincias de Costa Rica. Lograron identificar *Trichoderma* sp., *Beauveria* sp. Vuillemin, *Clonostachys* sp. Corda, *Lecanicillium* sp. Gams y Zare, *A. oligospora*, *Candelabrella musiformis*, y por primera vez en Costa Rica *A. conoides* Drechsler y *A. dactyloides* Drechsler. Además encontraron a estos hongos también asociados a heces de animales, suelo y hojarasca de bosques. Estos investigadores utilizaron los aislamientos de *A. oligospora*, *C. musiformis*, *A. conoides* y *A. dactyloides* en pruebas de capacidad depredadora *in vitro* contra larvas infectivas (L₃) de nematodos gastrointestinales de *Haemonchus contortus*. Las muestras provenían de cultivos agrícolas como banano (*Musa* sp.), café (*Coffea arabica*), chayote (*Sechium edule*), papa (*Solanum tuberosum*) y suelo de plantas ornamentales. Adicionalmente, en investigaciones realizadas por Peraza (2012), se identificaron los hongos *Paecilomyces* sp., *Monacrosporium* sp. Oudemans, *Trichoderma* sp. y *Fusarium oxysporum* Schlechtend, en regiones arroceras de Costa Rica. Los estudios realizados sobre la presencia de hongos nematofagos en nuestro país, confirman que es posible encontrarlos asociados a una amplia variedad de agro sistemas y bosques.

Los hongos nematofagos pueden ser de utilidad en programas de manejo integrado de plagas (MIP) como una alternativa al uso de agroquímicos en la protección vegetal. Esto con el fin de disminuir su aplicación ya que pueden provocar problemas al ser humano, contaminar mantos acuíferos, disminuir y hasta desaparecer la microfauna de un determinado sitio. En el caso del uso inadecuado de medicamentos veterinarios para disminuir la carga parasitaria en animales, Nari y Hansen (1999) mencionan que la utilización de antihelmínticos crean resistencia progresiva en distintas especies de endoparásitos, causan un desequilibrio ecológico y pueden acumularse como residuos en carne y leche. Investigaciones como esta permiten conocer más sobre la variedad de hongos nematofagos que pueden ser utilizados como potenciales antagonistas de nematodos fitoparásitos y gastrointestinales.

En este estudio, no se realizó un análisis estadístico para determinar diferencias significativas

entre fincas cafetaleras por tratarse únicamente de un muestreo exploratorio. Los resultados mostraron una mayor ocurrencia de hongos nematofagos en sistemas de producción convencional (SPC) en comparación a sistemas de bajos insumos (SBI), debido a que eran dos parcelas convencionales versus una parcela de bajos insumos. Sin embargo, la experiencia en la búsqueda de antagonistas confirma que en sistemas convencionales con alto uso de productos químicos, también es posible encontrar hongos nematofagos como es el caso del cultivo del arroz y el melón, que se siembran en alternancia en el Pacífico Central de Costa Rica. Estos antagonistas están mejor adaptados a situaciones extremas en un monocultivo, ya que al estar en constante exposición con agroquímicos tienen la capacidad de aclimatarse a condiciones desfavorables como las que se pueden encontrar en sistemas agrícolas intensivos. Sobre este tema, Gray (1988), menciona que los hongos nematofagos son comunes en suelos agrícolas tal y como se comprobó en las zonas cafetaleras muestreadas. Por su parte Jaffe *et al.* (1998) encontraron una mayor abundancia de hongos nematofagos en parcelas con manejo orgánico en comparación con parcelas de manejo convencional. En el presente estudio no se determinó la abundancia de especies; sin embargo, ambas investigaciones coinciden en que los hongos nematofagos son más diversos en sistemas convencionales que en sistemas orgánicos.

Los hongos *A. oligospora*, *Candelabrella* sp., *Paecilomyces* sp., y *Trichoderma* sp. encontrados en fincas productoras de café, podrían ser una alternativa más a los programas de manejo integrado de plagas en cultivos de importancia agrícola en Costa Rica. No obstante, es necesario realizar preliminarmente pruebas *in vitro* para comprobar la capacidad depredadora de cada hongo. Además, se podría probar la actividad nematofaga mediante ensayos en invernadero y posteriormente en campo. Muchos hongos pueden ser eficientes en etapas de laboratorio no así al ser utilizados en parcelas o fincas experimentales donde las condiciones ambientales no son controladas y deben competir con otros microorganismos (Peraza 2012). Por último, es recomendable hacer investigaciones más exhaustivas que permitan conocer si estos hongos están asociados a otros cultivos. Además, sería importante realizar estudios de poblaciones para conocer la diversidad y la abundancia de especies.

LITERATURA CITADA

Aguilar, G. 1997. Estudio del comportamiento agroproductivo del Catimor T5175, Variedad Costa Rica 95, Caturra y Catuaí en nueve regiones cafetaleras de Costa Rica. (en línea). InfoAgro, Costa

- Rica. Consultado 17 agosto 2012. Disponible en <http://www.infoagro.go.cr/agricola/tecnologia/cafe97/cafe14.htm>
- Barron, GL. 1977. The nematode destroying fungi. Lancaster, Pennsylvania. Editorial Lancaster Press, Inc. 140 p.
- Barnett, HL.; Hunter, BB. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4 ed. 218 p.
- Casas-Flores, S.; Herrera-Estrella, A. 2007. Antagonism of plant parasitic nematodes by fungi. The Mycota (Kubicek CP & Druzhinina IS, eds). Springer, Berlin. p. 147-157.
- Cole, GT.; Kendrick, B. 1981. Biology of Conidial Fungi. Vol. 2. Academia Press. EUA. 660 p.
- Cooke, RC.; Godfrey, BES. 1964. A key to the nematode-destroying fungi. Transactions in British Mycology Society 47(1):61-74.
- De Leij, FAAM.; Kerry, BR. 1991. The nematophagous fungus *Verticillium chlamidosporium* as a potential biological control agent for *Meloidogyne arenaria*. Revue Nematology 14:157-164.
- Gray, NF.; Wyborn, CHE.; Smith, RIL. 1982. Nematophagous fungi from the maritime Antarctic. Oikos 38:194-201.
- Gray, NF. 1987. Nematophagous fungi with special reference to their ecology. Biology Review 62:245-307.
- Gray, NF. 1988. Fungi attacking vermiform nematodes. In Pionar, Jr, G.O and Jansson, H.-B. eds. Diseases of Nematodes, vol II. CRC Press, Boca Raton. p. 3-38.
- Holdridge, L. 1982. Ecología basada en zona de vida. Trad. del inglés por Jiménez, H. Segunda reimpresión. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica. 216 p.
- IMN (Instituto Meteorológico Nacional). 2011. Datos Climáticos. (en línea). Consultado el 20 nov. 2011. Disponible en: <http://www.imn.ac.cr/>
- Jansson HB.; López-Llorca, LV. 2001. Biology of nematophagous fungi. In: Misra JK. Horn BW eds. Trichomycetes and Other Fungal Groups. Enfield: 5 cience Publishers. p. 145-173.
- Jaffe, BA.; Ferris, H.; Scow, K.M. 1998. Nematode-trapping fungi in organic and conventional cropping systems. Phytopathology 88(4):344-350.
- Kerry, BR. 2001. Exploration of the nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* Goddard for the biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) In: Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. CABI International, Wallingford, UK. p. 155-168.
- Khan, MR.; Akram, M. 2000. Effect of certain antagonistic fungi and rhizobacteria on wilt complex caused by *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* on tomato. Nematologia Mediterranea 28:139-144.
- Kimpinski, J.; Gallant, CE.; Henry, R.; Macleod, JA.; Sanderson, JB.; Sturz, AV. 2003. Effect of compost and manure soil amendments on nematodes and on yields of potato and barley: A 7-year study. Journal of Nematology 35:289-293.
- Magunacelaya, JC.; Ahumada, MT.; Pacheco, H. 2004. Aspectos generales de manejo de nemátodos fitoparásitos de importancia agrícola en viñedos en Chile. Laboratorio de Nematología Agrícola, Departamento de Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 16 p.
- Nari, A.; Hansen, JW. 1999. Resistance of ecto- and endo-parasites: current and future solutions, 67th General Session. International Committee. París: Office International des Epizooties. p. 17-21.
- Orozco, M. 2005. Aislamiento y caracterización de hongos nematófagos como potenciales controladores biológicos de nematodos gastrointestinales para la producción animal. Tesis Mag. Sc. Heredia, Costa Rica. Universidad Nacional. 104 p.
- Peraza, W. 2012. Aislamiento, identificación y pruebas *in vitro* de hongos nematófagos aislados de zonas arroceras de Costa Rica contra el nematodo agallador *Meloidogyne* sp. Tesis Mag. Sc. Heredia, Costa Rica. Universidad Nacional. 150 p.
- Padgham, JL.; Mazid, MA.; Duxbury, JM.; Abawi, GS.; Hossain, M. 2004. Yield loss caused by *Meloidogyne graminicola* on lowland rainfed rice in Bangladesh. Journal of Nematology 36:42-48.
- PROCOMER (Promotora de Comercio Exterior de Costa Rica). 2012. Estadísticas de Comercio Exterior de Costa Rica. (en línea). Consultado 13 de marzo 2013. Disponible en http://www.procomer.com/contenido/descargables/estadisticas/libro_estadistica2012_v1-web.pdf

Qadri, AN.; Saleh, HM. 1990. Fungi associated with *Heterodera schachtii* (Nematoda) in Jordan. *Nematologica* 36:104-113.

Sasser, JN.; Freckman, DW. 1987. A world prospective on nematology: The role of the society. In: Veech JA, Dickson DW, editors. *Vistas on nematology*. Hyattsville: Society Nematologists Inc. p. 7-14.

Soto-Barrientos, N.; de Oliveira, J.; Vega-Obando, R.; Montero-Caballero, D.; Vergas, B; Hernández-Gamboa, R.; Orozco-Solano, 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.

