

Antagonismo de *Purpureocillium* sp. (cepa UdeA0106) con hongos aislados de cultivos de flores

Antagonism of *Purpureocillium* sp. (UdeA0106 strain) with fungi of flowers cultures

Diego A. Salazar-Moncada^{1,3}, Claudia Jaramillo-Mazo^{1,4}, Juliana Vásquez-Restrepo^{1,5}, Camilo Ramírez^{1,2,6}, Nadya L. Cardona-Bustos^{1,2,7}

Resumen

Estudios desarrollados en el grupo BIOMA de la Universidad de Antioquia, mostraron como el hongo *Purpureocillium* sp. (cepa UdeA0106) puede biocontrolar una plaga conocida como sínfilos (subfilo Myriapoda: clase Symphyla). Este trabajo buscó identificar géneros de hongos anamórficos, aislados de diferentes sustratos (sínfilos y suelos) para determinar la capacidad antagonista de estos, así como de cepas de una colección de hongos biocontroladores sobre *Purpureocillium* sp. (cepa UdeA0106). A partir de sínfilos se registraron 9 cepas distribuidas en 3 géneros, y en suelo, 17 cepas correspondientes a 10 géneros. Las pruebas de antagonismo consistieron en una prueba in vitro empleando la técnica de cultivo dual en cajas de Petri con *agar sabouraud dextrosa* (SDA) utilizando 16 cepas: 12 provenientes de los aislamientos y 4 del cepario del grupo BIOMA. Las variables evaluadas fueron el radio de crecimiento en los enfrentamientos y el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) a los 7 y 14 días. El análisis se realizó con un modelo mixto lineal generalizado mediante Proc GLIMMIX SAS[®] de manera independiente. El hongo *Purpureocillium* sp. (cepa UdeA0106) fue inhibido por *Volutella* sp. (Vo.UdeA0109), *Paecilomyces* sp. aislado 2 (Pa.UdeA0109) y *Peyronella* sp. (Pe.UdeA0108) ($p < 0,001$), mientras que el resultado no fue estadísticamente significativo con las cepas *Beauveria* sp. (Be.UdeA0109), *Dendrodochium* sp. (De.UdeA0109), *Myrothecium* sp. (Mi.UdeA0109), *Paecilomyces* sp. aislado 1 (Pa.UdeA0309), *Paecilomyces* sp., aislado 3 (Pa.UdeA0209), *Lecanicillium* sp. (Le.UdeA0109) y *Purpureocillium* sp. (Hy.UdeA0109). El análisis muestra que pueden presentarse interacciones entre cepas de hongos con resultados no deseados a la hora de realizar actividades de control.

Palabras clave: Aislamiento, antagonismo, biocontrol, *Purpureocillium* sp., sínfilos.

Abstract

Studies developed in the BIOMA research group of the Universidad de Antioquia showed how the fungus *Purpureocillium* sp. (strain UdeA0106) may biocontrol a plague known as symphylans (subphylum Myriapoda: class Symphyla). The goal of this study was to identify fungal genera isolated from different substrates (symphylans and soils) and determine their antagonistic capacity, as well a collection of biocontrol strains, over *Purpureocillium* sp. (strain UdeA0106). Nine fungal strains were isolated from symphylans samples, belonging to 3 genera, and 17 strains were isolated from soil samples, belonging to 10 genera. The antagonism tests consisted of an *in vitro* test using the dual culture technique in Petri dishes using a sabouraud dextrosa agar (SDA) culture medium, which was conducted on 16 strains: 12 obtained from the isolates and 4 from the collection of the BIOMA research group. The variables evaluated were the growth radius in the confrontations and the percentage of radial growth inhibition (PICR) at 7 and 14 days. Data were analyzed using a generalized linear mixed model using the SAS[®] Proc GLIMMIX procedure in an independent manner. The fungus *Purpureocillium* sp. (strain UdeA0106) was inhibited by *Volutella* sp. (Vo.UdeA0109), *Paecilomyces* sp. Isolate 2 (Pa.UdeA0109) and *Peyronella* sp. (Pe.UdeA0108) ($p < 0,001$), while the results of the strains *Beauveria* sp. (Be.UdeA0109), *Dendrodochium* sp. (De.UdeA0109), *Myrothecium* sp. (Mi.UdeA0109), *Paecilomyces* sp. isolated 1 (Pa.UdeA0309), *Paecilomyces* sp. isolated 3 (Pa.UdeA0209), *Lecanicillium* sp. (Le.UdeA0109), and *Purpureocillium* sp. (Hy.UdeA0109) were not significant. The analyses showed that interactions with undesirable results may occur between fungal strains when conducting control activities.

Key words: antagonism, biocontrol, isolates, symphylans, *Purpureocillium* sp.

Recibido: mayo 2013; aceptado: noviembre 2013.

¹ Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. Medellín (Antioquia), Colombia.

² Docente, Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. Medellín (Antioquia), Colombia.

Correos electrónicos: ³ <diego2628@gmail.com>; ⁴ <clayujama01@gmail.com>; ⁵ <juliana.vasquez11@gmail.com>; ⁶ <camilorz@une.net.co>;

⁷ <nadyaloren@gmail.com>.

INTRODUCCIÓN

El sector floricultor tiene gran importancia en Colombia por su impacto socio-económico. Al igual que muchos otros sectores agroindustriales, este afronta diversidad de problemas de plagas y enfermedades, frente a los cuales el uso de productos biológicos se ha considerado como alternativa a las sustancias químicas, debido a que estas causan efectos negativos sobre la salud de las personas y crean situaciones adversas como la residualidad, que afecta a los organismos en los ecosistemas acuáticos y terrestres (O'Farrill 2004).

Los sínfilos, conocidos como ciempiés de jardín, son artrópodos que hacen parte de los miriápodos (figura 1). Las especies de los géneros *Scutigera* y *Hanseniella* son consideradas plagas en todo el mundo (Michelbacher 1938) debido a que causan daño a diversidad de cultivos de hortalizas, frutales y flores, entre otros (Domínguez 2009, Halliday 2004, Umble y Fisher 2003b). Los sínfilos tienen preferencia por las raíces más jóvenes y su consumo ocasiona en la planta un desarrollo radicular en “forma de escoba” y un retardo en el crecimiento (Agredo et al. 1988, Umble y Fisher 2003a).

Frente a la exigencia, por parte de entes gubernamentales, nacionales e internacionales (González et al. 2012), de una mayor responsabilidad ambiental y social en diferentes cultivos, se ha evidenciado la necesidad de buscar alternativas como el uso de los productos biológicos en lugar de las sustancias químicas. Recientemente, se ha probado la aplicación del hongo *Purpureocillium* sp. cepa UdeA0106 contra sínfilos en cultivos de flores (Salazar 2013) haciendo necesario evaluar su compatibilidad o antagonismo frente a otros hongos de interés para el biocontrol.

Una de las interacciones más estudiada como mecanismo de acción entre microorganismos antagonistas es la antibiosis, en la cual se ha detectado compuestos tóxicos con efectos inhibitorios (Altinok 2002, Benhamou y Brodeur 2000, Gloer 1995, Sanz et al. 2002). Algunos de los géneros más utilizados para el control de plagas han sido *Beauveria*, *Gliocladium*, *Metarhizium* y *Trichoderma* en cultivos como café, algodón, banano y flores (Arango 2002, Aristizábal et al. 2006, Carlile et al. 2001, Espinal et al. 2005, Henao y Ospina 2008) con alta eficacia en actividades de control, siendo aplicados en forma individual o conjunta (Cisternas et al. 2002, Fernández y Vega 2001, Gerding et al. 2002, Hafez et al. 1994, Thomsen y Eilenberg 2000, Trabanino et al. 2003).

El auge de la aplicación de productos biológicos y el desconocimiento sobre el efecto de la mezcla de microorganismos de interés en el control de plagas, exige el desarrollo de estudios que proporcionen elementos para orientar a los floricultores sobre cuáles organismos pueden ser aplicados en forma conjunta y cuáles deben ser utilizados en forma separada para mantener la eficacia de los productos biológicos incorporados en programas de manejo integrado de plagas y enfermedades (MIPE).

La especie *Purpureocillium* sp., designada en este trabajo como cepa UdeA0106, presenta una fase asexual de un hongo entomopatógeno del orden Hypocreales, familia Ophiocordycitaceae, aislado de la finca Vegas de la Clara de la Universidad de Antioquia (Gómez Plata, Antioquia). La identificación de la cepa fue realizada en el laboratorio de Biocontrol y Microbiología Aplicada (BIOMA) del Instituto de Biología de la Universidad de Antioquia. Actualmente se están llevando a cabo pruebas moleculares que permitan la clasificación precisa del aislado.

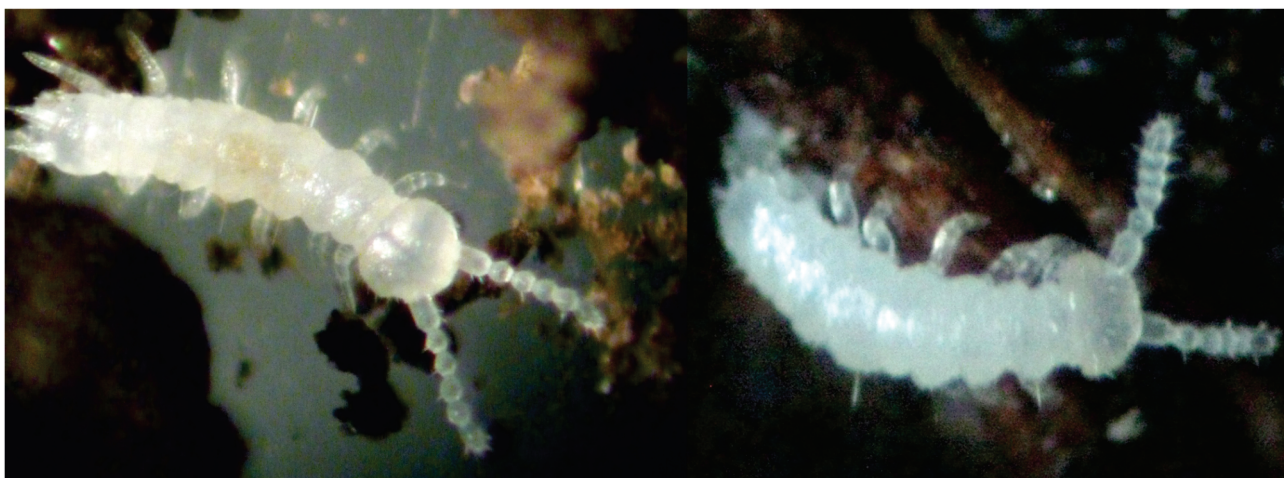


Figura 1. Habitus de sínfilos (subfilo: Myriapoda, clase: Symphyla)

La presente investigación tuvo como objetivo principal llevar a cabo pruebas de antagonismo de *Purpureocillium* sp. (cepa UdeA0106) con hongos aislados a partir de suelos y sínfilos de la empresa Flores Esmeralda S. A. S. C. I. y hongos que hacen parte del cepario del Laboratorio de Biocontrol y Microbiología Ambiental de la Universidad de Antioquia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de muestreo. Las muestras de sínfilos fueron recolectadas en la empresa Flores Esmeralda S. A. S. C. I., localizada en el Oriente antioqueño en el municipio de La Ceja, que se encuentra ubicado a una altura de 2.180 m. s. n. m. y registra una temperatura promedio de 18 °C. El hongo *Purpureocillium* sp. (cepa UdeA0106) fue suministrado por el Laboratorio de Control Microbiológico del grupo de investigación BIOMA del Instituto de Biología, Universidad de Antioquia.

Aislamiento de hongos a partir de sínfilos.

Aproximadamente 100 sínfilos fueron recolectados dentro de la empresa en un jardín ornamental apartado del cultivo de producción, con el fin de evitar que las muestras fueran expuestas a cualquier método de control. Los sínfilos fueron transportados del sitio de recolección al laboratorio en cajas de Petri plásticas con muestras de suelo. Se tomaron 12 sínfilos en cajas de Petri vacías y fueron llevados a 4 °C por treinta minutos para inmovilizarlos, luego se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% durante un minuto y fueron lavados con agua destilada estéril. Posteriormente, los sínfilos fueron colocados en una cámara húmeda (elaborada en el interior de una caja de Petri con papel filtro humedecido con agua) para su incubación a temperatura ambiente bajo condiciones de laboratorio.

Transcurridos siete días de incubación se inspeccionaron las muestras y aquellos hongos que presentaron crecimiento visible fueron repicados en medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) acidificado por diez días. Posteriormente, se realizaron montajes en placas con azul de algodón con lactofenol para su identificación en el microscopio óptico de luz empleando las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998), Carmichael et al. (1980) y Domsch et al. (1980). Las muestras que no fue posible identificar, debido a que solo presentaron micelio o esporas, fueron repicadas en microcultivo para promover la formación de las estructuras reproductivas (Morales 2009).

Identificación microscópica con microcultivos. El microcultivo se realizó empleando un soporte de madera en una caja de Petri que contenía papel filtro humedecido con

portaobjeto con 1 cm² de medio de cultivo SDA acidificado. Las lecturas se realizaron transcurridos 4 y 6 días (Morales 2009). La descripción de los aislados se realizó a partir de características morfológicas de acuerdo con Barnett y Hunter (1998), Carmichael et al. (1980) y Domsch et al. (1980). Los hongos determinados fueron tabulados con sus respectivas frecuencias de aislamiento.

Aislamiento de hongos a partir de muestras de suelo. Se tomaron cinco muestras de suelo de 500 g que fueron llevados al laboratorio en bolsas plásticas. Las muestras fueron homogenizadas. De cada muestra se extrajo 10 g que fueron depositados en frascos con 90 ml de agua destilada estéril y sometidos a una agitación de 150 r/m durante diez minutos. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas hasta 1x10⁻⁶ para cada una de las muestras. Se tomaron 100 µl de las diluciones 1x10⁻⁴, 1x10⁻⁵ y 1x10⁻⁶ y fueron sembrados en superficie sobre medio de cultivo PDA por duplicado. El tiempo de incubación fue de siete días a temperatura ambiente y para la evaluación fue llevado a cabo el mismo procedimiento descrito anteriormente. Para cada muestra procesada se realizó siembra por duplicado (Morales 2009).

Pruebas de antagonismo in vitro. Para llevar a cabo esta prueba se utilizaron doce cepas de hongos aislados a partir de muestras de sínfilos y de suelo, y cuatro muestras tomadas del cepario del Laboratorio de Control Microbiológico del grupo BIOMA (*Myrothecium* sp., *Dendrodochium* sp., *Peyronellae* sp., *Volutella* sp.). Cada uno de estos hongos fue repicado en medio SDA acidificado para posteriormente hacer el montaje de la prueba antagónica por medio de la técnica de enfrentamiento dual (Gallego y Cardona 2012).

La prueba fue realizada en cajas de Petri con SDA en las que fueron colocados discos de hongo con un diámetro de 5 mm, guardando una distancia de 3 cm entre ellos. Se llevaron a cabo cuatro ensayos y tres controles para cada especie de hongo. Las unidades experimentales fueron sometidas a temperatura ambiente con periodos de luz-oscuridad. Se realizaron lecturas de los diámetros en los días 7 y 14 empleando la fórmula de Worasatit et al. (1994):

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \frac{D1-D2}{D1} \times 100$$

Donde:

D1 = diámetro de la colonia de la cepa UdeA0106 creciendo en cajas de Petri con SDA libre de inhibidores.

D2 = diámetro de la colonia de la cepa UdeA0106 creciendo en cajas de Petri junto a los diferentes hongos empleados en el estudio.

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados ajustando un modelo mixto lineal generalizado mediante Proc GLIMMIX

SAS[®] (SAS Institute, North Carolina, U. S. A.) y de manera separada para el diámetro de la colonia a los 7 y a los 14 días. Los datos provenientes de los dos ensayos conducidos fueron analizados de manera conjunta, incluyendo el ensayo como una variable aleatoria dentro del modelo y cada cepa como un factor fijo. Los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas fueron evaluados gráficamente mediante la opción “student panel” de Proc GLIMMIX. Debido a que ninguno de estos supuestos fue cumplido, los datos fueron ajustados a una distribución lognormal y las varianzas de los residuales fueron tratadas de manera separada para cada ensayo mediante la opción “group”.

Para la evaluación del efecto de la cepa UdeA0106 sobre el desarrollo de los demás hongos, el análisis se realizó por separado para cada uno de los aislados fungosos, comparando el crecimiento del aislado en presencia y en ausencia de la cepa. Por el contrario, el análisis del efecto de cada uno de los aislados fungosos sobre el crecimiento de la cepa se hizo de manera conjunta, unificando la totalidad de los datos y comparando el diámetro de la colonia de UdeA0106 en presencia de cada aislado con su diámetro cuando es cultivado solo (prueba de Dunnett). En todos los casos, los datos se encuentran expresados como la transformación reversa del logaritmo natural (potencia del número *e*) de los medios mínimos cuadrados predichos por el modelo.

RESULTADOS

Aislamiento de hongos a partir de muestras de sínfilos y suelo. Los aislamientos de hongos a partir de muestras de sínfilos estuvieron representados por tres géneros (tabla 1). El hongo *Penicillium* sp. fue el de mayor frecuencia con siete cepas, para un porcentaje de 77,7%, seguido de *Lecanicillium* sp. (Le.UdeA0109) y *Metarhizium* sp. (Me.UdeA0109) con un 11,1% para cada uno.

Tabla 1. Aislamiento de hongos a partir de sínfilos

Hongo	Frecuencia	%
<i>Penicillium</i> sp.	7	77,7
<i>Lecanicillium</i> sp.	1	11,1
<i>Metarhizium</i> sp.	1	11,1
TOTAL	9	100

En las muestras de suelo fueron identificados diez géneros (tabla 2), los más abundantes fueron *Paecilomyces* y *Penicillium*, con porcentajes de frecuencia de 29,4 y 23,5%, respectivamente. Los demás géneros identificados están representados por un aislado que corresponde a un 5,9%.

Tabla 2. Aislamiento de hongos a partir de muestras de suelo.

Hongo	Frecuencia	%
<i>Paecilomyces</i> spp.	5	29,4
<i>Penicillium</i> spp.	4	23,5
<i>Volutella</i> sp.	1	5,9
<i>Aspergillus</i> sp.	1	5,9
<i>Fusarium</i> sp.	1	5,9
Hyphomycete	1	5,9
<i>Peyronellae</i> sp.	1	5,9
<i>Cladosporium</i> sp.	1	5,9
<i>Dendrodochium</i> sp.	1	5,9
<i>Myrothecium</i> sp.	1	5,9
TOTAL	17	100

Pruebas de antagonismo. Al evaluar el efecto de la presencia de la cepa del hongo UdeA0106 sobre el crecimiento de los diferentes hongos aislados y los del cepario, se encontró que que *Volutella* sp. (Vo.UdeA0109), *Peyronella* sp. (Pe.UdeA0108) y *Metarhizium* sp. (Me.UdeA0109) se inhibieron en mayor proporción con un valor $p < 0,001$. Otros hongos también inhibidos por la cepa UdeA0106 fueron *Botrytis* sp. (Bo.UdeA0108), *Cladosporium* sp. (Cl.UdeA0109), *Fusarium* sp. (Fu.UdeA0109), *Paecilomyces* sp. aislado 2 (Pa.UdeA0109) y *Pochonia* sp. (Po.UdeA0107) (tablas 3 y 4).

DISCUSIÓN

Del total de hongos aislados, el 46,1% fue evaluado en las pruebas de antagonismo. Este representa un valor alto teniendo en cuenta que solo se consideraron cepas con actividad biocontroladora y fitopatógenas.

En los aislamientos realizados se registraron organismos comunes del suelo como son *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. y *Paecilomyces* sp., los cuales han sido anotados anteriormente por otros investigadores (Arias 2008, Morales 2009). Muchos de estos aislados presentaron bajos porcentajes de incidencia (tablas 1 y 2), debido posiblemente a la competencia intra e inter específica que tiene lugar en ambientes naturales (Chávez 2007) y a las fluctuaciones de variables ambientales claves para los hongos como son la temperatura y la humedad. Sin embargo, se registraron especies con altos valores de incidencia como *Penicillium* spp. con 77,7% y *Paecilomyces*

Tabla 3. Efecto de la presencia de UdeA0106 sobre el crecimiento de diferentes aislados fungosos en cultivo dual in vitro (g l = grados de libertad)

Hongo	Tratamiento	Diámetro de colonia (mm)	
		día 7	día 14
<i>Beauveria</i> sp.	vs. UdeA0106	4,340	9,020
	Control	4,210	10,090
	valor- <i>P</i>	0,802	0,422
	g l	5	5
<i>Botrytis</i> sp.	vs. UdeA0106	26,830	32,220
	Control	38,730	37,800
	valor- <i>P</i>	0,010	0,229
	g l	4	5
<i>Cladosporium</i> sp.	vs. UdeA0106	17,120	29,610
	Control	18,740	35,980
	valor- <i>P</i>	0,158	0,012
	g l	9	7
<i>Dendrodochium</i> sp.	vs. UdeA0106	16,140	26,340
	Control	15,270	34,730
	valor- <i>P</i>	0,285	0,113
	g l	8	7
<i>Fusarium</i> sp.	vs. UdeA0106	21,380	34,550
	Control	22,970	39,660
	valor- <i>P</i>	0,001	0,004
	g l	8	7
<i>Lecanicillium</i> sp.	vs. UdeA0106	7,440	12,140
	Control	6,750	12,270
	valor- <i>P</i>	0,196	0,936
	g l	8	7
<i>Metarhizium</i> sp.	vs. UdeA0106	6,080	11,610
	Control	5,470	10,330
	valor- <i>P</i>	0,288	< 0,001
	g l	5	7
<i>Myrothecium</i> sp.	vs. UdeA0106	8,910	17,430
	Control	9,730	19,610
	valor- <i>P</i>	0,058	0,080
	g l	8	7
<i>Paecilomyces</i> sp. aislado 1	vs. UdeA0106	9,060	16,420
	Control	8,430	15,070
	valor- <i>P</i>	0,335	0,370
	g l	9	8
<i>Paecilomyces</i> sp.	vs. UdeA0106	5,120	9,180
	Control	5,990	13,080
	valor- <i>P</i>	0,002	0,020
	g l	5	5
<i>Paecilomyces</i> sp.	vs. UdeA0106	5,830	10,250
	Control	6,090	10,550
	valor- <i>P</i>	0,580	0,774
	g l	7	7
<i>Peyronella</i> sp.	vs. UdeA0106	17,640	25,750
	Control	19,850	38,910
	valor- <i>P</i>	0,001	< 0,001
	g l	7	5
<i>Pochonia</i> sp.	vs. UdeA0106	5,090	9,040
	Control	5,900	12,020
	valor- <i>P</i>	0,362	0,021
	g l	6	5
<i>Volutella</i> sp.	vs. UdeA0106	13,670	26,990
	Control	14,030	30,250
	valor- <i>P</i>	0,444	< 0,001
	g l	8	9

Tabla 4. Efecto de la presencia de diferentes aislados fungosos sobre el crecimiento en cultivo dual in vitro de la cepa UdeA0106 (DC = diámetro colonia)

Hongo enfrentado	Día 7		Día 14	
	DC (mm) ^a	Valor-P ^b	DC (mm)	Valor-P
<i>Beauveria</i> sp.	5.81	0.783	9.23	0.968
<i>Botrytis</i> sp.	5.95	0.857	9.66	0.990
<i>Cladosporium</i> sp.	7.13	1.000	15.27	0.989
<i>Dendrodochium</i> sp.	7.52	1.000	19.26	0.227
<i>Fusarium</i> sp.	4.88	0.177	12.23	1.000
Hyphomycete	8.80	0.997	16.36	0.913
<i>Lecanicillium</i> sp.	5.98	0.815	8.34	0.134
<i>Metarhizium</i> sp.	8.20	1.000	16.24	0.875
<i>Myrothecium</i> sp.	10.99	0.395	15.41	0.991
<i>Paecilomyces</i> sp. aislado 1	6.44	0.981	14.87	0.998
<i>Paecilomyces</i> sp. aislado 2	5.12	0.431	6.67	0.014
<i>Paecilomyces</i> sp. aislado 3	5.17	0.287	8.45	0.160
<i>Peyronella</i> sp.	7.30	1.000	6.34	0.005
<i>Pochonia</i> sp.	8.05	1.000	9.08	0.499
<i>Volutella</i> sp.	4.45	0.052	7.78	0.045
Control ^c	7.64		12.94	
Valor -P para prueba de F	< 0.001		< 0.001	
Grados de libertad	79		74	

spp. con 29,4%. Esto puede estar relacionado con el crecimiento invasivo que presentan dichas especies.

En las pruebas antagónicas se encontró que la cepa UdeA0106 tuvo el efecto inhibitor más significativo sobre el crecimiento de *Metarhizium* sp. (Me.UdeA0109), *Peyronella* sp. (Pe.UdeA0108) y *Volutella* sp. (Vo.UdeA0109) con valores de $p < 0,001$ para el día 14. De estas especies solo *Volutella* sp. (Vo.UdeA0109) presentó un $p = 0,001$ para el día 7. En este mismo sentido, inhibiciones muy significativas también fueron registradas en *Fusarium* sp. (Fu.UdeA0109), *Paecilomyces* sp. aislado 2 (Pa.UdeA0109) y *Botrytis* sp. (Bo.UdeA0108) en el día 7, con valores de p de 0,001; 0,002 y 0,01, respectivamente. Los análisis en esta misma prueba muestran inhibiciones de crecimiento en el día 14 para *Fusarium* sp. (Fu.UdeA0109), *Cladosporium* sp. (Cl.UdeA0109), *Paecilomyces* sp. aislado 2 (Pa.UdeA0109) y *Pochonia* sp. (Po.UdeA0107) con valores de p de 0,004; 0,012; 0,02 y 0,021, respectivamente. Una posible explicación para este resultado es la presencia de metabolitos secundarios que han sido informados para la cepa UdeA0106, como las glicosil hidrolasas, que degradan proteínas asociadas a carbohidratos como la manosa, componente de la pared celular de algunos

de algunos hongos. Así mismo, se encontró una hidroxilasa de ácidos grasos, que posiblemente esté involucrada en la degradación de lípidos fúngicos miceliales (Cardona et al. 2008). Adicionalmente, como ha sido registrado por Villa (2006), la presencia de quitinasas producidas in vitro podrían de igual forma inhibir la formación de micelio de los hongos susceptibles.

Las pruebas antagónicas mostraron también que la cepa del hongo UdeA0106 fue antagonizada, en el día 14, por *Paecilomyces* sp. aislado 2 (Pa.UdeA0109), *Peyronella* sp. (Pe.UdeA0108) y *Volutella* sp. (Vo.UdeA0109) con valores de p de 0,014; 0,005 y 0,045, respectivamente. Este efecto sobre UdeA0106 pudo presentarse debido a la necesidad de un requerimiento esencial de estos hongos en la prueba (Paul 1999, Quiroz et al. 2008, Sempere y Santamarina 2008). Con *Paecilomyces* sp. aislado 2 (Pa.UdeA0109) el mecanismo de acción fue probablemente por competencia de espacio o nutrientes, debido a las limitaciones presentadas en el ensayo in vitro y a que las toxinas producidas por este hongo (paecilotoxinas) son generalmente sintetizadas en medios alcalinos (Gómez et al. 2004, Khan et al. 2003, Mikami et al. 1989, Pitt, 2009). Sin embargo, es importante considerar el

efecto antagonístico de *Purpureocillium lilacinum* contra varios fitopatógenos de *Caspiicum* sp. que ha sido informado por Ehteshamul-Haque y Uddin-Ahmad (2006).

Existen pocos estudios sobre los mecanismos de acción que pudieron presentar las especies de hongos objeto de este estudio. De igual manera, es probable que en estas pruebas los hongos hayan presentado diferentes mecanismos de acción, debido a la incompatibilidad que se presentó entre hongos en tiempos diferentes (Whipps 2001).

De acuerdo con los resultados obtenidos, se evidencia que las sugerencias a floricultores respecto a las mezclas de hongos con acción en diferentes blancos, deben estar soportados por pruebas de campo. Sin embargo, las tendencias que exhiben estos resultados son muy positivas a la hora de diseñar estrategias para la aplicación de hongos bicontroladores en cultivos, como lo mostró por ejemplo, el efecto antagonístico de la cepa UdeA0106 sobre hongos con alta actividad fitopatógena como *Fusarium* sp. (Fu.UdeA0109) y *Botrytis* sp. (Bo.UdeA0108), los cuales cumplen parte de su ciclo de vida en el suelo (Agrios 2005, Singh et al. 2002), y *Volutella* sp. (Vo.UdeA0109) (Šafránková 2007); evidenciando la posibilidad de su consideración como una opción alterna al uso de químicos.

Otro aporte importante de este estudio hace referencia al cuidado que se debe tener cuando se aplican hongos biocontroladores de manera simultánea, con diferencias cortas de tiempo o en una mezcla; ya que se observó la existencia de incompatibilidad de la cepa con hongos como *Metarhizium* sp. (Me.UdeA0109) y una especie de *Paecilomyces* sp. aislado 2 (Pa.UdeA0109) (Pérez et al. 2009), los cuales son ampliamente usados en actividades de control de plagas en cultivos. Por último, los análisis muestran la compatibilidad de la cepa UdeA0106 con hongos como *Beauveria* sp. (Be.UdeA0109), *Dendrodochium* sp. (De.UdeA0109), *Lecanicillium* sp. (Le.UdeA0109), *Myrothecium* sp. (My.UdeA0108), *Paecilomyces* sp. aislado 1 (Pa.UdeA0309), *Paecilomyces* sp. aislado 3 (Pa.UdeA0209) e Hyphomycete (Hy.UdeA0109) lo que sugiere, si futuros estudios de campo muestran el mismo comportamiento, que podrían aplicarse mezclas de estos hongos de acuerdo a la necesidades de control.

Se demostró en pruebas in vitro el antagonismo de *Purpureocillium* sp. con otros hongos usados también en el control de plagas, así como la posibilidad de ser aplicado en forma conjunta con otros. Por lo tanto se recomienda la realización a futuro de pruebas in vivo que permitan determinar la interacción existente entre estos hongos, corroborar los resultados obtenidos en las pruebas in vitro, y estudiar el comportamiento de estos microorganismos en

aplicaciones bajo condiciones de invernadero dentro de los programas de manejo integrado.

REFERENCIAS

- Acosta J. 2006. Evaluación de hongos entomopatógenos como controladores biológicos de *Scutigerella immaculata* [Trabajo de grado]. [Bogotá (Colombia)]: Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. p. 79.
- Agredo C, Zuluaga J, Chaparro E. 1988. Observaciones sobre características, distribución y daños de sínfilos (Symphyla) y otros organismos del suelo, en cultivos de piña (*Ananas comosus*) del Valle del Cauca. Acta Agronómica, 38 (2): 65-73.
- Agrios G. 2005. Plant Pathology. 5th ed. California (U. S. A.): Elsevier Academic Press. p. 922.
- Altinok H. 2002. Antagonistic effect of volatile and non volatile antibiotics produced by fungi isolated from apple phyllosphere on *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. International Organization for Biological and Integrated Control-West Palearctic Regional Session Bulletin, 25 (10): 249-252.
- Arango ME. 2002. Alternativas de manejo para el control biológico de Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) en el cultivo del banano (*Musa* AAA) En: Memorias XV Reunión Internacional Asociación para la Cooperación en Investigaciones de Bananos en el Caribe y la América Latina (ACORBAT). Medellín (Colombia): Asociación de Bananeros de Colombia (AUGURA). p. 130-134.
- Arias E, Piñeros P. 2008. Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde. [Trabajo de grado]. [Bogotá (Colombia)]: Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. p. 204.
- Aristizábal LF, Vélez JC, León CA. 2006. Diagnóstico del manejo integrado de la broca, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae), con caficultores caldenses. Revista Colombiana de Entomología, 32 (2): 117-124.
- Barnett H, Hunter B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. 4th ed. St. Paul, Minnesota (U. S. A.): The American Phytopathological Society. p. 218.
- Benhamou N, Brodeur J. 2000. Evidence for antibiosis and induced host defense reactions in the interaction between *Verticillium lecanii* and *Penicillium digitatum*, the causal agent of green mold. Phytopathology, 90 (9): 932-943.
- Cardona N, Betancur J, Rivera L, Gaitán A. 2008. Identificación de genes candidatos de patogenicidad en la interacción de la cepa "CENICAFE 9501", con el nematodo del nudo radical *Meloidogyne* spp. Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín, 61 (2): 4471-4741.
- Carlile MJ, Watkinson SC, Gooday GW. 2001. The Fungi. 2nd edition. London (U. K.): Elsevier Academic Press. p. 608.
- Carmichael J, Kendrick W, Connors I, Sigler L. 1980. Genera of hyphomycetes. Edmonton (Canadá): University of Alberta Press. p. 386.
- Chávez N. 2007. Utilización de bacterias y hongos endofíticos para el control biológico del nemátodo barrenador *Radopholus similis* (Cobb) Thorn.

- [Tesis de maestría]. [Turrialba (Costa Rica)]: Programa de Educación para el Desarrollo y la Conservación del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. p. 85.
- Cisternas E, Gerding M, France A, Villagra M. 2002. Evaluación de *Beauveria bassiana* (Aislación 931) sobre *Dalaca pallens* Blanchard (Lepidoptera: Hepialidae) en praderas de la X Región. En: XXIV Congreso Nacional de Entomología. Santiago (Chile): Servicio Agrícola y Ganadero y Sociedad Chilena de Entomología. p.43.
- Domínguez M. 2009. Phylogeny of the Symphyla (Myriapoda). [Inaugural-Dissertation]. [Berlin (Alemania)]: Department of Biology, Chemistry and Pharmacy, Freie Universität. p. 142.
- Domsch K, Gams W, Anderson TH. 1980. Compendium of soil fungi. Vol 1. London (U. K.): Academic Press. p. 859.
- Ehteshamul-Haque S, Uddin-Ahmad V. 2006. Role of crustacean chitin, fungicides and fungal antagonist on the efficacy of *Pseudomonas aeruginosa* in protecting chilli from root rot. Pakistan Botanical Society, 38(4): 1323-1331.
- Espinal C, Martínez H, Pinzón N, Barrios C. 2005. La cadena del algodón en Colombia, una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005. Bogotá (Colombia): Observatorio de Agro cadenas Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Documento de Trabajo N.º 53.
- Fernández O, Vega L. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos. Manejo Integrado de Plagas, 62: 96-100.
- Gallego J, Cardona N. 2012. Compatibilidad de la cepa UdeA0106 con bioformulados y productos químicos utilizados en cultivos de flores. [Tesis de Maestría]. [Medellín (Colombia)]: Facultad Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia. p. 26.
- Gerding M, Gerding P, France A. 2002. Evaluación de aislamientos de *Metarhizium* y *Beauveria* en diferentes concentraciones sobre *Rhyacionia buoliana* (Lepidoptera: Tortricidae). En: XXIV Congreso Nacional de Entomología. Santiago (Chile): Servicio Agrícola y Ganadero y Sociedad Chilena de Entomología. p. 55.
- Gloer J. 1995. The chemistry of fungal antagonism and defense. Canadian Journal of Botany, 73 (Suppl. 1): 1265-1274.
- Gómez E, Álvarez R, Fraga R, Reyes I, Hernández J, Lemes T, San Juan A. 2004. Metabolitos producidos por el hongo entomopatógeno *Verticillium lecanii*. Biotecnología Aplicada, 21 (2): 92-96.
- González-Castillo M, Aguilar C, Rodríguez R. 2012. Control de insecto-plaga en la agricultura utilizando hongos entomopatógenos: retos y perspectivas. Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila, 4 (8): 42-55.
- Hafez M, Zaki F, Moursy A, Sabbour M. 1994. Biological effects of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on the Potato Tuber Moth *Phthorimaea operculella* (Seller). Journal of Islamic Academy of Sciences, 7 (4): 211-213.
- Halliday R. 2004. Confirmation of the presence of *Scutigerebella immaculata* (Newport) in Australia (Symphyla: Scutigerebellidae). Australian Journal of Entomology, 43 (1): 43-45.
- Henaó E, Ospina K. 2008. Insectos benéficos asociados a cultivos de heliconias en el eje cafetero colombiano. Boletín Científico, Centro de Museos, Museo de Historia Natural, 12: 157-166.
- Khan A, Williams K, Nevalainen H. 2003. Testing the nematophagous biological control strain *Paecilomyces lilacinus* 251 for paecilotoxin production. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters, 227 (1): 107-111.
- Michelbacher AE. 1938. The biology of the garden centipede *Scutigerebella immaculata*. Hilgardia, 11: 55-148.
- Mikami Y, Yasawa K, Fukushima K, Arai T, Udagawa S, Samson R. 1989. Paecilotoxin production in a clinical or terrestrial isolates of *Paecilomyces lilacinus* strains. Mycopathologia, 108: 195-199.
- Morales J. 2009. Determinación de la patogenicidad in vitro de estructuras tipo II y conidias de la cepa UdeA0106 sobre *Scutigerebella* sp. y aislamiento de hongos a partir de muestras de sínfilos y suelos en La Ceja (Antioquia). [Trabajo de grado]. [Medellín (Colombia)]: Facultad Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia. p. 62.
- O'Farrill H. 2004. Aplique los plaguicidas correctamente: manual para agricultores. [Internet]. Mayagüez (Puerto Rico): Universidad de Puerto Rico. Servicio de extensión agrícola. Disponible en: <<http://academic.uprm.edu/ofarrill/HTMLobj-168/manualagricultores.pdf>>.
- Paul B. 1999. Suppression of *Botrytis cinerea* causing the gray mould disease of grape-vine by an aggressive mycoparasite, *Phytium radicosum*. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters, 176 (1): 25-30.
- Pérez Y, Cantillo T, Ramos E, Gonzáles M, López M. 2009. Prospección de hongos del suelo con potencialidades para el control biológico en suelos de agroecosistemas cubanos. Fitosanidad, 13 (1): 3-5.
- Pitt J. 2009. *Penicillium* and related genera. In: Pitt J, Hocking AD, editors. Fungi and food spoilage. 3rd edition. New York (U. S. A.): Springer. p. 230-338.
- Quiroz V, Ferrera R, Alarcón A, Lara M. 2008. Antagonismo in vitro de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo del ajo. Revista Mexicana de Micología, 26: 27-34.
- Šafránková I. 2007. *Volutella* Leaf Blight and Stem Canker on Japanese *Pachysandra* in the Czech Republic. Plant Protection Science, 43 (1): 10-12.
- Salazar-Moncada DA. 2013. Biología y control microbiológico de sínfilos (Myriapoda: Symphyla) en cultivos de flores en Colombia [Tesis de Doctorado]. [Medellín (Colombia)]: Facultad Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia. p. 167.
- Sanz L, Montero M, Grondona I, Llobell A, Monte E. 2002. In vitro antifungal activity of *Trichoderma harzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. asperellum* and *T. atroviride* against *Botrytis cinerea* pathogenic to strawberry. International Organization for Biological and Integrated Control-West Palearctic Regional Session Bulletin, 25 (10): 253-256.
- Sempere F, Santamarina M. 2008. Suppression of *Nigrospora oryzae* (Berk and Broowe) Petch. by an aggressive mycoparasite and competitor, *Penicillium oxalium* Curve and Thom. International Journal of Food Microbiology, 122: 35-43.
- Singh R, Singh B, Upadhyay R, Bharat R, Su Lee Y. 2002. Biological control of *Fusarium* wilt disease of pigeonpea. The Plant Pathology Journal, 18 (5): 279-283.
- Thomsen L, Eilenberg J. 2000. Time-concentration mortality of *Pieris*

Salazar-Moncada et al.

- brassicae* (Lepidoptera: Pieridae) and *Agrotis segetum* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae from different destruxins. *Environmental Entomology*, 29 (5): 1041-1047.
- Trabanino R, Kuniyoshi C, Michel M. 2003. Manual de agentes de control biológico. [Internet]. Tegucigalpa (Honduras): Centro de control biológico para Centroamérica, Biblioteca Wilson Popenoe- Zamorano. Disponible en: <<http://www.zamorano.edu/biblioteca>>.
- Umble J, Fisher J. 2003a. Sampling considerations for garden symphylans (Order: Cephalostigmata) in western Oregon. *Journal of Economic Entomology*. 96 (3): 969-974. Fecha de acceso: enero 28, 2014. Disponible en: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12852643>>.
- Umble J, Fisher J. 2003b. Suitability of selected crops and soil for garden symphylan populations (Symphyla, Scutigereillidae: *Scutigereilla immaculata* Newport). *Applied Soil Ecology*, 24 (2): 151-163.
- Villa C. 2006. Estudios in vitro sobre la patogenicidad de cultivos monospóricos de Hyphomycete sp. (cenicafé 9501) sobre huevos de *Meloidogyne* spp. provenientes de café. [Trabajo de grado]. [Medellín (Colombia)]: Facultad Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia. p. 51.
- Whipps J. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52 (1): 487-511.
- Worasatit N, Sivasithamparam K, Ghisalberti E, Rowland C. 1994. Variation in pyrone production, lytic enzymes and control of *Rhizoctonia* root rot of wheat among single-spore isolates of *Trichoderma koningii*. *Mycological Research*, 98: 1357-1363.