



NOTA CORTA [SHORT NOTE]

EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD *in vitro* DE *Purpureocillium lilacinum* SOBRE *Globodera rostochiensis*

[ASSESSMENT OF *in vitro* PATOGENICITY OF *Purpureocillium lilacinum* ON *Globodera rostochiensis*]

María del Carmen Núñez-Camargo<sup>1</sup>, Gloria Carrión<sup>2\*</sup>, Ángel Enrique Núñez-Sánchez<sup>3</sup> y José Daniel López-Lima<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Biológicas Agropecuarias. Km 40 Autopista Colima-Manzanillo, Tecmán, Colima, México. C.P. 28100. [mccarmennunez@hotmail.com](mailto:mccarmennunez@hotmail.com)

<sup>2</sup>Instituto de Ecología, A. C., Red de Biodiversidad y Sistemática. Km 2.5 Antigua Carretera a Coatepec No. 351, Congregación El Haya, Xalapa, Veracruz, México. C.P. 91070.

<sup>3</sup>Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Agrícolas, Zona Xalapa. Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n, Zona Universitaria, Xalapa, Veracruz, México. C.P. 91090. [nunesa52@yahoo.com.mx](mailto:nunesa52@yahoo.com.mx)

<sup>4</sup>Universidad Autónoma del Estado de México, Unidad San Cayetano de Morelos 50000, Toluca, Estado de México, México. [lopezlima.jd@gmail.com](mailto:lopezlima.jd@gmail.com)

\*Autor para correspondencia: [gloria.carrion@inecol.edu.mx](mailto:gloria.carrion@inecol.edu.mx)

RESUMEN

Debido a la alta densidad del nematodo dorado de la papa *Globodera rostochiensis* en la zona montañosa del Cofre de Perote, en Veracruz, México, se han buscado hongos parásitos en los diferentes estadios de esta plaga. El objetivo del estudio fue aislar hongos asociados del segundo estadio juvenil (J2) de *G. rostochiensis* en predios de cultivo de papa en la región del Cofre de Perote, y de estos hongos evaluar la patogenicidad *in vitro* del hongo con mayor potencial nematófago sobre huevos y juveniles J1 y J2 de *G. rostochiensis*. Se extrajeron ejemplares J2 del nematodo dorado de 10 muestras de suelo (500 cc) mediante el método de Baerman; 300 J2 se colocaron individualmente en discos de 8 mm de agar con extracto de malta para favorecer el crecimiento de hongos. Se obtuvieron 16 cepas de hongos (5.3%) aislados de J2: *Aureobasidium* (3), *Cladosporium* (2), *Fusarium* (3), *Pestalotiopsis* (3), *Penicillium* (4) y *Purpureocillium lilacinum* (1). Este último fue seleccionado para estudiar el proceso de infección y evaluar su patogenicidad sobre huevos y juveniles J1 y J2 del nematodo dorado. La germinación de las esporas de *P. lilacinum* se observó a las 12 h de la inoculación, el desarrollo del micelio en el interior y exterior de los J2 a las 72 h y la formación de conidióforos a las 96 h.

**Palabras clave:** Control biológico; papa; nematodo dorado; *Purpureocillium lilacinum*.

SUMMARY

Due to the high density of the potato golden nematode *Globodera rostochiensis* in the mountainous region of the Cofre de Perote, in Veracruz, Mexico, the presence of parasitic fungi in the different stages of this pest has been studied. The aim of this study was to isolate fungi associated with the second juvenile stage (J2) of *G. rostochiensis* in potato crops in the Cofre de Perote region, and of these fungi to evaluate the *in vitro* pathogenicity of the fungus with the greatest nematophagous potential on eggs and J1 and J2 juveniles of *G. rostochiensis*. J2 specimens of the golden nematode were extracted from 10 soil samples (500 cc) through the Baerman method; 300 J2 were individually placed on 8 mm discs of malt extract agar to promote the growth of the fungi. A total of 16 fungi strains isolated from J2 were obtained (5.3%): *Aureobasidium* (3), *Cladosporium* (2), *Fusarium* (3), *Pestalotiopsis* (3), *Penicillium* (4) and *Purpureocillium lilacinum* (1). The latter was selected to study the infection process and to evaluate its pathogenicity on eggs and J1 and J2 juveniles of the golden nematode. Germination of spores of *P. lilacinum* was observed at 12 h after inoculation, the development of the mycelium on the inside and outside of the J2 at 72 h and the formation of conidiophores at 96 h.

**Key words:** Biological control; potato, golden nematode; *Purpureocillium lilacinum*.

## INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en zonas montañosas (1500 a 3000 msnm) en diferentes partes de mundo es el nematodo dorado *Globodera rostochiensis* (Woll.) Skarbilovich 1959 (Sullivan *et al.*, 2007). La densidad de población de este nematodo debe ser menor a 40 quistes  $\text{kg}^{-1}$  suelo para no afectar el rendimiento del cultivo (EPPO/CABI, 1996). En los campos cultivados con papa de la región del Cofre de Perote en Veracruz, México, se reportan de 2000 a 6000 quistes  $\text{kg}^{-1}$  suelo (Núñez-Sánchez *et al.*, 2003; Desgarenes *et al.*, 2006). Para el manejo de este fitoparásito los productores aplican dosis elevadas de nematicidas químicos como el carbofuran, lo cual no ha sido suficiente para disminuir la densidad del nematodo a umbrales que no afecten el desarrollo del cultivo. Los nematicidas utilizados son extremadamente tóxicos para organismos benéficos, contaminan el suelo y los mantos freáticos. Debido a su alto poder residual (120 días), estos químicos permanecen en el tubérculo hasta después de la cosecha, lo que puede causar intoxicación en los consumidores finales (Whitehead, 1986; Mendes *et al.*, 2005).

Una de las alternativas en proceso de investigación en la región del Cofre de Perote es la utilización de hongos nematófagos nativos como biocontrol de *G. rostochiensis*. En quistes se han aislado hongos endoparásitos como *Acremonium incrustatum* Gams y *Phialophora malorum* (Kidd & Beaumont) McCollch, entre otros (Núñez-Camargo *et al.*, 2003). Se considera que para implementar un control biológico exitoso es importante que más de una fase del ciclo de vida del organismo a combatir sea afectada (Mills, 2005), por lo cual es necesario conocer los hongos que afectan a los juveniles J2 de *G. rostochiensis*. Este estadio es la etapa infectiva y de mayor movilidad en el suelo, sin embargo, también es más susceptible al ataque de enemigos naturales. Los géneros de hongos registrados como endoparásitos asociados a diversas especies de nematodos son: *Acrostalagmus*, *Cephalosporium*, *Gonimochaete*, *Haptoglossa*, *Harposporium*, *Meria*, *Nematoctonus*, *Hirsutella*, *Paecilomyces*, *Pochonia* y *Verticillium* (Barron, 1977; Velvis y Kamp, 1995; Flores-Camacho *et al.*, 2006).

En México, las regiones montañosas son centros de diversidad de papas silvestres comestibles (Solanaceae: Sección *Tuberium*) y de organismos relacionados; la región del Cofre de Perote es una de ellas (Correl, 1952; Nee, 1993). Las alteraciones ecológicas debidas al cambio de uso del suelo de bosques a zonas de cultivo y agostaderos han tenido como consecuencia la pérdida de especies de plantas silvestres y microorganismos que pueden utilizarse como agentes reguladores de plagas. Sin embargo, se cree que en el agroecosistema de la papa existen

hongos endoparásitos nativos que parasitan los juveniles J2 de *G. rostochiensis* y que han resistido al manejo intensivo de este cultivo. Debido a las características bioquímicas de la pared del quiste y de la cutícula de los estadios juveniles, se considera que los hongos que se encuentran asociados a juveniles J2 son diferentes de los encontrados asociados a quistes (Núñez-Camargo *et al.*, 2003). En el presente estudio se aislaron los hongos nativos asociados a juveniles J2 de *G. rostochiensis* en cultivo de papa en la región del Cofre de Perote, y se evaluó la patogenicidad *in vitro* de *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones & Samson (= *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson) sobre huevos y juveniles J1 y J2 de *G. rostochiensis* (Luangsa-ard *et al.*, 2011).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio y toma de muestras

Se seleccionaron dos predios cultivados con papa de una hectárea cada uno, ubicados en la localidad de Los Pescados, municipio de Perote, Veracruz, México, a una altitud de 2980 msnm, localizada a 19°33'41" Latitud Norte y 97°08'53" Longitud Oeste. El clima predominante en el área de estudio es C(W<sub>2</sub>)B, que varía de templado subhúmedo a semifrío, con temperatura de 5 a 12 °C y precipitación pluvial anual de 600 mm (Medina y Angulo, 1992). Los suelos predominantes son los andosoles húmicos, mólicos, feozem háplico, regosol calcáreo y luvisol crómico (INEGI, 1990a,b). En cada predio se tomaron dos grupos de cinco muestras de suelo de 500 cc cada una, a una distancia de 5 cm del tallo de las plantas y a 15 cm de profundidad, siguiendo un patrón en zigzag (Turner, 1993; Kleynhans, 1999). El primer grupo de muestras se recolectó durante el desarrollo de tubérculos y se utilizó para el aislamiento de los hongos asociados a los juveniles J2. El segundo grupo de muestras se tomó próximo a la etapa de cosecha y se utilizó para obtener los quistes, huevos y juveniles utilizados en el proceso de infección y en las pruebas de patogenicidad.

### Obtención de juveniles J2 y aislamiento de hongos

Para la obtención de los juveniles se utilizó la técnica del embudo de Baerman (Kleynhas, 1999). Los J2 de *G. rostochiensis* obtenidos en el primer muestreo se depositaron en cajas De Grisse y con la ayuda de un pescador nematológico se separaron de los nematodos de vida libre del suelo y se lavaron tres veces con agua destilada estéril (Othman *et al.*, 1988; Kleynhas, 1999; Stirling *et al.*, 2002). Posteriormente, para obtener los hongos, 300 juveniles J2 se colocaron individualmente en discos de medio de cultivo de agar con extracto de malta (EMA) y cloranfenicol (1 g L<sup>-1</sup>) contenido en blisters de 8 mm de diámetro, y se mantuvieron a 20 ± 3 °C para su observación durante 15 días. El micelio

que se desarrolló sobre la superficie de los juveniles se transfirió a placas de EMA para mantenerlo en cultivo puro. Todos los hongos obtenidos se observaron e identificaron al menos a nivel de género tomando en cuenta sus estructuras reproductoras, utilizando claves especializadas (Ellis, 1971; Gams, 1971; Samson, 1974). Además, como parte de la caracterización de las cepas se utilizó la carta de colores de Methuen (Kornerup y Wanscher, 1989) para determinar el color de los micelios y la esporulación.

### **Evaluación del proceso de infección *in vitro* de *Purpureocillium lilacinum* sobre huevos y juveniles J1 y J2 de *Globodera rostochiensis***

Uno de los hongos obtenidos de juveniles J2 de *G. rostochiensis* fue *Purpureocillium lilacinum*, cuya cepa se encuentra depositada en el cepario del Instituto de Ecología (IE-430) en Xalapa, Veracruz. Este hongo se ha registrado parasitando diversos géneros de nematodos en diferentes cultivos (Jatala *et al.*, 1979; Khan *et al.*, 2006; Mendoza *et al.*, 2007), por lo cual se seleccionó para observar el proceso de infección y realizar las pruebas de patogenicidad. Con el fin de tener suficientes esporas del hongo seleccionado para realizar las pruebas del proceso de infección, *P. lilacinum* se reprodujo en placas con papa dextrosa agar (PDA) y se incubó a  $20 \pm 3$  °C durante tres semanas. Paralelamente se extrajeron 900 quistes de *G. rostochiensis* del segundo grupo de muestras de suelo por el método del flotador de Fenwick (1940). Los quistes se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 5% y alcohol al 70%, en ambos casos durante 1 minuto, y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril (Núñez-Camargo *et al.*, 2003). Enseguida se colocaron en 36 cajas Petri (25 quistes en cada caja) con papel filtro previamente humedecido con agua destilada estéril. Los quistes se cortaron con ayuda de una aguja de disección para exponer los huevos y los juveniles J1 y J2. De estas cajas Petri se seleccionaron 30 (N=750) para ser inoculadas con *P. lilacinum*, las cuales se asperjaron con 80 µl de una suspensión de esporas a una concentración de  $1 \times 10^6$  esporas mL<sup>-1</sup> adicionando Tween al 0.01% para romper la tensión superficial (López-Llorca y Robertson, 1992; Duponnois *et al.*, 1995; Holland *et al.*, 1999). Las seis cajas Petri restantes (150 quistes) se asperjaron con agua destilada estéril y se utilizaron como testigo. Todas las cajas Petri se mantuvieron en oscuridad a temperatura ambiente ( $20 \pm 3$  °C). El proceso de infección se detuvo mediante la aplicación de una gota de lactofenol a las 12, 24, 48, 72, 96 y 120 h después de la inoculación, siguiendo la metodología de De Almeida y Dos Santos (2004). El desarrollo del hongo sobre huevos y juveniles J1 y J2 se observó bajo el microscopio de luz y el microscopio electrónico de barrido, con la técnica de oro paladio (Holland *et al.*, 1999).

### **Pruebas de patogenicidad**

Para evaluar la patogenicidad de *P. lilacinum* en huevos y juveniles J1 de *G. rostochiensis* se prepararon 900 quistes colocados en cajas Petri de la misma manera que en el apartado anterior. Se inocularon con *P. lilacinum* 30 cajas (750 quistes) y seis cajas (150 quistes) más se utilizaron como testigo. Las cajas Petri se mantuvieron a temperatura ambiente ( $20 \pm 3$  °C) con 12 h luz-oscuridad durante cinco días. De cada caja Petri se evaluaron al azar 125 huevos y 125 juveniles J1 (cinco por quiste); con ayuda de una aguja se colocaron en un portaobjetos con una gota de lactofenol azul para observar al microscopio y cuantificar el porcentaje de mortalidad. Para determinar el nivel de patogenicidad de *P. lilacinum* sobre juveniles J2, se extrajeron quistes de *G. rostochiensis* del suelo recolectado en el segundo muestreo. Los quistes (N=50) se colocaron en viales de 2 ml (10 quistes por vial) con exudados radicales de papa (Perry y Beane, 1988) para estimular la eclosión de los J2. Los juveniles J2 eclosionaron a los 45 días. Posteriormente, en seis cajas Petri con exudados radicales de papa se colocaron 100 juveniles J2 por caja (N=600) (Tedford y Jaffee, 1995); se inocularon con 80 µl de la suspensión de esporas con  $1 \times 10^6$  esporas mL<sup>-1</sup> de *P. lilacinum*. Para el testigo se utilizaron seis cajas con exudados radicales de papa y 100 juveniles J2 (N=600) sin inocular. Posteriormente, las cajas se incubaron a temperatura ambiente ( $20 \pm 3$  °C) y se mantuvieron en oscuridad durante cinco días (Dackman, 1990). El porcentaje de mortalidad de los juveniles J2 infectados y colonizados por *P. lilacinum* se determinó cada 24 h al observarlos directamente al microscopio de luz.

## **RESULTADOS**

### **Hongos nativos asociados a juveniles J2 de *Globodera rostochiensis* en cultivo de papa**

Del número total de juveniles colocados sobre los discos de medio de cultivo (N=300) se obtuvieron 16 aislamientos de hongos correspondientes a los géneros *Aureobasidium* (3), *Cladosporium* (2), *Fusarium* (3), *Purpureocillium* (1), *Pestalotiopsis* (3) y *Penicillium* (4). A nivel de especie sólo se identificó a *Purpureocillium lilacinum*, cuyas características son: micelio flocoso, polvoriento, rosa (11A2), el reverso café (5F4), crece 3 cm en EMA a los 18 días, abundante esporulación, hifas hialinas-rosáceas lisas de 1-2 µm, fialides de 4 a 7 x 1 a 2.5 µm con base ancha y ápice delgado, conidióforos verticilados, erectos, de 90 a 140 x 1.5 a 2.5 µm con cuatro fialides, conidios subglobosos a elipsoidales, ligeramente rugosos de 2.5 a 3.5 x 1.5 a 2 µm.

**Proceso de infección de *Purpureocillium lilacinum* en huevos, juveniles J1 y J2 de *Globodera rostochiensis***

La germinación de esporas y el desarrollo del tubo germinativo (4  $\mu\text{m}$  largo x 1  $\mu\text{m}$  ancho) de *P. lilacinum* se observó después de 12 h de haber sido inoculadas sobre los quistes abiertos. Algunos tubos germinativos estaban penetrando la cutícula de los huevos y manifestaban desarrollo sobre la pared de los quistes. También se observó en algunos huevos la presencia de apresorios. Después de 24 h, las hifas ya habían alcanzado un tamaño de 40 a 44  $\mu\text{m}$  largo x 1.6 a 2  $\mu\text{m}$  ancho, y el desarrollo del micelio se observó tanto en el interior como en el exterior de los huevos. Algunas esporas desarrollaron dos tubos germinativos en direcciones opuestas (Figura 1A). En general, a las

48 h las hifas ya se habían ramificado en el interior de los huevos. En todas las esporas que germinaron se encontraron hifas ramificadas con un grosor de 2.4 a 3.2  $\mu\text{m}$  y se observó desarrollo de micelio sobre la cutícula de los juveniles (Figura 1B). Después de 72 h de la inoculación, la masa micelial se hizo evidente (Figura 1C). La formación de fiálides y conidios se inició a las 96 h. La masa conidial de *P. lilacinum* fue más densa a las 120 h después de haber sido inoculado; los conidióforos ya estaban maduros y producían esporas. Con respecto al contenido de los huevos, su color fue café-amarillento y no hialino; en los juveniles J1 y J2 se observó un enrollamiento anormal dentro del huevo, perdiendo la turgencia. Los organelos y el estilete ya no fueron visibles. En el testigo los huevos se mantuvieron libres de micelio (Figura 1D).

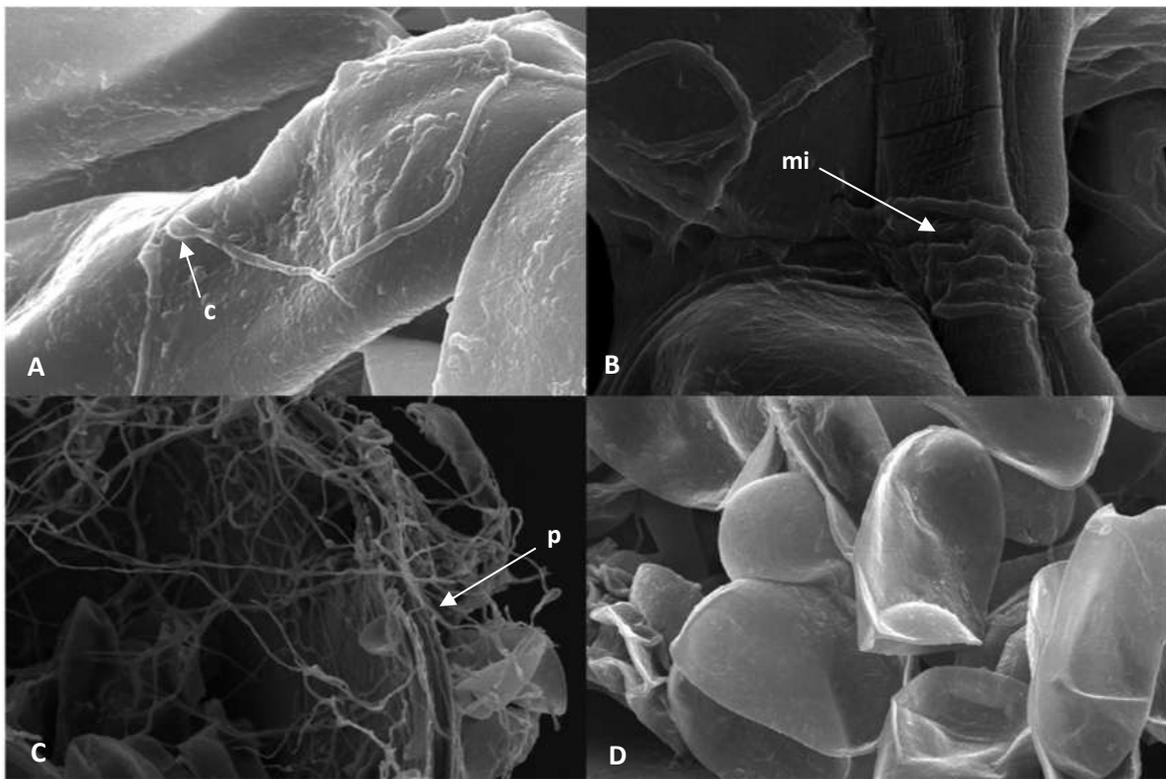


Figura 1. Infección de *Purpureocillium lilacinum* sobre huevos de *Globodera rostochiensis*, A-C): A) Conidiosporas (c) desarrollando su micelio a las 24 h después de la inoculación, 2200X; B) Juveniles con micelio (mi) a las 48 h de la inoculación, 3000X; C) Desarrollo del micelio sobre todo el quiste incluyendo la pared (p) a las 72 h después de la inoculación, 450X; D) Huevos de *G. rostochiensis* en grupo testigo, 700X.

**Evaluación *in vitro* de la patogenicidad de *Purpureocillium lilacinum* sobre *Globodera rostochiensis***

Los huevos y juveniles J1 examinados al microscopio presentaron desarrollo micelial a los cinco días de

exposición a las esporas de *P. lilacinum*. La mortalidad de huevos y juveniles J1 infectados fue del 100% a los cinco días (Figura 2). En cambio, los ejemplares testigo se mantuvieron sin evidencia del desarrollo de micelio.

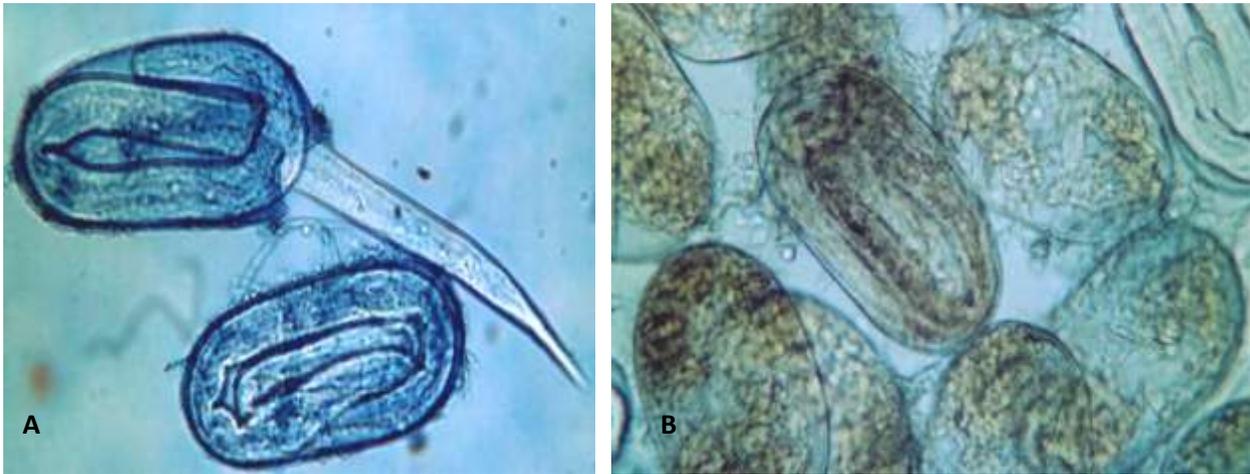


Figura 2. *Purpureocillium lilacinum* desarrollándose sobre *Globodera rostochiensis*: A) Huevos con juveniles J1 después de tres días de la inoculación con el hongo nematófago; B) Huevos con signos de degradación a las 120 h después de la inoculación.

Por otro lado, se obtuvo 100% de mortalidad de los juveniles J2 a los seis días de haber sido inoculados (Figura 3). El micelio se desarrolló en interior de los juveniles J2, invadiendo los organelos de los nematodos (Figura 4). En el testigo solo se

encontraron 12 juveniles J2 muertos (2%). El resto de los individuos utilizados en el testigo se mantuvieron vivos con motilidad y sin observar ningún crecimiento micelial durante el desarrollo del experimento (Figura 4).

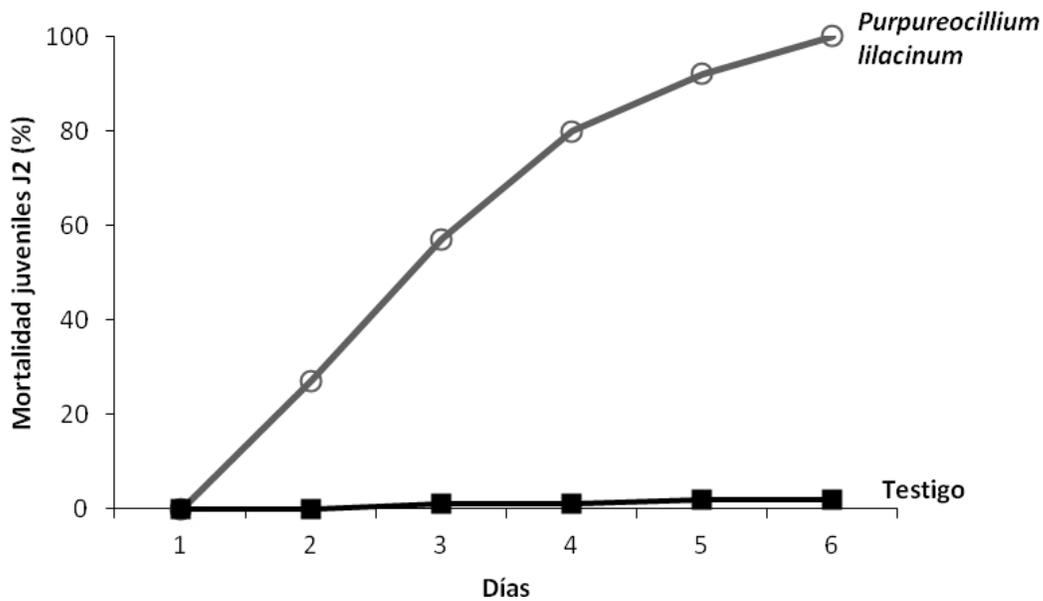


Figura 3. Porcentaje de mortalidad en juveniles J2 de *Globodera rostochiensis* inoculados con *Purpureocillium lilacinum* y en el testigo.

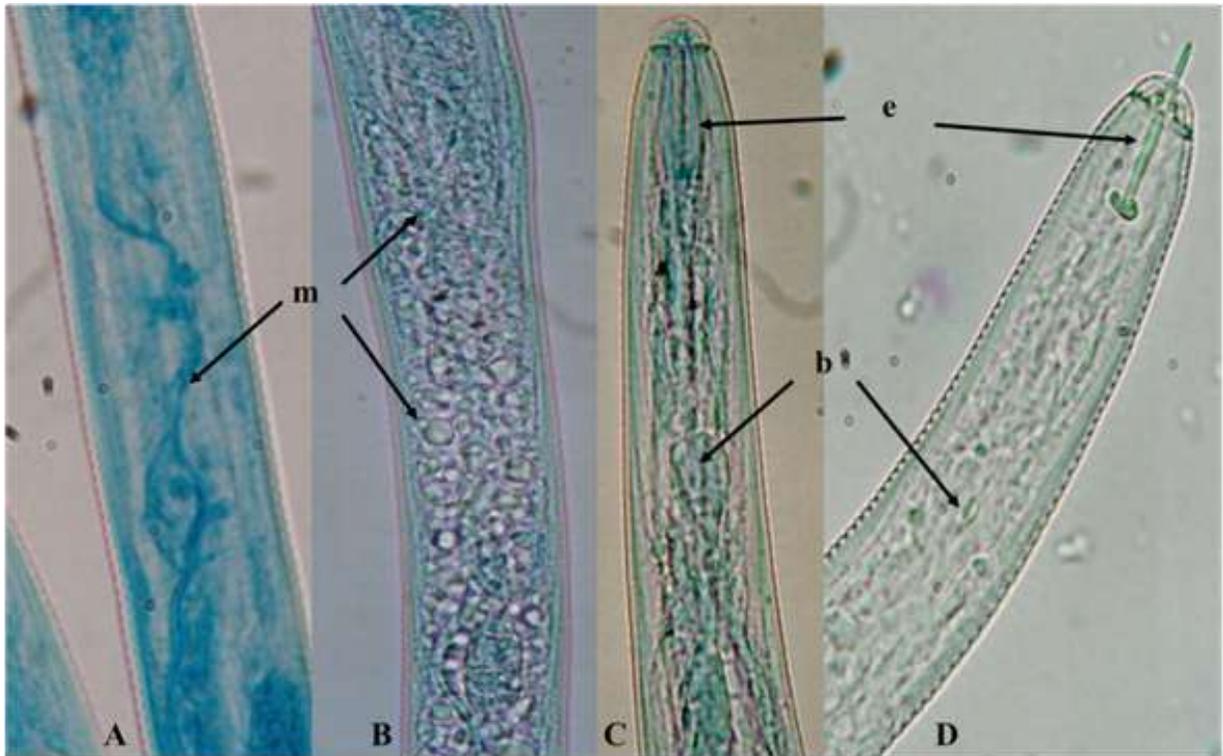


Figura 4. A-B) Juveniles J2 de *Globodera rostochiensis* con el micelio (m) de *Purpureocillium lilacinum* creciendo en el interior; C) Órganos internos degradados del juvenil J2 de *G. rostochiensis*; D) Juvenil J2 sano en el testigo, donde se observa el estilite (e) y el bulbo medio esofágico (b).

## DISCUSIÓN

En suelos dedicados al cultivo intensivo de la papa existe un grupo restringido de hongos asociados a huevos, juveniles y quistes de *G. rostochiensis* (Morgan-Jones *et al.*, 1986; Dackman 1990; Núñez-Camargo *et al.*, 2003). Los hongos asociados de manera natural a nematodos han sido clasificados como parásitos facultativos, ya que tienen la capacidad de ser parásitos o desarrollarse como saprobios, dependiendo del recurso disponible. Los aislamientos obtenidos en este trabajo quedan en el grupo de los hongos oportunistas *Fusarium*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Pestalotiopsis*, *Aureobasidium* y *Purpureocillium* (Morgan-Jones *et al.*, 1986). Sin embargo, el porcentaje obtenido de hongos aislados en este estudio es considerado bajo (5.3%), en contraste con los aislamientos de hongos obtenidos en diferentes agroecosistemas (>30%) (Morgan-Jones *et al.*, 1986; Wachira *et al.*, 2009; Peraza-Padilla *et al.*, 2011). Asimismo, en este estudio únicamente se encontró a *P. lilacinum* en el 0.6% de los juveniles J2 examinados; esto puede deberse a que los hongos nematófagos son afectados por el manejo intensivo del suelo y por el uso excesivo de plaguicidas (Wachira *et al.*, 2011). *Purpureocillium lilacinum* (= *Paecilomyces lilacinus*) ha sido estudiado como agente de control de diversos géneros de nematodos (Jatala *et al.*, 1979; Khan *et al.*,

2006; Mendoza *et al.*, 2007; Pandey *et al.*, 2011). En este estudio se demostró la actividad nematófaga de *P. lilacinum* (IE-430) sobre huevos y juveniles J1 y J2 de *G. rostochiensis*, ya que fue capaz de penetrar y afectar los huevos y juveniles, en los que formó conidióforos y conidios a las 96 h de inoculado. Resultados similares fueron reportados por Holland *et al.* (1999) cuando *P. lilacinum* se inoculó sobre masas de huevos y juveniles de *Meloidogyne javanica* Treub Chitwood, registrando la formación de apresorios y desarrollo de las hifas a las 24 h. Khan *et al.* (2006) describieron que *P. lilacinum* puede infectar completamente a las hembras de *M. javanica* al cuarto día después de la exposición al hongo, en condiciones de laboratorio. Así mismo, Mucksood y Khan (2010) demostraron que la aplicación de *P. lilacinum* al suelo reduce el número final de agallas, masas de huevos y adultos de *M. javanica* hasta en 76%. Esto coincide con lo descrito por Gonzalez *et al.* (2009), quienes observaron que la aplicación de cepas comerciales de *P. lilacinum* disminuye entre 61 y 38% la población de *Helicotylenchus*, entre otros nematodos fitoparásitos en cultivo de plátano. Sin embargo, el uso de cepas nativas puede tener una mayor eficiencia en el control de nematodos fitoparásitos debido a que están adaptadas a las condiciones de suelo y clima (Stirling, 1991; Viaene y Abawi, 1998).

## CONCLUSIÓN

En los suelos cultivados con papa de la región del Cofre de Perote se encuentran hongos nematófagos asociados a juveniles J2 en bajo porcentaje. Esto puede ser debido a la aplicación de diversos agroquímicos en dichos suelos, lo que puede afectar a los microorganismos. Sin embargo, existen hongos nativos como *Purpureocillium lilacinum* que permanecen en el suelo a pesar de las prácticas agrícolas de manejo intensivo. En condiciones *in vitro* este hongo parasita huevos y juveniles J1 y J2 de *Globodera rostochiensis*, y en el presente estudio se comprobó su efectividad como agente de control biológico del nematodo dorado de la papa.

## REFERENCIAS

- Barron, G.L. 1977. The nematode destroying fungi. Canada Biology Publication Ltd., Canada.
- Correll, S.D. 1952. Section Tuberarium of the genus *Solanum* of North America and Central America. Agriculture monograph No. 11. United States Department of Agriculture, USA.
- Dackman, C. 1990. Fungal parasites of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*: Isolation and reinfection. *Journal of Nematology*. 22:594-597.
- De Almeida, B.E.R., Dos Santos, J.M. 2004. Patogenicidad *in vitro* de *Monacrosporium robustum* a *Rotylenchulus reniformis*. *Ciencia Rural Santa Maria*. 34:1239-1241.
- Desgarenes, D., Carrión, G., Núñez-Sánchez, A.E., Núñez-Camargo, M.C. 2006. Distribution of stages and *in vitro* larval hatching in *Globodera rostochiensis* cysts. *Nematropica*. 35:251-260.
- Duponnois, R., Mateille, T., Gueye, M. 1995. Biological characteristics and effects of two strains of *Arthrobotrys oligospora* from Senegal on *Meloidogyne* species parasitizing tomato plants. *Biocontrol Science and Technology*. 5:517-525.
- Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. CAB Commonwealth Mycological Institute, UK.
- EPPO/CABI. 1996. *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. In: Smith, I.M., McNamara, D.G., Scott, P.R. and Holderness, M. (eds.). Quarantine pests for Europe. CAB International, UK. pp. 601-606.
- Fenwick, D.M. 1940. Methods for the recovery and counting of cyst of *Heterodera schachtii* from soil. *Journal of Helminthology*. 18:155-172.
- Flores-Camacho, R., Atkins, S.D., Manzanilla-López, R.H., Cid del Prado-Vera I., Martínez-Garza, A. 2006. Caracterización de aislamientos mexicanos de *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* (Goddard) Gams y Zare para el control biológico de *Nacobbus aberrans* (Thorne) Thorne y Allen. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 26:93-104.
- Gams, W. 1971. *Cephalosporium-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes)*. Gustav Fisher Verlag, Germany.
- González, C., Aristizábal, J., Aristizábal, M. 2009. Evaluación biológica del manejo de picudos y nematodos fitopatógenos en plátano (*Musa AAB*). *Acta Agronómica*. 58:260-269.
- Holland, R.J., Williams, K.L., Khan, A. 1999. Infection of *Meloidogyne javanica* by *Paecilomyces lilacinus*. *Nematology*. 1:131-139.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 1990a. Carta Estatal de Geología de Veracruz. INEGI, México.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. 1990b. Carta Estatal de Suelos de Veracruz. INEGI, México.
- Jatala, P., Kaltenbach, R., Bocangel, M. 1979. Biological control of *Meloidogyne incognita acrita* and *Globodera pallida* on potatoes. *Journal of Nematology*. 11:303.
- Khan, A., Williams, K.L., Nevalainen, H.K.M. 2006. Infection of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. *BioControl*. 51:659-678.
- Kleynhans, K.P.N. 1999. Collecting and Preserving Nematodes: a Manual of Nematology. ARC-Plant Protection Research Institute, South Africa.
- Kornerup, A., Wanscher, J.H. 1989. *Methuen Handbook of Colour*. Richard Clay, UK.
- Luangsa-ard, J., Houbraken, J., van Doorn, T., Hong, S.B., Borman, A.M., Hywel-Jones, N., Samson, R.A. 2011. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important

- Paecilomyces lilacinus*. FEMS Microbiol Letter. 321:141-149.
- López-Llorca, L.V., Robertson, W.M. 1992. Ultrastructure of infection of cyst nematode eggs by nematophagous fungus *Verticillium suclasporium*. Nematologica. 39:65-174.
- Medina, A., Angulo, R.M.J. 1992. Atlas climático del municipio de Perote. Instituto de Ecología, A.C., México.
- Mendes, C.A.C., Mendes, G.E., Cipullo, J.P., Burdmann, E.A. 2005. Acute intoxication due to ingestion of vegetables contaminated with aldicarb. Clinical Toxicology. 43:117-118.
- Mendoza, A.R., Sikora, R.A., Kiewnick, S. 2007. Influence of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 on the biological control of the burrowing nematode *Radopholus similis* in banana. Nematropica. 37:203-214.
- Mills, N. 2005. Selecting effective parasitoids for biological control introductions: codling moth as a case history. Biological Control. 34:274-282.
- Morgan-Jones, G., Rodríguez-Kabana, R., Jatala, P. 1986. Fungi associated with cyst of potato cyst nematodes in Peru. Nematropica. 16:21-31.
- Mucksood, A.G., Khan, T.A. 2010. Biological potential of *Paecilomyces lilacinus* on pathogenesis of *Meloidogyne javanica* infecting tomato plant. European Journal of Applied Sciences. 2:80-84.
- Nee, M. 1993. Solanáceae II. Flora de Veracruz Fasc. 72. Instituto de Ecología, A.C., México.
- Núñez-Camargo, M.C., Carrión, G., Núñez-Sánchez, A.E. 2003. Fungi associated with *Globodera rostochiensis* cysts in Mexico. International Journal of Nematology. 13:143-153.
- Núñez-Sánchez, A.E., Carrión, G., Núñez-Camargo, M.C., Rebolledo-Domínguez, O. 2003. Densidad de población de quistes de *Globodera rostochiensis* Woll. en el Cofre de Perote, Veracruz, Mexico. Revista Mexicana de Fitopatología. 21:207-213.
- Othman, A.A., Baldwin, J.G., Mundo-Ocampo, M. 1988. Comparative morphology of *Globodera*, *Cactodera*, and *Puntodera* ssp. (Heteroderidae) with scanning electron microscopy. Revue de Nématologie. 11:53-63.
- Pandey, R.K., Sinigh, S.R., Gupta, P.K., Goswami, B.K., Singh, D.V., Gharde, Y. 2011. Effect of different bioformulations of *Paecilomyces lilacinus* against root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) infecting tomato (*Solanum esculentum*). Indian Journal of Agricultural Sciences. 81:261-267.
- Peraza-Padilla, W., Orozco-Aveces, M., Esquivel-Hernández, A., Rivera-Coto, G., Chaverri-Fonseca, F. 2011. Aislamiento e identificación de hongos nematófagos nativos de zonas arroceras de Costa Rica. Agronomía Mesoamericana. 22:233-243.
- Perry, R.N., Beane, J. 1988. Effects of activate charcoal on hatching and infectivity of *Globodera rostochiensis* in pots test. Nématologie. 11:229-233.
- Samson, R.A. 1974. *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes. Studies in Mycology. 6:1-119.
- Stirling, G.R. 1991. Biological control of plant parasitic nematodes: Progress, problems and prospect. CAB International, UK.
- Stirling, G.R., Nicol, J., Reay, F. 2002. Advisory Services for Nematodes Pest Operational Guidelines. Biological Crop Protection Pty. Ltd., Australia.
- Sullivan, M.J., Inserra, R.N., Franco, J., Moreno-Leheudé, I., Greco, N. 2007. Nematodos quiste de la papa: sus hospedantes e impacto regulatorio. Nematropica. 37:193-201.
- Tedford, E.C., Jaffee, B.A. 1995. *In vitro* parasitism of *Rotylenchus robustus* by isolates of *Hirsutella rhossiliensis*. Journal of Nematology. 27:486-489.
- Turner, S.J. 1993. Simple preparation, soil extraction and laboratory facilities for the detection of potato cyst nematodos. In: Marks, R.J. and Brodie, B.B. (eds.). Potato Cyst Nematodos. Biology, Distribution and control. CAB Internacional, UK. pp. 75-90.
- Velvis, H., Kamp, P. 1995. Infection of second stage juveniles of potato cyst nematodes by the nematophagous fungus *Hirsutella rhossiliensis* in dutch potato fields.

- Nematological Transcription British Mycology Society. 68:467-469.
- Viaene, N.M., Abawi, G.S. 1998. Fungi parasitic on juveniles and egg masses of *Meloidogyne hapla* in organic soils from New York. Supplement to Journal of Nematology. 30:632-638.
- Wachira, P., Mibey, R., Okoth, S., Kimenju, J., Kiarie, J. 2009. Diversity of nematode destroying fungi in Taita Taveta, Kenya. Fungal Ecology. 2:60-65.
- Wachira, P. M., Okoth, S., Kimenju, J., Mibey, R.K., Kiarie, J. 2011. Effect of soil fertility management practices on nematode destroying fungi in Taita, Kenya. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 13:43-49.
- Whitehead, A.G. 1986. Chemical and integrate control of cyst nematodes. In: Lamberti, F. and Taylor, C.E. (eds.). Cyst Nematodes. Plenum Press, US. pp. 413-432.

*Submitted April 10, 2012 – Accepted July 16, 2012*  
*Revised received July 31, 2012*