UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA.
FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA.

CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMATODO AGALLADOR DEL TOMATE (*Solanum lycopersicum* L) UTILIZANDO HONGOS NEMATÓFAGOS EN CONDICIONES DE CAMPO.

Tesis de Grado previa a la obtención del Título de Ingeniera Agrónomo.

Autora:

Livia Anabel Rojas Vivanco

Director:

Dr. Ing. Tulio Fernando Solano Castillo. Mg. Sc.

Loja- Ecuador.
2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Ingeniero Agrónomo

Dr. Tulio Fernando Solano Castillo Mg.Sc.

DOCENTE DE LA CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICA

DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICO

Que el trabajo de investigación de tesis: CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMATODO AGALLADOR DEL TOMATE (*Solanum lycopersicum* L) UTILIZANDO HONGOS NEMATÓFAGOS EN CONDICIONES DE CAMPO, de la autoría de Livia Anabel Rojas Vivanco, Egresada de la Carrera de Ingeniería Agronómica, ha sido desarrollada bajo mi dirección, acorde con las actividades establecidas en el cronograma de ejecución del Proyecto aprobado y sujetándose a la rigurosidad científica y las normas de redacción técnica.

Por lo expuesto autorizo a la Autora indicada, la presentación del documento de tesis respectivo para que continúe con los trámites legales de graduación.

Loja, 17 de julio de 2017

Dr. Ing. Tulio Fernando Solano Castillo Mg.Sc.
DIRECTOR DE TESIS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

CERTIFICACIÓN TRIBUNAL DE GRADO

TESIS:

CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMATODO AGALLADOR DEL TOMATE (*Solanum lycopersicum* L) UTILIZANDO HONGOS NEMATÓFAGOS EN CONDICIONES DE CAMPO.

Presentada al Tribunal de Grado como requisito previo a la obtención del Título de:

INGENIERA AGRÓNOMO.

.....

Ing. Bolívar Cueva Cueva Mg.Sc.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

.....

Ing. Klever Chamba Caillagua.

VOCAL DEL TRIBUNAL

.....

Ing. Francisco Javier Guayllas Guayllas, Mg.Sc.

VOCAL DEL TRIBUNAL

AUTORÍA

Yo, **Livia Anabel Rojas Vivanco**, declaro ser autora del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autora: Livia Anabel Rojas Vivanco

Firma: .....
Cédula: 1105540072
Fecha: Loja, 17 de julio de 2017

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO

Yo, Livia Anabel Rojas Vivanco declaro ser autora de la tesis titulada "CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMATODO AGALLADOR DEL TOMATE *(Solanum lycopersicum* L) UTILIZANDO HONGOS NEMATÓFAGOS EN CANDICIONES DE CAMPO", como requisito para optar al grado de: **INGENIERA AGRÓNOMO**, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la reproducción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las Redes de Información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 17 días del mes de Julio del dos mil diecisiete, firma la autora.

Firma: _____

Autora: Livia Anabel Rojas Vivanco.

Número de Cédula: 1105540072

Dirección: Loja, La Argelia, Francisco de Caldas y Jumbolth.

Correo electrónico: anablrojas@gmail.com

Teléfono: 3031845

Celular: 0989199263

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de Tesis: Dr. Tulio Solano Castillo.

Tribunal de Grado:

Ing. Bolívar Cueva Cueva, Mg.Sc	PRESIDENTE
Ing. Klever Chamba Caillagua.	VOCAL
Ing. Francisco Javier Guayllas Guayllas, Mg.Sc.	VOCAL

AGRADECIMIENTO

Expreso mi agradecimiento profundo a todas las personas que hicieron posible el desarrollo y la culminación de mi investigación.

En especial al Dr. Tulio Solano Castillo, en calidad de Director de tesis, por su asesoría y apoyo constante durante el transcurso de elaboración, ejecución y redacción de la investigación, así mismo agradezco a la Ing. Jeamel Ruiz, técnica del Laboratorio de Sanidad Vegetal, por su contribución en el desarrollo de la investigación.

A mi Carrera Ingeniería Agronómica, a mis docentes por los conocimientos y experiencias impartidas y adquiridas en todos los años de estudio que son de significancia en mi vida.

A mi familia por ser el eje principal de inspiración y motivo de triunfar en la vida. A todos aquellos que hicieron posible este objetivo.

La Autora.

DEDICATORIA

Primeramente, a Dios por darme el regalo de la vida, y haber puesto en mi camino está oportunidad de llevar a cabo al feliz término de un objetivo más de mi vida.

A mí querida familia; en especial a mis padres ***Luz María*** *y* ***Ulfer Manuel****, quienes han sido un motor fundamental en este logro, agradecer por ser mi fuente de inspiración para seguir adelante, por sus consejos de perseverancia, confianza, apoyo y amor incondicional; A mis hermanos* ***Ulfer, María, Hipatia, Tabita*** *y a mi prima hermana* ***Ruth Alexandra*** *por su cariño sincero y apoyo.*

Como no dedicar este trabajo a la familia ***Peralta Sarango*** *por su ayuda y consejos de perseverancia.*

Amigos/as quienes compartieron experiencias y conocimientos en la realización de este trabajo y a los lectores que quieran seguir investigando nuevas alternativas de solución para los productores quieran ser parte de un desarrollo local y dar un aporte a la ciencia.

¡Gracias a todos ustedes!

Livia Anabel Rojas Vivanco.

ÍNDICE GENERAL

PORTADA..... i
CERTIFICADO ii
CERTIFICACIÓN TRIBUNAL DE GRADO iii
AUTORÍA..... iv
CARTA DE AUTORIZACIÓN v
AGRADECIMIENTO vi
DEDICATORIA vii
ÍNDICE GENERAL viii
Índice de Cuadros. xi
Índice de Figuras..... xi
Índice de Anexos..... xiii
RESUMEN. xv
SUMMARY..... xvi
1.INTRODUCCIÓN. 1
2.REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 3
2.1. IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE TOMATE 3
2.2. El nematodo agallador de raíces del tomate *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood..... 3
2.2.1. Clasificación taxonómica de *Meloidogyne incognita*. 3
2.2.2. Características morfológicas de *Meloidogyne incognita*. 4
2.2.3. Ciclo biológico y patológico..... 5
2.2.4. Distribución geográfica..... 6
2.2.5. Síntomas y rango de hospedero. 6
2.2.6. Técnica para aislamiento de larvas J_2..... 6
2.2.7. Técnica para aislamiento de huevos..... 7
2.3. MÉTODOS DE CONTROL DEL NEMATODO AGALLADOR..... 7
2.4. HONGOS NEMATÓFAGOS DE *Meloidogyne* spp,..... 9
2.4.1. *Pochonia chlamydosporia*..... 9

2.4.1.1. Clasificación taxonómica de *Pochonia chlamydosporia*. 9
2.4.1.2. Modo de acción *Pochonia* spp sobre huevos de *Meloidogyne* spp., y proliferación. .. 9
2.4.2. *Purpureocillium lilacinus* (*Paecilomyces* spp). 11
2.4.2.1. Clasificación taxonómica de *Purpureocillium* spp. 11
2.4.2.2. Características morfológicas del género *Purpureocillium* spp. 11
2.4.2.3. Modo de acción de *Purpureocillium lilacinus*. 12
2.5.3. *Trichoderma* spp. 13
2.5.3.1. Clasificación taxonómica de *Trichoderma*. 14
2.5.3.2. Características morfológicas del género *Trichoderma* spp. 14
2.5.3.3. Condiciones favorables para *Trichoderma* spp. 15
2.5.3.4. Mecanismos de parasitismo de *Trichoderma* sobre nematodos fitopatógenos. 17
2.6. Trabajos relacionados con el tema. 19
3. MATERIALES Y MÉTODOS. 24
3.1. MATERIALES 24
3.1.1. Materiales de laboratorio. 24
3.1.2. Materiales de campo. 24
3.2. METODOLOGÍA. 25
3.2.1. Metodología para el primer objetivo. 26
3.2.1.1. Fase de laboratorio. 26
3.2.1.2. Fase de Campo. 29
3.2.1.3. Análisis estadístico. 35
3.2.1.4. Prueba de Abbott (1925) corregida (Rojas y Solano, 2017) 35
3.2.2. Metodología para el segundo objetivo. 36
3.2.2.1. Correlación entre los niveles de efectividad de los aislados fúngicos y las variables agronómicas. 36
3.2.3. Metodología para el tercer objetivo. 37
3.2.3.1. Recaptura, cuantificación, parasitismo e identificación de los hongos nematófagos en muestras de suelo. 37
3.2.3.2. Recaptura, cuantificación, parasitismo e identificación de los hongos nematofagos de raíces agalladas. 38

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. 39
4.1. Efectividad de los aislados fúngicos, en el control biológico del nematodo agallador de las raíces del tomate en condiciones de campo. 39
4.1.1. Índice de agallamiento, población de nematodos en 100 cm^3 de suelo y población de nematodos por 10 g de raíz. 39
4.1.2. Altura, Biomasa foliar y Biomasa radicular en tomate. 42
4.1.3. Variables de Producción y rendimiento por hectárea 44
4.2. Correlación entre los niveles de efectividad de los aislados en el control biológico de *M. incognita* y las variables agronómicas. 45
4.2.1. Correlación entre los niveles de efectividad de los aislados de *Trichoderma* spp y las variables agronómicas. 45
4.2.2. Correlación entre los niveles de efectividad de los aislados de *Pochonia chlamydosporia* y las variables agronómicas. 46
4.2.3. Correlación entre los niveles de efectividad de los aislados de *Purpureocillium lilacinus* y las variables agronómicas. 48
4.3. Recaptura y evaluación de la capacidad de sobrevivencia y de parasitismo de los aislados fúngicos en condiciones in vitro. 49
4.3.1. Recaptura de *P. lilacinus*, *P. chlamydosporia* y de *Trichoderma* spp., en suelo. 49
4.3.2. Parasitismo de *P. lilacinus*, *P. chlamydosporia* y de *Trichoderma* spp en huevos y larvas J2 de *M incognita*. 50
5. CONCLUSIONES. 52
6. RECOMENDACIONES. 53
7. BIBLIOGRAFÍA. 54
8. ANEXOS. 64

Índice de Cuadros.

Cuadro 1. Códigos y procedencia de los aislados de mayor efectividad contra *Meloidogyne incognita* y testigo. Loja 2017…… 27

Cuadro 2. Concentración requerida para todos los Tratamientos. Loja, 2017…… 28

Cuadro 3. Plan de manejo integrado para el Cultivo de Tomate (*Solanum lycopersicum* L) Var. Caribe, después del trasplante……. 30

Cuadro 4. Tratamientos utilizados en el control del nematodo agallador del tomate de mesa, en condiciones de campo. Loja, 2017…….. 32

Cuadro 5. Correlación entre los niveles de efectividad de los aislados y las variables agronómicas…… 36

Cuadro 6. Efecto de los aislamientos en índice de agallamiento, población de *M. incognita* en 100 cm^3 de suelo y por 10 g de raíces. Loja, 2017……. 39

Cuadro 7. Efecto de aislamientos sobre altura, biomasa del follaje y biomasa de raíces en tomate, en condiciones de campo. Loja, 2017……. 42

Cuadro 8. Efecto de aislamientos fúngicos en la producción de tomate, en condiciones de campo. Loja, 2017……. 44

Cuadro 9. Correlación entre niveles de efectividad de *Trichoderma* spp y las variables agronómicas, en condiciones de campo. Loja, 2017…….. 45

Cuadro 10. Correlación entre niveles de efectividad de *Pochonia chlamydosporia* y las variables agronómicas, en condiciones de campo. Loja, 2017…….. 47

Cuadro 11. Correlación entre variables del aislado y agronómicas, en condiciones de campo. Loja, 2017…… 48

Cuadro 12. Unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de suelo a las 96 horas. Loja, 2017…… 49

Cuadro 13. Parasitismos en huevos y larvas J_2 de *M. incógnita*, por tratamientos de hongos nematófagos, en condiciones de campo. Loja. 2017…….. 50

Índice de Figuras

Figura 1. Mapa topográfico del sector donde se realizó el ensayo…… 25
Figura 2. Representación esquemática del diseño de bloques al azar con 12 tratamientos y cuatro réplicas…….. 33
Figura 3. Representación esquemática de la parcela experimental, con la distribución de plantas de tomate en cada tratamiento…… 33
Figura 4. Reactivación y masificación de los aislados fungicos. a) Siembra de las cepas de aislados fúngicos TIL15. b) sustrato de arroz colonizado. Loja, 2017…… 70
Figura 5. Preparación de semilleros para la fase de campo. a) preparación de semillero. b) plántulas de *Solanum lycopersicum* L. var. Caribe. Loja, 2017…… 71
Figura 6. Establecimiento del terreno en el ensayo en campo. a) Trazado del terreno del ensayo en campo. b) Aplicación del patógeno en el suelo en el ensayo de campo y c) mezcla de los hongos nematófago con M.O. Loja, 2017……. 71
Figura 7. Cultivo de tomate de dos meses de edad. CBFT-Z, cantón Paltas, Loja, 2017……. 72
Figura 8. Día de campo; socialización de resultados obtenidos en el ensayo realizado, en el CBFT-Z, cantón Paltas, Loja, 2017…….. 72
Figura 9. Parasitismos de larvas J_2 y huevos de *Meloidogyne incognita*. a) Parasitismo del aislado Pl-002 en J_2 de *Meloidogyne incognita.* b) Parasitismo del aislado Pch-002 en huevos de *Meloidogyne incognita*..……. 73

Índice de Anexos

Anexo 1. Escala de Bridge y Page, para el índice de agallas de *Meloidogyne* spp……..... 64
Anexo 2. Concentración requerida para todos los Tratamientos. Loja, 2017……... 65
Anexo 3.Cuadro del efecto de los aislados fúngicos sobre la formación de agallas por *M. incognita* en raíces de tomate en condiciones de campo. Loja, 2017…… 65
Anexo 4. Cuadro del efecto de los aislados fúngicos sobre población de J_2 en 10 g de raíces en *tomate*. Loja, 2017…… 66
Anexo 5. Cuadro del efecto de aislamientos de *Trichoderma* spp., sobre población de J_2 en 100 cc de suelo en condiciones de campo. Loja, 2017……. 66
Anexo 6. Cuadro del efecto de aislados fúngicos sobre la variable altura de plantas en tomate, en campo. Loja, 2017…… 67
Anexo 7. Cuadro del efecto de los aislados fúngicos, sobre la variable biomasa foliar de plantas en tomate, en campo. Loja, 2017…… 67
Anexo 8. Cuadro del efecto de aislados fúngicos sobre el peso de la biomasa radicular en plantas de tomate, en campo. Loja, 2017…….. 68
Anexo 9. Cuadro del efecto de aislamientos de los aislados fúngicos sobre la variable peso de frutos en plantas de tomate, en campo. Loja, 2017…….. 68
Anexo 10. Cuadro del efecto de aislados fúngicos sobre la variable parasitismo en huevos. Loja, 2017…….. 69
Anexo 11. Cuadro del efecto de aislados fúngicos sobre la variable parasitismo en J_2. Loja, 2017…….. 69
Anexo 12. Cuadro UFC de aislados fúngicos en condiciones de campo. Loja, 2017…….. 70
Anexo 13. Reactivación y masificación de los aislados fungicos…… 70
Anexo 14. Preparación de semilleros para la fase de campo…… 71
Anexo 15. Establecimiento del terreno en el ensayo en campo…… 71
Anexo 16. Establecimiento del ensayo en campo……. 72
Anexo 17. Socialización de resultados……. 72
Anexo 18. Parasitismos de larvas J_2 y huevos de *Meloidogyne incognita*..…… 73

CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMATODO AGALLADOR DEL TOMATE (*Solanum lycopersicum* L) UTILIZANDO HONGOS NEMATOFAGOS EN CONDICIONES DE CAMPO.

RESUMEN.

La investigación se realizó en dos fases: En el laboratorio de Sanidad Vegetal de la Universidad Nacional de Loja, previo al ensayo se procedió a la reactivación, masificación y determinación de inóculos; y, concluido el ensayo de campo, se procedió a la recaptura de los antagonistas, verificación taxonómica y pruebas de parasitismo sobre el nematodo en condiciones *in vitro*. La fase de campo en el Centro Binacional de Formación Técnica Zapotepamba (CBFT- Z) ubicado el valle de Casanga, cantón Paltas, provincia de Loja, Ecuador. El objetivo fue Seleccionar aislados de hongos nematófagos nativos de las especies *Purpureocillium lilacinus, Pochonia chlamydosporia* y *Trichoderma* spp., para el control biológico de nematodo agallador del tomate *Meloidogyne incógnita.* Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, con doce tratamientos y cuatro repeticiones. Los datos fueron procesados mediante análisis de varianza de clasificación simple (ADEVA) y las correspondientes pruebas de significación de Tukey 5%, para establecer diferencias entre tratamientos. Las variables del patógeno fueron transformadas a porcentajes utilizando la fórmula de Abbott (1925) corregida.

Los resultados evidenciaron reducciones significativas de los índices de agallamiento en los aislados de los géneros *Trichoderma* spp y *Paecilomyces* spp hasta grados promedios de 3,25 y 3,75 respectivamente, en la escala de diez grados de Bridge y Page (1980) con porcentajes de efectividad equivalentes a 63,9 y 58,4 en su orden, con diferencias significativas entre los asilados y el testigo; Estos niveles de eficacia se manifestaron positivamente en las variables agronómicas (altura, biomasa foliar y biomasa radicular) de la planta y sobre la producción que alcanzó 42,2 ton/ha. Los ensayos de recaptura y parasitismo *in vitro* de los aislados de hongos nematofagos después del ensayo de campo, permitieron determinar una gran variabilidad de supervivencia expresada en UFC por gramo de suelo y una gran variabilidad de porcentajes de parasitismo en J_2 y huevos, los cuales guardan relación con los niveles de efectividad en condiciones de campo; destacándose los aislados de *Purpureocillium lilacinum* (Pl-004) con un porcentaje de efectividad de 76.6% en suelo; mientras que, en raíces el asilado de *Trichoderma viride* (Tvir-C27) alcanzó una efectividad de 87.6%.

Palabras clave: Control biológico, *Meloidogyne incógnita*, Hongos nematófagos, tomate.

SUMMARY.

The research was carried out in two phases. In the laboratory of Vegetable Health of the National University of Loja, before the experimental bioasay was made the reactivation, massification and determination of the antagonistic inoculum; Once the field trial was completed, the antagonistic fungi were recaptured, taxonomic verification and parasitism tests were performed on the nematode, *in vitro* conditions bioasay. The field phase was carried out in the Binational Center of Technical Training Zapotepamba (CBFT-Z) located in the Casanga valley, canton Paltas, province of Loja, Ecuador.The objective was to select isolates of native nematophagous fungi of the species *Purpureocillium lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia* and *Trichoderma* spp., for the biological control of the root knot nematode *Meloidogyne incognita* in tomato crop. A randomized complete block design was used, with twelve treatments and four replicates. Data were processed using a simple classification variance analysis (ADEVA) and the Tukey 5% significance test, to establish differences between treatments. The pathogen variables were transformed to percentages using the corrected Abbott formula (1925).

The results showed significant reductions in gall indices in the isolates of the genus *Trichoderma* spp and *Paecilomyces* spp to average grades of 3.25 and 3.75, respectively, in the ten-degree scale of Bridge and Page (1980) with percentages of effectiveness equivalent to 63.9 and 58.4 in their order, with significant differences between the aisolates and the witness; These levels of efficacy produced positive response in the agronomic variables (height, leaf biomass, root biomass) and produced positive response on the production which reached 42,0 ton / ha. The *in vitro* recapture and parasitism tests of the nematophagous fungi isolates after the field trial allowed the determination of a great variability of survival expressed in CFU per gram of soil and a great variability of percentages of parasitism in J_2 and eggs, which keep relationship with levels of effectiveness in field conditions; the *Purpureocillium lilacinum* isolates (Pl-004) with a effectiveness of 76.6% in soil, and *Trichoderma viride* (Tvir-C27) were found effective at 87.6% in roots.

Key words: Biological control, *Meloidogyne incognita*, Mushroom nematophagus, tomato

1. INTRODUCCIÓN.

El tomate (*Solanum lycopersicum* L) es la hortaliza más utilizada en el mundo y dispone de muchas variedades comerciales. La mayor producción a nivel mundial se halla centrada en países como China, Estados Unidos, India, Turquía, Italia, Irak y México, los cuales dedican grandes superficies para este cultivo. En nuestro país es un cultivo de gran importancia económica y nutricional, consumida como producto fresco o utilizado como materia prima en la industria (Orna, 2009).

Las zonas más productoras de tomate riñón en el Ecuador, según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC, 2007) son Guayas con una producción de 1453 hectáreas, le siguen las provincias de Carchi con 917 hectáreas y Loja, con 710 hectáreas. La producción nacional en el 2015 alcanzó 68,38 t/ha, inferior a la producción media nacional del año 2014, debido a la reducción de áreas tradicionalmente productivas invadidas por plagas incluidos los nematodos agalladores (INEC, 2015).

El nematodo agallador de raíces *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood, es una de las plagas más importantes de cultivos agrícolas a nivel mundial, de acción endoparásita obligada con un rango de hospedantes alrededor de 3000 especies de plantas (Pino, 2010). Entre los enemigos naturales de este nematodo se mencionan las bacterias antagonistas como *Pasteuria penetrans* (Thorne) Sayre y Starr y los hongos nematófagos de los géneros *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams, *Arthrobotrys* spp., *Paecelomyces* spp., *Trichoderma* spp., *Fusarium* spp., y otros, con especies y cepas de acción específica en diferentes agro ecosistemas, que pueden ser aislados y caracterizados por su capacidad antagonista en las propias condiciones edafoclimáticas de las zonas productoras (Solano, 2014).

La investigación consistió en validar experimentalmente 11 aislados nativos de hongos nematofagos *Purpureocillium lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia* y *Trichoderma* spp para el

control del nematodo agallador a nivel de campo, en un arreglo de Diseño de bloques al azar con cuatro réplicas.

Las evaluaciones de los resultados, determinaron reducciones significativas de los índices de agallamiento en los aislados de los géneros *Trichoderma* spp y *Paecilomyces* spp hasta grados promedios de 3,25 y 3,75 respectivamente, en la escala de diez grados de Bridge y Page (1980) con porcentajes de efectividad equivalentes a 63,9 y 58,4 en su orden, con diferencias significativas entre los asilados y el testigo. Además, los niveles de eficacia incidieron favorablemente en un mejor comportamiento de las variables agronómicas y la producción que alcanzó 42,2ton/ha.

Este trabajo se ejecutó como un componente de la Línea de Investigación de la Carrera de Ingeniería Agronómica "Alternativas ecológicas para el manejo de plagas agrícolas" y "sistemas de producción agrícola sostenibles" (Carrera Ingeniería Agronómica, 2016) y la línea "Sistemas sostenibles de producción agropecuaria" de la Universidad Nacional de Loja (2016). La investigación se desarrolló en el Centro Binacional de Formación Técnica Zapotepamba (CBFT- Z) ubicado el valle de Casanga, cantón Paltas, provincia de Loja, Ecuador, durante el periodo abril 2016 a marzo 2017 bajo los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar la efectividad de 3 aislados de *Purpureocillium lilacinus*, 3 aislados de *Pochonia chlamydosporia* y 5 aislados de *Trichoderma* spp., en el control biológico del nematodo agallador de las raíces del tomate en condiciones de campo.

- Determinar la correlación entre los niveles de efectividad de los tratamientos (aislados) en el control biológico de *Meloidogyne incognita* y las variables agronómicas de las plantas de tomate a evaluarse.

- Recapturar los aislados fúngicos inoculados al suelo para la evaluación de su capacidad de sobrevivencia y de parasitismo en condiciones *in vitro.*

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE TOMATE

El cultivo de tomate riñón (*Solanum lycopersicum* L) con mayor demanda de producción en el mundo, debido a su gran aportación gastronómica y al alto grado de aceptación que tiene en las diferentes culturas, lo cual se evidencia por el hecho de que es el segundo producto hortícola en el consumo mundial (FAOSTAT, 2008).

Según FAOSTAT (2008). La producción de tomate es constantemente amenazada, debido a la gran cantidad de plagas, enfermedades y patógenos que afectan dicho cultivo. Estas enfermedades pueden ser causadas por insectos, bacterias, nematodos, virus u hongos, estos últimos de interés en el trabajo.

2.2. EL NEMATODO AGALLADOR DE RAÍCES DEL TOMATE *Meloidogyne incognita.*

Este género y sus especies son cosmopolitas y parásitos de muchas especies de plantas; tiene un rápido desarrollo y reproducción durante el ciclo del cultivo, lo que lo hace un nematodo que provoca graves daños. La hembra al alimentarse induce deformaciones típicas en la raíz llamadas agallas o nódulos debido a la modificación y crecimiento anormal de las células radicales (células gigantes), provocando diferentes grados de retraso en el crecimiento, perdida del vigor de la planta, además el tejido infectado es más susceptible de infección por otros patógenos (Perry *et al.*,2009).

2.2.1. Clasificación taxonómica de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood.

Agrios (2005), clasifica a *Meloidogyne* spp., de la siguiente manera:

Reino:	Nematoda
Orden:	Tylenchida
Suborden:	Tylenchina
Super familia:	Tylenchoidea
Familia:	Heteroderidae
Género:	*Meloidogyne*
Espec*ies:*	*M. incognita.*

2.2.2. Características morfológicas de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood.

Las hembras adultas del género Meloidogyne son de formas redondeadas a piriformes, blancas, sedentarias, con un cuello corto que se proyecta, no tiene fase de quiste, el extremo posterior la vulva y el ano están próximos, rodeados de un patrón cuticular característico "patrón perineal", que presenta diferencias en las distintas especies, los fasmidios se abren con forma de poro a cada lado del ano levemente elevados, la cutícula es gruesa y estriada, el estilete es delgado entre 12-15 μm, con nódulos basales pequeños, el poro excretor está por delante del bulbo medio con frecuencia cercano a la base del estilete, los ovarios son dos, prodélficos, convolutos, y las glándulas rectales son seis de tamaño grande y segregan una sustancia gelatinosa en la cual se depositan los huevos que no son retenidos dentro del cuerpo de la hembra (Williamson y Gleason , 2003) citado por Marín (2012).

El macho es vermiforme de hasta 2 mm de longitud con el extremo de la región posterior curvado, la cutícula es fuertemente estriada con campos laterales con cuatro estrías longitudinales, la región labial es redondeada, poco prominente con un disco labial marcado y pocas estrías de una a tres, los sectores laterales son más anchos que los submedianos asemejándose a "mejillas", el estilete es robusto de 18-25 μm., con nódulos basales grandes, las glándulas esofágicas están situadas principalmente en posición ventral, las espículas son delgadas generalmente entre 25-33 μm de longitud con el gubernaculo entre 7-11 μm de longitud, tiene un testículo o dos si hubo un desarrollo sexual revertido, la región posterior es redondeada con fasmidios como poros cerca de la abertura cloacal que es subterminal y no presentan bursa (Williamson y Gleason, 2003), citado por Marín (2012).

Los juveniles tienen diferente aspecto según el estadio. El J_1 tiene el término de la región posterior roma, realizando la muda dentro del huevo, la segunda y tercera muda se realiza dentro de la cutícula del J_2. El J_2 es vermiforme, posee capacidad migratoria, siendo el estado infectivo, el cuerpo es recto a arqueado en reposo, midiendo por lo general menos de 0,6 mm de longitud; la región anterior es generalmente redondeada con uno a cuatro estrías gruesas,

un disco labial diferenciado y una estructura levemente esclerotizada; los sectores laterales son más anchos que los submedianos; el estilete es delgado de menos de 20 μm de longitud; el poro excretor está por detrás del hemizónido; la región posterior tiene una porción hialina claramente visible, con la punta angosta e irregular en el contorno. El J3 es sedentario, hinchado y una región posterior corta y roma. El J_4 también es sedentario e hinchado, con el ano terminal (Williamson y Gleason, 2003) citado por Marín (2012).

2.2.3. Ciclo biológico y patológico.

El ciclo biológico de estos nematodos comienza en la fase de huevos, depositados por la hembra en una matriz gelatinosa compuesta por glicoproteínas, secretadas por glándulas rectales de la hembra; las masas de huevos se ubican en la superficie de las agallas pudiendo estar entre los tejidos y tiene propiedades antimicrobiales de protección contra el medio externo (Moens et al., 2009). La primera etapa larvaria (J_1) se desarrolla en el huevecillo, sufre la primera muda y en la segunda etapa larvaria (J_2) emerge del huevecillo.

El segundo estadio juvenil (J_2) es la fase infectiva; si está dentro de los tejidos, puede penetrar en los tejidos circundantes de la raíz o, por el contrario, migran al suelo en busca del hospedante, atraídos por emanaciones de CO_2 y aminoácidos provenientes de la zona de elongación de las raíces, captadas por órganos sensoriales denominados anfidias (Karssen y Moens, 2006) citados por Solano, (2014).

Los juveniles, una vez inmovilizados, pasan por una segunda, tercera y cuarta muda hasta alcanzar la fase adulta y madurez sexual en la cual se distingue como macho o hembra; durante la última muda los machos cambian su forma y abandonan la raíz; las hembras engrosan su cuerpo y provocan ruptura de tejidos quedando conectadas con su estilete al sitio de alimentación (Hunt *et al*., 2005; Karssen y Moens, 2006), citados por Solano (2014).

2.2.4. Distribución geográfica.

Los nematodos formadores de nódulos de la raíz se encuentran en todo el mundo, pero con mayor frecuencia y abundancia en regiones con clima templados, tropicales, subtropicales y mediterráneos (Agrios, 2005). En Ecuador *Meloidogyne* spp está distribuido en todos los estratos geográficos y *M. incógnita* es la especie más abundante con el 80 % de incidencia; las poblaciones se distribuyen desde 0 msnm hasta los 2 800 msnm (Revelo, 2002; Triviño, 2004).

2.2.5. Síntomas y rango de hospedero.

El síntoma más visible y de diagnóstico del nódulo de la raíz es la formación de agallas en las raíces secundarias que da nombre a la enfermedad. Masas de huevos de aproximadamente 0,5 a 1 mm de diámetro se encuentran en la superficie de las raíces con agallas, cuando se corta las agallas abiertas y maduras, las hembras aparecen como perlas blancas que a menudo son visibles en el tejido de la raíz. Las raíces infectadas son generalmente cortas y tienen pocas raíces laterales y pelos radicales (Ciancio, 2007).

Por ser cosmopolita *Meloidogyne* spp parasita raíces de tomate *Solanum lycopersicum* L, tomate de árbol *Solanum betacea* Sendt, fréjol *Phaseolus vulgaris* L, col *Brassica oleracea* L, papaya *Carica papaya* L., pimiento *Capsicum annuum* L., arveja *Pisum sativum* L., haba *Vicia faba* L., tabaco *Nicotiana tabacum* L., babaco *Vasconcellea* spp., banano *Musa* sp., alfalfa *Medicago sativa* L., guandul *Cajanus cajan* L., maíz *Zea mays* L., maní *Arachis hipogea* L., rosas de invernadero, varias clases de flores de verano, naranjilla *Solanum quitoense* Lam y muchas malezas (Carrillo, 2013).

2.2.6. Técnica para aislamiento de larvas J_2

Las raíces infectadas son lavadas y cortadas en pedazos de aproximadamente 5 mm de largo. Una porción de 5 gramos se coloca en una licuadora (homogenizador, mezclador) con 500 mL de agua. La licuadora se corre a baja velocidad por 15 segundos. La suspensión resultante es

pasada a través de un tamiz grueso (aberturas de 1 mm) y de uno fino (aberturas de 0,010 a 0,030 mm), y luego se lava profusamente Taylor y Sasser (1983).

2.2.7. Técnica para aislamiento de huevos

Se realizó el aislamiento de los hongos incorporados, a partir de muestras de masas de huevos extraídas de raíces agalladas de cada uno de los tratamientos, mediante la metodología Taylor y Sasser (1983), la cual consiste en seleccionar agallas bien conformadas y disectadas, de las cuales se extrajeron 120 masas de huevos por tratamiento con ayuda de agujas hipodérmicas y un bisturí bajo un estéreo microscopio, en un campo estéril. Las masas de huevos se colocaron en agua agarizada al 0,005 %, dentro de un tubo eppendorf, luego se procedió a liberar los huevos y estados juveniles J_1 mediante una maceración suave con ayuda de un émbolo metálico por un minuto. De la suspensión agua-nematodos, con una micro pipeta se tomaron alícuotas de 0,15 mL y se colocaron en cajas Petri con medio PDA, pH 6.0. Las cajas fueron incubadas a 28°C ±1°C.

2.3. Métodos de control del nematodo agallador.

De manera general, en la literatura científica se encuentra una gran variabilidad de estrategias de control, como las genéticas, químicas, físicas, culturales y biológicas.

Control químico, varios autores mencionan el uso de sustancias activas: Carbofurán (Furadán), Fenamiphos (Nemacur), Oxamyl (carbamato), Terbufos (organofosforado), Ethoprohos 9 (organofosforado), Dazomet (Basamid), Azadirachtina y el Bromuro de metilo (BM), productos que causan daños al ambiente, por el uso inadecuado además son muy costosos ((Nyczepir y Thomas, 2009; Haydock *et al*., 2006; Solano, 2014).

El Control cultural, consiste en el manejo de varias opciones como la utilización de cultivos trampa especialmente para nematodos agalladores de cultivos de ciclo corto; la solarización del suelo permite desinfectar y suprimir eficazmente la mayoría de las especies de nematodos

patógenos, los barbechos limpios de malas hierbas hospederas, así como la rotación con cultivos no hospedadores son en muchas ocasiones medidas efectivas de control nematológico, pues cuando la fuente de alimento desaparece, las poblaciones declinan gradualmente debido a su muerte por inanición (Talavera y Verdejo, 2015).

El uso de la biofumigación, consiste en la incorporación de materiales orgánicos al suelo, los cuales liberan compuestos químicos con acción desinfectante contra patógenos, insectos y nematodos, lo que parece deberse al incremento en las poblaciones de microorganismos antagonistas de y a los gases que se liberan durante el proceso de descomposición de la materia orgánica (Kirkegaard *et al.,* 2008; Talavera y Verdejo, 2015).

El uso de Plantas Alelopáticas, permite que estas liberen productos nematicidas al suelo, bien durante su crecimiento o bien como resultado de la descomposición de sus residuos, productos conocidos como aleloquímicos. Algunos ejemplos a citarse son: el sorgo cuyas raíces contienen un compuesto químico llamado dhurrin, que se degrada en cianuro de hidrógeno un nematicida poderoso; las brasicas, liberan en su proceso de descomposición los glucosinatos e isotiocianatos que elimina y disminuye la población de nematodos fitoparásitos presentes en suelo (Castro*, et al.,* 2011).

El Control biológico, con microorganismos naturales o modificados, para reducir los efectos de organismos patógenos, favoreciendo al mismo tiempo el desarrollo de los organismos útiles para el hombre, plantas y microorganismos beneficiosos. Para lograr el control biológico a través de microorganismos antagonistas de nematodos que reducen directamente las poblaciones del suelo mediante depredación, parasitismo o antibiosis como la bacteria P*asteuria penetrans,* los hongos *Paecilomyces lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia*, *Hirsutella rhossiliensis*, *Catenaria* spp. *Arthrobotrys*, *Monacrosporium;* así como el uso de microorganismos de protección biológica que dificultan la penetración, desarrollo y reproducción de los nematodos en las raíces como los hongos formadores de micorrizas

arbusculares o algunas bacterias inductoras de resistencia sistémica como *Bacillus*, *Pseudomonas* (Talavera y Verdejo, 2015).

2.4. HONGOS NEMATÓFAGOS DE *Meloidogyne* spp,.

2.4.1. Pochonia chlamydosporia.

El hongo nematófago *Pochonia chlamydo*spo*ria* (Goddard) Zare y Gams (ex *Verticillium chlamydo*spo*rium* Goddard), es un parásito facultativo de huevos de nematodos formadores de quistes y agallas, presentes comúnmente de forma natural como saprofítico en una gran diversidad de suelos y agro-ecosistemas de todo el mundo (Gams y Zare, 2001). Entre las especies más estudiadas por sus potencialidades como Agente controlador biológico ACB se señala *P. chlamydosporia*, con sus variedades *chlamydosporia* y *catenulata*.

2.4.1.1. Clasificación taxonómica de *Pochonia chlamydosporia.*

Gams y Zare (2001) informan la siguiente posición sistemática:

Reino: Fungi
Phylum: Deuteromycota
Clase: Hyphomydetes
Género: *Pochonia*
Especie: *P. Chlamydo*spo*ria.* (Goddard) Zare y Gams

2.4.1.2. Modo de acción *Pochonia* spp sobre huevos de *Meloidogyne* spp., y proliferación.

En observaciones realizadas por Seger *et al.,* (1996), sobre el proceso de infección de los huevos de *Meloidogyne* spp., demostraron que *P. chlamydo*spo*ria* forma una red de micelio en estrecho contacto con las masas gelatinosas (ootecas), produciéndose la penetración de los huevos a través de apresorios desarrollados al final de largas hifas o ramas laterales, donde se

desarrollan tubos de penetración extremadamente finos y cortos, los que, inmediatamente después que penetran la cutícula de los huevos, se ensanchan.

López-Llorca (1992), observaron que *P. chlamydo*sp*oria* parasita huevos de nematodos formadores de agallas y quistes, formando apresorios que se adhieren a la cubierta del huevo. La forma y número de apresorios y la extensión de su crecimiento sobre la superficie del huevo están determinados por el nematodo hospedante. Luego se produce la penetración de la cubierta del huevo y la digestión del contenido del mismo (Jansson y López - Llorca, 2004).

La penetración de la cutícula de los huevos de *Meloidogyne* spp., por *P. chlamydo*sp*oria* es producto de la acción conjunta de la presión física y la actividad enzimática de tipo hidrolítica específica, correspondiente a enzimas como esterasas, proteasas de tipo serina, quitinasas y lipasas; que tienen un papel importante en la degradación de cada una de las láminas que conforman la estructura y composición química de la capa externa de los huevos (Morton y Col, 2003; Peteira, 2004). Además, que *P. chlamydo*sp*oria* tiene la acción de producir metabolitos que frenan la acción de la eclosión de los huevos de nematodos.

Todos los estados de *P. chlamydo*sp*oria* ocurren en el suelo, las clamidosporas le permiten al hongo sobrevivir cuando el hospedante es escaso, hasta tres meses, mientras que la dispersión en el suelo producto del crecimiento de las hifas es muy limitada. No obstante, el hongo puede colonizar la rizosfera y proliferar en el suelo (Bourne, J.M. 1995), siendo más abundante en los orgánicos que en suelos minerales con temperatura de 22^{o}C (óptima para la esporulación *in vitro*), mientras que, después de una generación, la colonización de la rizosfera es mejor a temperaturas de 20^{o}C, 25 ^{o}C y 30 ^{o}C.

2.4.2. *Purpureocillium lilacinus* (*Paecilomyces* spp).

El género *Purpureocillium* presenta conidióforos ramificados, agrupados o irregulares, estos se encuentran en forma de cadena. Tiene un crecimiento rápido de sus hifas. Las colonias se desarrollan de 5 a 7 cm en 14 días a una temperatura de 25°C presentado un color lila. El rango óptimo de temperatura para su desarrollo va de los 26 a 30°C y un pH de 2 a 10 (Acosta, 2006).

2.4.2.1. Clasificación taxonómica de *Purpureocillium* spp.

Samson (1974), clasifica a *Purpureocillium* de la siguiente forma.

Reino: Fungi

Filo: Ascomycota

Orden: Eurotiales

Familia: Trichocomaceae

Género: *Purpureocillium*

Especie: *Purpureocillium lilacinus*. (Thorne) Sayre y Starr

2.4.2.2. Características morfológicas del género *Purpureocillium* spp.

El género *Purpureocillium* presenta hifas hialinas amarillentas septadas o sin septos, de paredes delgadas. La mayoría presenta ramificaciones verticiladas o irregularmente ramificadas, llevan en su parte terminal en cada rama grupos de fiálides, las cuales también pueden ser solitarias. Las fiálides constan de una porción basal cilíndrica o hinchada, adelgazándose abruptamente a menudo para formar un cuello muy notorio. Los conidióforos llevan cadenas de conidios; estos son hialinos unicelulares y de forma ovoide. (Bustillo, 2001).

Colonias en agar Czapek de crecimiento lento y limitado, alcanza un diámetro de 2.05, 2.5 a 3 cm en 7 días a 25^{o}C, con borde irregular. Colonias redondas blancas, algodonosas, con centro en relieve o colonias de superficie vellosa, aterciopeladas, con colores verdes (gris verdoso, verde claro, y verde oscuro) y lilas o purpura, el reverso de la colonia puede ser incoloro con

matices de color amarillo, no presenta exudación, también pueden presentar algunas especies exudaciones de color amarillo brillante, pueden presentar conidióforos tabicados de paredes lisas y ramificados en sus extremos triverticilado o cuatriverticilado, con métula usualmente cortas (6-8.0 x 2.5-3.0 um) y fiálides con el ápice puntiagudo de 5.0-6.0 x 2.0 um, de donde nacen los conidios lisos o equinulados, elipsoidales de 2.5-3.5 um, formando cadenas, sin ramificar, con aspecto característico de pincel (Bustillo, 2001).

También se pueden encontrar dependiendo de la especie conidióforos de paredes rugosas, hialinas que se dividen en dos ramas de las cuales se ven apresadas contra el eje y luego son levemente divergentes, producen cadenas cortas de conidios elípticos, 3.5-3.0 um, con los extremos puntiagudos, de paredes lisas. Presenta fiálides en grupos de 2 a 3, notablemente diferentes, 10-15 x 3.5-4.0 um con ápices relativamente largos y angostos (Arias y Piñeros, 2008).

2.4.2.3. Modo de acción de *Purpureocillium lilacinus.*

Mukhtar *et al.*, (2013) indican que las hifas de *P. lilacinus* penetran fácilmente la cáscara de los huevos de *M. arenaria*, los cuales una vez invadidos se hinchan como resultado de la alteración de permeabilidad de la pared y sufren una serie de cambios estructurales. Por su parte Brand *et al* (2004), señalan que la capa vitelina se divide en tres membranas separadas, la capa de quitina se torna vacuolada y la capa lipídica desaparece, provocando la destrucción del embrión. En la mayoría de los casos el hongo no sólo ataca las masas de huevos, sino también penetra en el cuerpo de las hembras adultas oviponentes y las destruye.

Kiewnick y Sikora (2005), indican que este hongo presenta varios mecanismos de acción, pero el principal está asociado al ataque en etapas sedentarias, en particular a los huevos de nematodos enquistados o sedentarios, produciendo leucinotoxinas, quitinasas, proteasas y ácido acético, compuestos directamente relacionados con el proceso de infección; se ha demostrado que *P. lilacinus* penetra directamente todos los estados del nematodo luego de la formación del apresorio. Después de la adhesión *P. lilacinus* forma un apresorio para adherirse a la superficie de acogida y lograr la penetración. Esta estructura libera enzimas, secretadas

para degradar los sustratos adyacentes con lo que establece un punto de infección mucho más estrecho y así lograr la penetración del huésped (Gunasekera *et al.,* 2002).

2.5.3. *Trichoderma* spp.

Es un género de hongos que se encuentran en los suelos de todas las zonas climáticas del mundo y son importantes descomponedores de materiales leñosos y herbáceos. Es un hongo invasor oportunista, que se caracteriza por su rápido crecimiento, por la capacidad de asimilar una amplia gama de sustratos y por la producción de una variedad de compuestos antimicrobianos. Algunas cepas han sido explotadas como ACB de patógenos, incluyendo hongos y nematodos, mediado por la producción de enzimas de degradación de la pared celular, como: celulasas, quitinasas, glucanasas, entre otras, y la producción de antibióticos. También, han sido usadas en biorremediación, por su capacidad de degradar hidrocarburos, compuestos clorofenólicos, polisacáridos y los plaguicidas, utilizados en la agricultura (Vinale *et al.* 2006). La rápida velocidad de crecimiento, esporulación abundante y rango amplio de sustratos sobre los que puede crecer, hace que sea muy eficiente como saprófito y cuando se usa como agente biológico (Martínez *et al.,* 2007).

Igualmente, se considera estimulador del crecimiento vegetal (Leandro *et al.,* 2007) e inductor de resistencia sistémica, debido a que modula o estimula algunas respuestas en la planta (Howell, 2006).

2.5.3.1. Clasificación taxonómica de *Trichoderma.*

Según Samuels (2005) el género *Trichoderma* spp, se clasifica de la siguiente manera:

Reino: Mycetae
División: Eumycota
Subdivisión: Ascomycotina
Clase: Euascomycetes
Orden: Hypocreales
Familia: Hypocraceae
Género: *Trichoderma e Hypocrea*

Especies: *T. aggressivum, H. andinensis, T. arundinaceum, T. a*sp*erellum, T. atroviride, T. aureoviride, T. brevicompactum, H. ceramica, T. citrinoviride, T. citrinoviridex, T. crassum, H. cremea, H. cunei*spo*ra, T. erinaceum, H. estonica, T. fasciculatum, T. fertile, T. gamsii, T. ghanense, T. hamatum, T. harzianum. T. koningii, T. koningiopsis, T. longibrachiatum, T. minuti*sp*orum, T. a*sp*erellum, H. neorufa, H. nigrovirens, T. oblongi*sp*orum, T. ovali*sp*orum, H. patella, T. pleuroticola, T. poly*sp*orum, T. pseudokoningii, T. pubescens, T. reesei, T. saturni*sp*orum, H. semiorbis, T.* sp*irale, H. stilbohypoxyli, T. strictipile, T. strigosum, T. stromaticum, H. surrotunda, T. tomentosum, T. virens, T. viride, T. viridescens (Samuels et al. 2010).*

2.5.3.2. Características morfológicas del género *Trichoderma* spp.

Las colonias de *Trichoderma* spp. en medio de cultivo, al principio son de color blanco y luego verdes u de otros tonos como verde-amarillo; algunas cepas presentan un olor a coco. Entre las características microscópicas de *Trichoderma* están: hifas septadas y produce conidióforos muy ramificados con un contorno cónico o piramidal, hialinos, rectos. Las estructuras en forma de botella llamadas fiálides se encuentran en la punta de los conidióforos, individuales o en grupos. Las fialosporas, también conocidas como conidias,

son producidas al final de las fiálides donde son acumuladas para formar una cabeza conidial, son hialinas, unicelulares, ovoides, globosas o subglobosas, elipsoides u oblongas, inferiores a 5 µm de diámetro. Las clamidosporas tienen forma globosa a subglobosa, terminales o intercalares de color verde, menores de 15 µm de diámetro; recién formadas pueden presentar más del 75 % de germinación cuando la humedad relativa sea superior al 75 % y la temperatura entre 28 y 30 °C (Barnett, 1960; Bourguignon, 2008; Memenza, 2009).

El teleomorfismo de *Trichoderma* es representado por especies del género ascomiceto *Hypocrea*, que se caracterizan por la formación de estromas gruesos en tonos de café claro u oscuro, amarillo o naranja. Típicamente el estroma es discoidal a pulvinado, limitado en extensión, pero en algunas especies el estroma es extendido cubriendo extensas áreas. Los estromas de algunas especies (género Podostroma) son clavados o de forma de corneta. Los peritecios son completamente sumergidos. Las ascosporas bicelulares pero desarticuladas por un tabique tan pronto se desarrollan en ascosporas parciales pareciera que el asca contiene 16 ascosporas. Las ascosporas son hialinas o verdes y comúnmente espinulosas. Más de 200 especies de *Hypocrea* han sido descritas, pero sólo unas pocas han crecido en cultivos puros y muy pocas han vuelto a ser descritas en términos modernos (Samuels *et al*., 2010).

2.5.3.3. Condiciones favorables para *Trichoderma* spp.

Trichoderma es un hongo anaerobio facultativo que se encuentra en suelos agrícolas y otro tipo de medios. Se puede desarrollarse en suelos con alto contenido de materia orgánica, restos de cosecha, sobre madera, donde exista abundante presencia de raíces o en sitios con predominio de hongos fitopatógenos, pudiéndose adaptar satisfactoriamente a condiciones climáticas extremas (Gams y Bissett, 1998).

El espectro de luz influye en el desarrollo de *Trichoderma*, fundamentalmente sobre la esporulación. Las colonias del hongo que se desarrollan bajo condiciones de luz alterna, son blancas y algodonosas al inicio y después tonadas concéntricas, alternando una banda delgada hialina con otra ancha de color verde oscuro, mientras que bajo luz continua son uniformes de color verde oscuro. La luz influye, además en la producción de metabolitos secundarios (Rodríguez *et al.,* 2013)

Es importante para que el hongo se desarrolle más rápido, un suelo posea un pH que oscile entre 5.0 a 6,5, es decir, que puede adaptarse a suelos más o menos ácidos, y que tenga la capacidad de tolerar a los químicos o al calor que se puede aplicar al suelo, para garantizar su sobrevivencia. El desarrollo de *Trichoderma* se activa con la presencia de la humedad, con óptimo de 60% de la capacidad de retención de humedad del suelo. A porcentajes mayores de saturación, la colonización y sobrevivencia disminuyen por baja disponibilidad de oxígeno (Rodríguez *et al.,* 2013).

Trichoderma puede estar influenciado por la temperatura del suelo en términos de su distribución mundial. *T. harzianum* generalmente es aislado de suelos cálidos mientras que *T. poly*s*porum y T. viride* se encuentran mayoritariamente en regiones temperadas- frías y *T. hamatum y T. koningii* están ampliamente distribuidas en áreas que poseen una diversidad climática. El rango de temperaturas en las que pueden crecer es bastante amplio; puede ser tan bajo como 0°C en el caso de *T. poly*s*porum* y tan alto como 40°C para *T. koningii*. Además de afectar el crecimiento de *Trichoderma* spp., la temperatura puede afectar también su actividad metabólica como la producción de antibióticos volátiles y enzimas (Bourguignon, 2008).

Esta capacidad de adaptación a diversas condiciones medioambientales y sustratos confiere a *Trichoderma* spp., la posibilidad de ser utilizado en diferentes suelos, cultivos, climas y procesos tecnológicos (Páez *et al.,* 2007).

2.5.3.4. Mecanismos de parasitismo de *Trichoderma* sobre nematodos fitopatógenos.

Los mecanismos de acción de los agentes del género *Trichoderma* son utilizados para el control de un amplio número de patógenos del suelo, dada su versatilidad, adaptabilidad y fácil manipulación. Se conoce varios mecanismos de parasitismo sobre nematodos según las especies de *Trichoderma*. Por ejemplo, la efectividad de *Trichoderma harzianum* en la disminución de los daños y control de poblaciones de *Meloidogyne* spp, puede afectar a los nematodos formadores de agallas de dos modos: parasitismo directo en juveniles de segundo estado y parasitismo en huevos, por acción de metabolitos tóxicos que produce.

Las especies nematófagas de *Trichoderma*, poseen la capacidad de envolver al nematodo en micelio, y produce metabolitos que actúan como nematicidas, tales como trichodermin, suzukacilina, alameticina, dermadina, entre otros (Rey *et al*. 2000; Howel, 2003; Pocasangre *et al.*, 2004). Los mecanismos de acción de biocontrol y la reacción con el patógeno son muchos y complejos. Son influenciados por el tipo de suelo, temperatura, pH y humedad de la planta y el ambiente del suelo, además por la presencia de otros microorganismos. Se conocen cuatro principales mecanismos de control biológico: antibiosis, competencia, parasitismo o lisis, resistencia inducida (Kaewchai *et al.,* 2009).

Antibiosis, consiste en la producción y liberación de sustancias químicas como metabolitos específicos y no específicos o antibióticos, ejerciendo un efecto adverso (inhibición o destrucción) sobre otros microorganismos. Los antibióticos tienen efecto sinergético cuando se combinan con varias enzimas degradativas de la pared celular produciendo una fuerte inhibición de muchos fitopatógenos, Kaewchai *et al.* (2009). *Trichoderma* spp. produce sustancias como: 6-pentil-α-pirona (6-PAP), trichordermina, dermadina, suzukacilina, alameticina, trichotoxina, acetaldehído, viridina, viridiol, gliovirina, gliotoxina y ácido heptelídico; así como las enzimas β-1,3 glucanasa, quitinasa y celulasa, las cuales facilitan la habilidad antagonista para atacar un amplio rango de patógenos ejerciendo su efecto sobre las paredes celulares (Infante *et al.*, 2009).

Competencia se presenta cuando el espacio y nutrientes son un factor limitante. La competencia puede dividirse en competencia saprófita por nutrientes en el suelo y la rizosfera, y competencia por sitios de infección sobre y dentro de la raíz Kaewchai (2009). La competencia por nutrientes puede ser por Nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina y pectinas, entre otros) y microelementos (Infante *et al.,* 2009). Las especies de *Trichoderma*, aplicadas al suelo o a las semillas, crecen fácilmente junto con el desarrollo del sistema radicular de la planta tratada. La competencia depende de las características del agente biocontrolador tales como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, así como de factores externos como el tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros (Howell, 2003; Infante *et al.,* 2009).

Adhesión mecanismo mediante el cual las hifas se adhieren al hospedante mediante la formación de estructuras similares a ganchos y apresorios (Infante *et al.* 2009). Inducen cambios morfológicos como el enrollamiento alrededor del hospedero, desarrollo de apresorios por parte de *Trichoderma* y productos de degradación de las paredes celulares como quitinasa. Además, las lectinas inducen el enrollamiento sólo al contacto físico, mientras que partes del sistema enzimático quitinolítico son inducidas antes del contacto directo entre *Trichoderma* y su hospedero (Infante *et al.,* 2009).

Además, se ha considerado la acción nematófaga de ciertas especies del genero *Trichoderma* tales como: T. harzianum, T. viride, T. atroviride, T. longibrachiatum y T. koningii, por la sustancias químicas que producen estas especies, tales como 6-pentil-α-pirona (6-PAP), trichordermina, dermadina, suzukacilina, alameticina, trichotoxina, acetaldehído, viridina, viridiol, gliovirina, gliotoxina y ácido heptelídico; así como las enzimas β-1,3 glucanasa, quitinasa y celulasa, las cuales ejercen acción lítica sobre las paredes cuticulares y celulares de los nematodos (Deacon 2006, Molina, 2006; Chet *et al.,* 2006).

2.6. TRABAJOS RELACIONADOS CON EL TEMA.

Regaieg y otros investigadores (2011), utilizaron tres cepas de *Verticillium leptobactrum* procedentes de masas de huevos de nematodos agalladores de *Meloidogyne spp*. y evaluaron el potencial del control biológico de hongos en la segunda etapa de juveniles (J2) y los huevos de *M. incognita*, in vitro demostraron que *V. leptobactrum* es un eficiente parásito de nematodo. En invernadero con plantas de tomate parasitadas por *M. incognita y M. javanica, V. leptobactrum* se comparó con los aislamientos de *Pochonia chlamydosporia* sp., *monacrosporium*. Con la introducción de los propágulos en suelos libres de nematodos o infestadas de forma natural se observó la mejora de crecimiento de las plantas con un aumento significativo de la longitud de raíces de tomate, el menor parasitismo se manifestó en J2 del suelo y masas de huevos. En un segundo ensayo con *M. javanica*, los tratamientos con tres *V. leptobactrum* aislados redujeron tanto las masas de huevos en las raíces, así como la densidad de J2 y el número de agalla.

Cruz (2007), evaluó para el control de *Meloidogyne sp.*, en el cultivo de okra americana (*Abelmoschus esculentus*) los tratamientos Micorrizas vesiculo arbuscular (VAM) 3 g al semillero y 30 g en el transplante, *Trichoderma harzianum* 3 × 1011 conidias en 240 g/ha, *Paecilomyces lilacinus* 8 × 1011 conidias en 240 g/ha, *Pochonia chlamydosporia* 3 × 109 clamidiosporas al transplante y Marigold (Tagetes erecta) sembrado en asocio dos plantas y el control al cual no se aplicó nada. Los tratamientos de *Paecilomyces lilacinus, Pochonia chlamydosporia, Trichoderma harzianum*, VAM y Tagetes erecta redujeron la población de *Meloidogyne spp*., en 78, 76, 41, 38 y 10%, respectivamente, mientras el control mostró un aumento en 33%. El promedio de altura en el tratamiento con Tagetes erecta fue menor por la alta competencia comparado con el resto de tratamientos. Se encontró un número menor de nódulos en el tratamiento de *Paecilomyces lilacinus, Pochonia chlamydosporia y Tagetes erecta*; las plantas con VAM, *Paecilomyces lilacinus y Pochonia chlamydosporia* obtuvieron el mayor peso de materia seca de raíces y mayor producción por hectárea.

Solano *et al*., (2014), determinan el efecto de varios aislamientos autóctonos de los hongos *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams (Hypocreales: Clavicipitaceae) y *Purpureocillium lilacinum* Luansa-ard et al. (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae) en el control de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood, en tomate, en condiciones de campo. Se utilizaron seis aislamientos fúngicos y un control sin aplicación, distribuidos según un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas. Las aplicaciones de los hongos lograron reducir el índice de agallamiento por *M. incognita*, así como las poblaciones de juveniles infestivos (J2) en el suelo y en las raíces del cultivo, a la vez que se observó un estímulo en las variables agronómicas número de frutos, masa de los frutos y rendimiento agrícola.

Romero (2004), al probar el hongo *Paecilomyces lilacinus* contra *Meloidogyne* spp. en plantas de pepino, en aplicaciones de *P. lilacinus* en siembra, al trasplante, siembra/trasplante, a los 10 días del trasplante, siembra/10 días del trasplante, trasplante/10 días del trasplante, el testigo químico con Oxamyl y el testigo absoluto que no recibió ninguna aplicación, dando como resultados la menor cantidad de nódulos en los tratamientos con Oxamyl, *P. lilacinus* en siembra/trasplante, siembra/10 días del trasplante y al trasplante/10 días del trasplante; con este último también se obtuvo mayor longitud de raíces en comparación con el testigo absoluto y aplicación de *P. lilacinus* a los 10 días del trasplante; con Oxamyl se controló 86% de *Meloidogyne* y las aplicaciones de *P. lilacinus* que tuvo mejor control fue en siembra y trasplante (74%).

Téllez *et al.,* (2015), al evaluar el efecto del nematodo sobre el crecimiento y rendimiento de la planta de chile criollo y conocer la capacidad reproductiva del nematodo en este genotipo. Se aplicó primero el inóculo del nematodo (3,000 huevecillos maceta-1); después, se aplicaron los productos comerciales NEMAQUIM y NEMAGRO, a los 27, 42 y 57 d.d.s. La cosecha y culminación del experimento se efectuaron a los 123 d.d.s. Las variables de estudio fueron altura de la planta, volumen de la raíz fresca y peso de la raíz seca. Se realizó el análisis de varianza y la prueba de Tukey. La población del nematodo *M. incógnita* provocó decrementos en la altura (10%), y el control con Nemaquin (*P. varotii*) favoreció incrementos en altura de

la planta y volumen de la raíz. Los tratamientos presentaron diferencias estadísticas en altura, peso de follaje fresco y volumen de la raíz.

Hernández- Ochandia, *et al.*, (2015) determinaron el potencial de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg como agente de control biológico de *Meloidogyne incógnita* (Kofoid y White) Chitwood. Para el estudio en condiciones semicontroladas, las plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) se inocularon con 2,5 juveniles de segundo estadio (J2) por gramo de suelo y a las 72 horas se adicionó inóculo de la cepa Ta.90; se aplicó 107 UCF por maceta. Los tratamientos fueron: plantas sanas (control absoluto), plantas + Ta .90; plantas +Ta .90 + nematodos, plantas + nematodo y nematodos + Ta .90 (sin plantas). A los 35 días se evaluaron los parámetros: Índice de Agallamiento (IA), número de huevos del nematodo por sistema radical, altura de planta, diámetro del tallo, longitud de la raíz, número de hojas y masa fresca de raíz. Los filtrados de las cepas de *T. asperellum* causaron altos niveles de mortalidad y sobresalió la cepa Ta .90 con 90% de mortalidad a las 24 horas. En macetas, dicha cepa provocó una disminución en el número de huevos por hembras, lo que difiere significativamente del testigo sin aplicar y atenuó el efecto del nematodo sobre los parámetros: altura, diámetro del tallo, número de hojas y masa fresca aérea.

Vargas *et al.*, (2015), seleccionaron una plantación comercial infestada con nematodos y sembrada con el cultivar Grande Naine. Se usó un diseño de bloques completos al azar con 6 repeticiones. De cada cepa se realizaron aplicaciones mensuales a 1* 109 ufc.ml -1 durante 20 meses. No se redujeron las poblaciones de nematodos en las plantas tratadas con la cepa UNA de *P. lilacinus* y de *Trichoderma* spp. Sin embargo, las plantas tratadas con estas cepas mostraron mayor peso del racimo (p=0,0375) y circunferencia (p=0,0402) de la planta madre, respecto a las plantas sin esa aplicación.

Arévalo *et al*., (2012), en plantaciones de guayaba (*Psidium guajava* L.), evaluaron las actividades saprofítica y patogénica de tres cepas de *P. chlamydosporia* frente a *M. enterolobii,* en una sucesión de cultivos tomate (*Solanum lycopersicum*L.)- lechuga (*Lactuca sativa* L.). Al

finalizar el ciclo de los cultivos, 6 meses después de la aplicación, se comprobó que la colonización de *P. chlamydosporia* se mantuvo en el orden de 10^4UFC.g-1de suelo y mayor de 10^3UFC.g-1en las raíces. El porcentaje de colonización de estos hongos sobre las masas de huevos fue superior al 60% en todos los tratamientos, mientras que los porcentajes de parasitismo de huevos estuvieron entre 45 y 55%.

Sánchez de Prato *et al*., (2016) realizaron estudios sobre la efectividad del *Trichoderma harzianum* como biocontrolador en base al estado fitosanitario del cultivo de café (*coffea arábica,* L.) en la fase de vivero, evaluándose la infestación causada por los nematodos. Se utilizaron plántulas en bolsas con sustrato de mezcla 2 partes de tierra, 1 de materia orgánica y 1 de arena, realizando aplicaciones con *Trichoderma harzianum* con tres concentraciones de conidias. Se concluye que la aplicación con el tratamiento T7 = sustrato solo + *Trichoderma* de 1 x1027ufc/ml. Erradicó en un 100% los nematodos de los géneros *Meloidogyne* spp y *pratylenchus* spp., y en cuanto al desarrollo agroproductivo de las plántulas de café en la fase de vivero el tratamiento T-4:plántula + *Trichoderma* de 1 x 1027ufc/ml, es el que propicia el crecimiento, desarrollo de las plántulas y el control de los nematodos fitopatógenos de forma adecuada.

Gortari y Roque (2016), en su trabajo de investigación plantearon los siguientes objetivos: 1) La producción de conidias de *P. lilacinum* LPSC # 876 cultivado sobre diferentes sustratos sólidos con varias relaciones C/N, y 2) El efecto de algunos productos fermentados conteniendo conidias de *P. lilacinum* sobre la población de *N. aberrans* en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. platense cultivadas en maceta en invernáculo. Las plantas inoculadas con conidias producidas en afrecho de arroz y residuo de gírgola mostraron la menor cantidad de agallas, de masas de huevos y de huevos por masa de huevos. Sin embargo, no se evidenció una actividad antagónica concluyente sobre el nematodo. El afrecho de arroz provee los nutrientes necesarios para una buena producción de conidias de *P. lilacinum* aunque su combinación con residuo de gírgola mejora la producción. Es necesario rediseñar las estrategias experimentales para demostrar el antagonismo de *P. lilacinum* hacia *N. aberrans.*

Acevedo (2015), evaluó la aplicación de dos agentes de control biológico sobre nematodos asociados al cultivo de melón, las variables de respuesta fueron: poblaciones al inicio y al final del estudio en suelo y raíz por género de nematodo encontrado, daño de raíz y rendimiento exportable de melón. Los datos se analizaron utilizando análisis de covarianza y pruebas de medias al 5% de significancia. Como resultado se obtuvo que los géneros identificados en el estudio fueron: *Helicotylenchus* y *Rotylenchulus.* Se logró determinar que las poblaciones de estos géneros varían de acuerdo a las dosificaciones que se utilicen, mas no con el agente de control biológico. No se observaron géneros de nematodos en raíz, el daño fue por la colonización de *Monosporascus cannonballus.* Los tratamientos con *T. harzianum* presentaron mayores rendimientos de melón exportable.

Ceiro (2013), determinó la tolerancia in vitro a diferentes niveles de cloruro de sodio de la cepa IMI SD 187 del hongo nematófago *Pochonia chlamydosporia* var. *Catenulata* (Kamyschko ex Barron y Onions) Zare y W. Gams. La relación entre la inhibición de la germinación de clamidosporas, conidios y los diferentes niveles de estrés salino fueron analizados a través de regresión lineal. Las clamidosporas fueron más tolerantes que los conidios, con inhibición de 50% de la germinación a13dS.m-1 y 12dS.m-1, respectivamente. A partir de los resultados, se deben realizar otros estudios para determinar la efectividad de *P. chlamydosporia* var. *catenulata* como agente de control biológico de *Meloidogyne* spp., en suelos salinos, con el fin de recomendar la utilización integrada del hongo en los paquetes tecnológicos de producción, en agroecosistemas que tengan problemas de salinidad.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. MATERIALES

3.1.1. Materiales de laboratorio.

- **Materiales:** Cajas de Petri, erlenmeyer, lámparas de alcohol, pipeta graduada, porta y cubre objetos, siracusas, tubos de ensayo, varilla de agitación, vasos de precipitación de 100, 500 y 1000 mL, aza de siembra, agujas hipodérmicas, agujas quirúrgica, pinzas, bandejas plásticas, bisturí, platos calados, puntas de micropipeta, saca bocados, fundas de polifan termoresistentes, fundas plásticas transparentes, jeringas de 1, 5 y 10 mL, parafilm, pipetas Pasteur, probetas graduada, tubos para microcentrífuga, envases de plástico, algodón, franela, lienzo, pañuelos faciales, papel filtro.

- **Medios de cultivo y otros reactivos:** AA (agar y agua), AAA (agar, agua y antibióticos), arroz cocido y esterilizado, CMA (Agar harina de maíz), PDA (papa, dextrosa y agar), PDAA (papa, dextrosa, agar y antibióticos), ácido láctico 40%, azul de metileno 1%, eosina al 10%, fucsina ácida 1 %, alcohol potable e industrial, hipoclorito de sodio 1%, antibióticos (cloranfenicol, tetraciclina, estreptomicina al 0,05%), contador manual de unidades, cámara de Neubauer, micropipeta de 100-1000 µl, micropipeta de 10-100 µl, tamices nematológicos (N^{o} 60, 120 y 400), tween 80.

- **Equipos:** Agitador magnético tipo vórtice, autoclave, balanza digital de 0,0001g de precisión, baño de María, cámara de flujo laminar, cámara digital, centrífuga, destilador de agua, estéreo microscopios, incubadoras.

3.1.2. Materiales de campo.

Semillas de tomate Var. Caribe, sustrato 2:1 (Humus y turba), esterilizadora de sustrato, regaderas, etiquetas, vasos platicos de 150ml, materiales para tutoraje (alambre, hilo, carrizos

y postes), espantapájaros, podadoras, navajas, trasplantadoras, abonos foliares (raizal, K-FOL), gavetas, etiquetas, cinta métrica, herramientas de labranza, cámara digital.

3.2. METODOLOGÍA.

La primera fase de la investigación se desarrolló en el laboratorio de Sanidad Vegetal, donde se reactivaron y multiplicaron los aislados de los hongos nematofagos *Purpureocillium lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia* y *Trichoderma* spp., y la preparación de las concentraciones de los inóculos fúngicos y de los nematodos. La segunda fase se desarrolló en condiciones de campo, en un terreno del Centro de Formación Técnica Zapotepamba (CFT-Z) perteneciente a la Universidad Nacional de Loja, ubicado en la parroquia Casanga, cantón Paltas, provincia de Loja, con una altitud de 940 msnm.

El CFT-Z está ubicado en las siguientes coordenadas geográficas:

Coordenadas x: 9 555 898 UTM–UTM

Coordenadas y: 636 082UTM –UTM

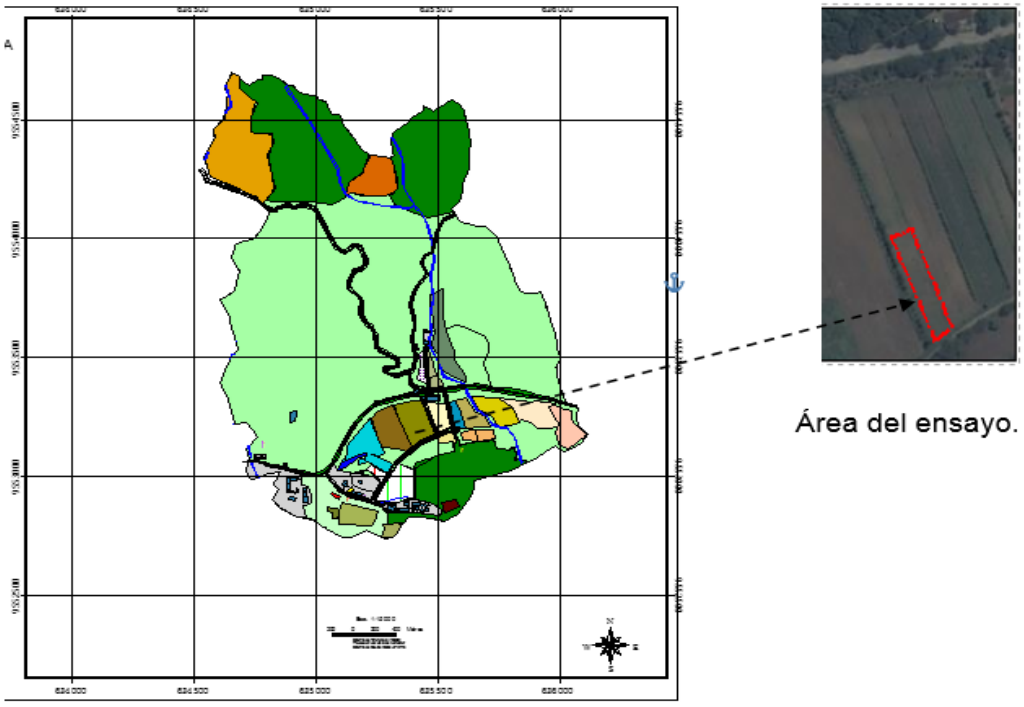


Figura 1. Mapa topográfico del sector donde se realizó el ensayo.

Las características climáticas de la zona de estudio corresponden a un clima cálido seco, temperatura que oscila entre los 21° a 37°C y una precipitación de 660mm/año aproximadamente (Chamba, 2016; Plan Estratégico del Centro Binacional de Formación Técnica, Zapotepamba, 2010- 2014). Según Holdridge (1967), el CBFT-Z se clasifica como Bosque seco tropical (BsT).

3.2.1. Metodología para el primer objetivo.

"Evaluar la efectividad de 3 aislados de *Purpureocillium lilacinus*, 3 aislados de *Pochonia chlamydosporia* y 5 aislados de *Trichoderma* spp., en el control biológico del nematodo agallador de las raíces del tomate en condiciones de campo".

3.2.1.1. Fase de laboratorio.

1) **Reactivación de los aislados de *Purpureocillium lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia y* de *Trichoderma* spp.**

Consistió en repicar los 11 aislados seleccionados previamente que se encontraron almacenadas en el laboratorio de Sanidad Vegetal las cuales se describen en el cuadro 1, en medio de cultivo PDA (papa 200 g, Dextrosa 20 g y Agar 18 g, 1000 mLde agua destilada), luego se sembró en discos de 2 cm de diámetro y se incubo a 28°C por 7 días, para recuperar la fisiología del hongo con el crecimiento en todo el contorno de la caja. Anexo 12, Fig. 4.

Cuadro 1. Códigos y procedencia de los aislados de mayor efectividad contra *Meloidogyne incognita* y testigo. Loja 2017.

Tratamientos	Aislado	Código	Procedencia
1	TlL15	LC1	La capilla- Catamayo.
2	TatrL16	LC3	La capilla- Catamayo.
3	TkT19	ET_2	El tambo - Catamayo.
4	ThLE26	LE_1	La Era-Catamayo.
5	TvirC27	ETM_4.5e	Malacatos
6	Pch-001	Pch-001	Taquil-Loja.
7	Pch-002	Pch-002	El tambo –Catamayo.
8	NZO2(s)V	NZO2(s)V	Nangaritza - Z. Chinchipe.
9	Pl-001	Pl-001	Trapichillo- Catamayo.
10	Pl-002	Pl-002	El Tambo- Catamayo.
11	Pl-004	Pl-004	Trapichillo- Catamayo.
12	Testigo	-	-

2) Masificación de *P. lilacinus*, *P. chlamydosporia* y de *Trichoderma* spp., para obtención de inóculo.

La masificación de los aislamientos se realizó en un sustrato de arroz pre-cocido en baño maría por 20 minutos, se colocó 300g de arroz precocido en fundas termoresistentes de **polipropileno** (polifán) 10 fundas de arroz con un peso de 300g para cada aislamiento, se esterilizo en autoclave a 121°C de temperatura y 15 lb/pulg^2 de presión por 45 min. Luego de esterilizado el sustrato se ajustó a pH 6.0 con ácido láctico (1mL/300g), en un campo estéril. Se inoculo el sustrato con los aislados del Cuadro 1 y se incubaron a 28°C, hasta lograr la colonización completa del arroz por un periodo aproximado de 21 días. Una vez colonizado el sustrato se procedió al secado a la cuantificación conidial, que fue aplicada en cada uno de los tratamientos en el campo. Anexo 12, Fig. 4.

3) Secado de los sustratos colonizados.

Los sustratos colonizados se mezclaron y desecaron a temperatura ambiente en bandejas plásticas cubiertas con papel periódico estéril, por una semana dentro de un invernadero, con remoción diaria del sustrato. El sustrato desecado se recogió en fundas de polipropileno se etiquetaron y se conservaron al ambiente en un lugar sombreado y seco hasta su utilización.

4) <u>Cuantificación y preparación de concentraciones conidiales de los aislamientos.</u>

Se prepararon suspensiones conidiales de cada tratamiento con 1g de sustrato colonizado desecado, en volúmenes de agua conocidos, en vasos de precipitación se agregó Tween 80 al 0,05% para homogenizar la suspensión de esporas. El conteo de las conidias se lo hizo en una alícuota de 0.02 ml de la suspensión, en la cámara de Neubauer con ayuda de un microscopio Olympus CX21. La concentración de inóculo se calculó mediante la ecuación referida por French y Hebert (1982), conocida la concentración de esporas por gramo de inóculo, se calculó la cantidad de sustrato necesario para garantizar una concentración de 2 x 10^9 esporas/planta. La concentración deseada se estimó mediante la fórmula siguiente:

$$\text{Concentración deseada} = \frac{\text{Peso de sustrato x Concentración deseada}}{\text{Conidias por gramo}}$$

Donde:

Peso de sustrato: 1g de sustrato pesado

Concentración deseada: 2 x 10^{10}

Conidias/g: Cantidad obtenida de la cuantificación.

Cuadro 2. Concentración requerida para todos los Tratamientos. Loja, 2017.

Aislados	Concentración Requerida	Sustrato/ planta (g)	Peso de sustrato (g)
TlL15	2x10 ^{9} esporas/mL *T. longibrachiatun*	8,3	697 g/tratamiento/inoculación.
TatrL1	2x10 ^{9} esporas/mL *T. atroviride*	9,04	759 g/tratamiento/inoculación
TkT19	2x10 ^{9} esporas/ mL *T. koningii*	6,05	508,2 g/tratamiento/inoculación
ThLE2	2x10 ^{9} esporas/ mL *T. harzianum*	8,8	739,3 g/tratamiento/inoculación
TvirC2	2x10 ^{9} esporas/ mL *T. viride*	7,05	592,5 g/tratamiento/inoculación
Pch-	2x10 ^{9} esporas/ mL *Pochonia* spp	5,05	420 g/tratamiento/inoculación.
Pch-	2x10 ^{9} esporas/ mL *Pochonia* spp	6,3	529,2 g/tratamiento/inoculación.
NZO2(	2x10 ^{9} esporas/ mL *Pochonia* spp	8,6	722,4 g/tratamiento/inoculación.
Pl-001	2x10 ^{9} esporas/ mL *Purpureocillium*	8,3	697,2 g/tratamiento/inoculación
Pl-002	2x10 ^{9} esporas/ mL *Purpureocillium*	7,95	667,8 g/tratamiento/inoculación
Pl-004	2x10 ^{9} esporas/ mL *Purpureocillium*	9,49	797,2 g/tratamiento/inoculación.
Testigo	*Solo nematodos.*	*Solo nematodos.*	*Solo nematodos.*

5) Incorporación de los inóculos fúngicos al suelo.

Se pesó la cantidad de inóculo determinada para cada tratamiento (Cuadro 2) La incorporación del inoculo al suelo se hizo en mezcla con humus en una relación de 200g/planta, en forma localizada, según la distribución del diseño experimental. Se hicieron tres inoculaciones, una al momento del trasplante, la segunda inoculación 21días después del trasplante y la tercera inoculación 42 días después del trasplante.

6) Obtención del inóculo de *Meloidogyne incognita*.

El inoculo del nematodo se obtuvo de raíces agalladas de plantas de tomate en fase final de las zonas productoras de cantón Catamayo, se seleccionaron agallas de mayor tamaño sin síntomas de pudrición. Las agallas fueron procesadas aplicando la metodología de Taylor y Sasser (1983), se lavó y desinfectó con hipoclorito de sodio al 1 %, por sumersión de 2 a 3 minutos, se realizaron enjuagues con agua destilada. Se pesó 10g de agallas las cuales fueron licuadas por 30 segundos a una velocidad mínima, luego se procedió a la recuperación de los nematodos en volúmenes de agua conocidos, utilizando los tamices nematológicos de Taylor (1971) número 100- 250 y 400u. Se cuantificaron estados juveniles y adultos, en 10 alícuotas de 2mL y el promedio se relacionó mediante regla de tres simple al volumen de agua recogido.

3.2.1.2. Fase de Campo.

1) Preparación de semilleros.

Se realizó en vasos de plástico de 200mL, colocando 2 semillas tomate var. Caribe por vaso que contenía sustrato turba enriquecida con nutrientes y humus esterilizado, los cuales se colocaron en condiciones de invernadero hasta la conformación de plántulas de cuatro semanas y se garantizó condiciones adecuadas de humedad y manejo fitosanitario. Anexo 13, Fig. 5.

2) Preparación del suelo.

La preparación del suelo para el área de ensayo consistió en labores de arado utilizando un tractor agrícola acoplado con arado de discos, rastrillado hasta garantizar la desagregación del suelo, eliminación manual de piedras, terrones; nivelación del suelo, delimitación de parcelas y réplicas según el diseño experimental, adecuación de surcos, incorporación de materia orgánica localizada en una relación de 200g/planta en tres momentos cada 21 días. Además, se instaló el sistema de riego por goteo en el área del ensayo. Se diseñaron parcelas experimentales de 17.5 metros cuadrados, en un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones. Anexo 14, Fig. 6.

3) Incorporación de inóculos de nematodos y hongos al suelo.

Primero se procedió a inocular en el suelo *Meloidogyne incognita*, 2366 nematodos por hoyo, luego se incorporaron los inóculos de hongos nematofagos en dosis de $2x10^9$ en mezcla con materia orgánica (200g/planta). Las inoculaciones de los aislamientos fúngicos se hicieron una al momento del trasplante, segunda inoculación a la tercera semana después del trasplante (21días) y la tercera inoculación a la sexta semana después del trasplante (42 días). Anexo 14, Fig. 6.

4) Manejo del cultivo.

El manejo agro técnico y fitosanitario del cultivo se detalla en el siguiente cuadro.

Cuadro 3. Plan de manejo integrado para el Cultivo de Tomate (*Solanum lycopersicum* L) Var. Caribe, después del trasplante.

Actividad.	Descripción de las actividades.
Fertilización.	Después del trasplante se realizó una incorporación de fertilización foliar completa con macro y micro nutrientes, se utilizó FOLIKEL (4N-16P-40K) y FOLIKEL (16N-P-K) dosis de 80 g/20 L. Fertilización orgánica con humus 200 gr por planta por momentos: al momento de la siembra, 21 días después de la siembra y 42 días después de la siembra.
Riego.	Se aplicó riego por goteo, dos veces al día los primeros ocho días después del trasplante. Posteriormente un riego por día, en horas de menor insolación, para garantizar una humedad a capacidad de campo.
Tutoreo.	Se lo realizó cuando la planta alcanzó una altura de 0,25 m a 0,30 m, se plantó estacas de faique (material de la zona) inmediatamente después del trasplante, distancia entre estacas 1 m y entre hileras 5.50m, se templó alambre galvanizado (0.2mm de diámetro) sujetado con carrizo y se procedió alzar las plantas con la utilización de hilo de tutoraje. Con el pasar del tiempo se hizo revisiones constantes para ir aflojando el hilo de tutoraje y así no se produzca lesiones en las plantas.
Aporque.	Se realizaron dos aporques, uno a los 21 días con segunda inoculación de los hongos y a los 42 días con la tercera inoculación de los hongos, que consistió en acumular una capa de suelo de 10 cm aproximadamente de profundidad alrededor de la rizosfera.
Control de plagas y enfermedades	En la fase de pre floración se presentaron plagas como la diabrotica (*Diabrotica undecimpunctata*) y en la fase de fructificación se presentó el gusano pasador del fruto (*Neoleucinodes elegantalis*), liendrilla /negrilla (*Prodiplosis longifila*). Las cuales se controlaron aplicando extractos botánicos de hojas y semillas de neem en dosis de 100ml/20Lt cada 8 días. Pájaros como periquillos verdes y charros, los cuales fueron ahuyentados con trampas espantapájaros.
Control de malas hiervas.	El control de malas hierbas se realizó en forma manual utilizando lampas cuando las malezas tenían de tres a cuatro hojas, se realizaron cinco deshierbas.
Podas.	Se realizaron podas de formación a las tres semanas después de la siembra para orientar el crecimiento de la planta en un solo eje de producción, consistió en quitar brotes o "chupones" de la base de la planta. De igual manera se realizaron podas fitosanitarias que consistieron en eliminar ramas bajeras, ramas internas, hojas senescentes, hojas y frutos afectados por plagas y enfermedades. Los cuales se recogieron y enterraron en un sitio fuera del área del ensayo.
Cosecha, embalaje y comercialización.	La cosecha se realizó a los 90 días después de la siembra hasta el 50% del fructificación. La recolección se hiso de forma manual observando la madurez fisiológica característica de los frutos (verde pintón- rojo). Se realizaron tres cosechas en un periodo de tres semanas. Se clasificaron los frutos por su uniformidad de tamaño y se los empacó en cajas de cartón de 18-20 Kg. Las cuales fueron comercializadas en los mercados locales.

5) <u>Diseño experimental.</u>

El ensayo de campo se estableció en un arreglo de Diseño de Bloques al Azar (DBA), constituido por 12 tratamientos y cuatro réplicas (bloques), cada réplica consistió con una parcela de 21 plantas, de las cuales se evaluaron 10 plantas. En el Cuadro 3, se presentan los tratamientos evaluados y en la figura 2, se presenta la distribución de los tratamientos en el DBA.

Cuadro 4. Tratamientos utilizados en el control del nematodo agallador del tomate de mesa, en condiciones de campo. Loja, 2017.

Tratamiento		Aislado
Trichoderma longibrachiatum	T1	TlL15
Trichoderma atroviride	T2	TatrL16
Trichoderma koningii	T3	TkT19
Trichoderma harzianum	T4	ThLE26
Trichoderma viride	T5	TvirC27
Pochonia chlamydosporia	T6	Pch-001
Pochonia chlamydosporia	T7	Pch-002
Pochonia chlamydosporia	T8	$NZO_2(S)V$
Purpureocillium lilacinus	T9	Pl-001
Purpureocillium lilacinus	T10	Pl-002
Purpureocillium lilacinus	T11	Pl-004
Testigo	T12	T00

Figura 2. Representación esquemática del diseño de bloques al azar con 12 tratamientos y cuatro réplicas.

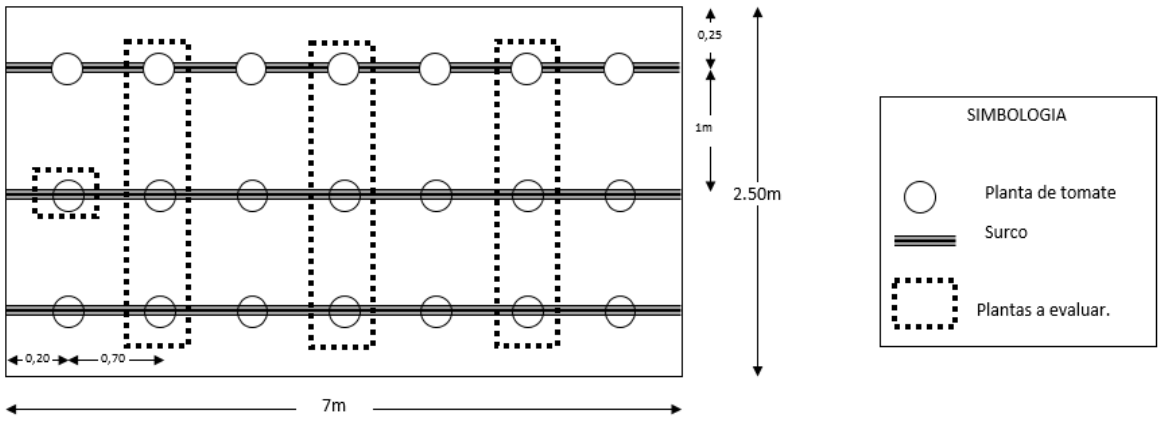


Figura 3. Representación esquemática de la parcela experimental, con la distribución de plantas de tomate en cada tratamiento.

6) <u>Variables evaluadas.</u> La evaluación de las variables dependientes se las realizó al 50 % de fructificación y son las siguientes:

- **Índice de agallamiento.** Se evaluó en 10 sistemas radiculares por réplica y se calculó el valor promedio, mediante la comparación visual con la clave cualicuantitativa de 10 grados de Bridge y Page (1980).

- **Cuantificación de J_2/100 cm^3 de suelo.** Se evaluó en una muestra de 100 cm^3 de suelo, tomada de una muestra constituida por 10 submuestras de suelo rizosferico de 10 plantas por réplica. Mediante la técnica de platos calados o Baerman modificado (Hooper *et al.*, 2005; Duncan y Phillips, 2009).

- **Cuantificación de J_2/10 g de raíces.** Se evaluó en 10 g de raíces agalladas por cada tratamiento, las cuales fueron procesadas según la metodología de Taylor y Sasser (1983)**.**

- **Altura de la planta (cm).** Se determinó al finalizar el ensayo en 10 plantas por réplica de cada tratamiento.

- **Peso de frutos (g).** Se determinó al azar el peso promedio de 10 frutos/planta, en 10 plantas por réplica.

- **Biomasa foliar (g).** Se evaluó el peso promedio 10 plantas por réplica de cada tratamiento, exceptuando frutos.

- **Biomasa radical (g).** Se evaluó el peso promedio en 10 plantas por réplica de cada tratamiento.

7) <u>Hipótesis.</u>

- Hipótesis para tratamientos.

H0: Los aislados a evaluar en el control del nematodo agallador de las raíces *Meloidogyne incognita* son estadísticamente igual al nivel del 5 % de significancia.

H1: Al menos dos de los aislados de *P. lilacinus, P. chlamydosporia* y de *Trichoderma* spp., difieren estadísticamente al nivel del 5 % de significancia en el control de *Meloidogyne incognita.*

- **Hipótesis para réplicas.**

H0: El efecto de las réplicas en el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* con los 12 tratamientos de aislados de *P. lilacinus, P. chlamydosporia* y de *Trichoderma spp*., no difiere estadísticamente al nivel del 5 % de significancia.

H1: Al menos en dos réplicas se obtendrá diferencias estadísticas al nivel del 5 % según Tuckey.

3.2.1.3. Análisis estadístico.

Los datos de las variables evaluadas se tabularon y ordenaron utilizando el programa Microsoft Excel 2016, luego los datos fueron ingresados en el programa InfoStat 2016, se realizaron análisis de varianza de clasificación simple y comparaciones entre tratamientos mediante la prueba de Tukey al 5%.

3.2.1.4. Prueba de Abbott (1925) corregida (Rojas y Solano, 2017)

Los datos de las variables relacionadas con el patógeno: Índice de agallamiento, J_2/100 cc de suelo y J_2/10 g raíces fueron transformados a porcentajes de eficacia mediante la fórmula de Abbott (1925)

$$Eficacia\ (\%) = \frac{a - b}{b} * 100$$

Donde:
a= tratamiento con mayor grado de eficacia (tratamiento con menor valor)
b= tratamiento testigo (máximo valor, menor grado de efectividad)

3.2.2. Metodología para el segundo objetivo.

Determinar la correlación entre los niveles de efectividad de los tratamientos (aislados) en el control biológico de *Meloidogyne incógnita* y las variables agronómicas de las plantas de tomate a evaluarse.

3.2.2.1. Correlación entre los niveles de efectividad de los aislados fúngicos y las variables agronómicas.

Consistió en realizar un análisis estadístico comparativo entre las variables del patógeno (*M. incógnita*) y el comportamiento de las variables agronómicas en una relación causa-efecto. Para ello, se utilizó la prueba de Coeficiente de correlación de Pearson que consiste en establecer comparaciones entre variables seleccionadas a discreción del investigador según la finalidad de información que se desea generar. Se trata de una medida de la magnitud de la asociación lineal entre dos variables o más. La fórmula general del coeficiente de correlación de Pearson es la siguiente:

$$r_{jk} = \frac{S_{jk}}{\sqrt{S_j^2 \; S_k^2}} = \frac{\left(\sum_{i=1}^{n}(x_{ij} - \bar{x}_j)(x_{ik} - \bar{x}_k)\right)/(n-1)}{\sqrt{\left(\left(\sum_{i=1}^{n}(x_{ij} - \bar{x}_j)^2\right)/(n-1)\right)\left(\left(\sum_{i=1}^{n}(x_{ik} - \bar{x}_k)^2\right)/(n-1)\right)}}$$

Donde S_{jk} es la covarianza entre la variable ***j*** y la variable ***k***, S^2_j y S^2_k son las varianzas de las variables ***j*** y ***k*** respectivamente.

Las variables comparadas con la prueba de correlaciones, se ubicaron en siguiente cuadro.

Cuadro 5. Correlación entre los niveles de efectividad de los aislados y las variables agronómicas.

	Altura		**Biom foliar**		**Producción**		**I.A**		**J_2-Suelo**	
variables	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Altura										
Biom foliar										
Producción										
I.A										
J_2-Suelo										
J_2-raíces										

p: Pearson p-valor (determinado por el programa) r**:** coeficiente de correlación.

El coeficiente de correlación muestral representa la covarianza de los valores muestrales estandarizados. Asume valores en el intervalo [-1:1] y el signo indica la dirección de la asociación (valores negativos se producen cuando la tendencia promedio indica que, si un valor en el par observado es más grande que su media, el otro valor es más pequeño que su media).

3.2.3. Metodología para el tercer objetivo.

Recapturar los aislados fúngicos inoculados al suelo para la evaluación de su capacidad de sobrevivencia y de parasitismo en condiciones in vitro.

3.2.3.1. Recaptura, cuantificación, parasitismo e identificación de los hongos nematófagos en muestras de suelo.

Para realizar la recaptura de los aislamientos fúngicos *P. lilacinus, P. chlamydosporia y de Trichoderma spp*., al concluir la fase de cosecha del cultivo se realizó lo siguiente:
Se tomaron 10 muestras de suelo por replica a nivel de la zona radicular de las plantas y se homogenizaron en una muestra por tratamiento. Se preparó una dilución madre con 1.0 g en 100 mL de agua destilada estéril (1:100), se agitó durante 5 min obteniéndose una suspensión homogénea. La siembra se realizó tomando 1mL de la solución en cajas Petri con medio PDA y se incubó a 28°C; la cuantificación de UFC se realizó a las 96 horas y se caracterizaron las colonias por su forma, color, elevación y pigmentos; además se realizó la caracterización micromorfométrica que consistió en realizar medir y fotografiar las estructuras reproductivas de los reaislados con ayuda de un microscopio Olympus CX21. Con las características macroscópicas y microscópicas de los aislados se establecieron comparaciones con las claves taxonómicas de *Purpureocillium* (Kozakiewicz, 2001; Luangsa - ard et al, 2011), *Pochonia* (Gams y Zares, 2001) *y Trichoderma (*Samuels *et al*., 2010).

3.2.3.2. Recaptura, cuantificación, parasitismo e identificación de los hongos nematófagos de raíces agalladas.

El reaislamiento de los hongos incorporados al suelo en el ensayo de campo, se realizó a partir de muestras de masas de huevos extraídas de raíces agalladas de cada uno de los tratamientos, mediante la metodología Taylor y Sasser (19839) descrita en el acápite 2,2,7. El porcentaje de parasitismo se determinó a las 96 horas, se marcó cuatro cuadrantes en la caja Petri, se cuantificaron huevos y J_2 parasitados y no parasitados, con ayuda de un microscopio invertido. Tanto en huevos como en larvas J_2, se observó ecto y endo parasitismo por la presencia de hifas y esporas sobre el cuerpo de los especímenes o internamente. La identificación de los hongos se realizó utilizando los mismos procedimientos y claves taxonómicas referidas en el acápite anterior.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. EFECTIVIDAD DE LOS AISLADOS FÚNGICOS, EN EL CONTROL BIOLÓGICO DEL NEMATODO AGALLADOR DE LAS RAÍCES DEL TOMATE EN CONDICIONES DE CAMPO.

4.1.1. Índice de agallamiento, población de nematodos en 100 cm^3 de suelo y población de nematodos por 10 g de raíz.

En el cuadro 6, se muestra el efecto de los aislamientos sobre la formación de agallas en el cultivo de tomate, la población J_2 en 10g de raíces y la población J_2 en 100cc de suelo, todos con diferencias estadísticas con respecto al tratamiento testigo. En la variable índice de agallamiento los tratamientos con mayor efectividad fueron los aislados ThLE26, Pl-004, Pch-002, NZO2(s)V, TlL15, TatrL16, TkT19, Pl-001 y TvirC27 con medias menores a 5 grados de la escala, considerando que no existe diferencia significativa entre ellos; mientras que el testigo presentó un índice de agallamiento de 9 grados. Para la variable población J_2 en 10 g de raíces, los aislados más efectivos en la reducción de poblaciones fue TvirC27; mientras que en la población J_2 suelo el aislado con menor población fueron los aislados P004 y TkT19, con diferencias significativas frente al testigo.

Cuadro 6. Efecto de los aislamientos en índice de agallamiento, población de *M. incognita* en 100 cm^3 de suelo y por 10 g de raíces. Loja, 2017.

Tratamientos	Aislados.	I.A	N° de J_2/100 cm^3 suelo.	N° de J_2/10 g de raíz
1	**TlL15**	4,25 B	64,13 F	412,95 E
2	**TatrL16**	4,25 B	59,61 E	683,94 H
3	**TkT19**	4,50 BC	44,51 B	410,84 DE
4	**ThLE26**	3,25 A	50,40 CD	167,27 B
5	**TvirC27**	5,00 C	80,50 H	149,27 A
6	**Pch-001**	5,25 D	56,09 D	315,50 C
7	**Pch-002**	4,00 B	115,51 AB	400,69 D
8	**NZO2(s)V**	4,25 B	47,60 BC	533,83 G
9	**Pl-001**	4,50 BC	70,50 G	863,42 I
10	**Pl-002**	5,75 E	48,61 C	436,11 EF
11	**Pl-004**	3,75 AB	37,13 A	425,39 E
12	**T00**	9,00 F	158,96 I	1204,70 J

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$)

Según los resultados obtenidos en el cuadro 6, se puede notar que ninguno de los tratamientos impidió el establecimiento de *M. incognita* en la planta; sin embargo, se observa que los aislados fúngicos ejercieron un efecto positivo en la reducción del índice de agallamiento con respecto al testigo.

Los aislados del genero *Trichoderma* spp., presentaron índices de agallamiento entre 3,25 a 5.0 (Escala de Bridge y Page, 1980) con reducciones porcentuales entre 36.1% a 45%, respectivamente con respecto al tratamiento testigo. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Duarte (2015) quien refiere índices de agallamiento de 3,3 a 3,6 (Escala de Taylor y Sasser (1983) equivalentes a una reducción porcentual entre 26 a 50%, utilizando aislados de *Trichoderma* spp en el control biológico de *M. javanica* en naranjilla. De igual forma, Gordillo (2017) obtuvo resultados de 2,5 a 5,8 según la escala de infestación de Bridge y Page, (1980); por su parte, Rodríguez *et al*. (2006), realizaron aplicaciones de *Trichoderma harzianum*, a una dosis de 8kg/ha, en diferentes fases del cultivo de hortalizas mezcladas con sustrato en plántulas, en el momento del trasplante. Los resultados obtenidos mostrados al final del ciclo del cultivo mostraron un notable decrecimiento de las poblaciones de nematodos al reducirse los índices de infestación, de grados 3 y 4 de una escala de 5, hasta el grado 1.

Los aislados del genero *Pochonia* sp, registraron un índice de agallamiento entre 4,0 a 5,25 resultado que coinciden con los obtenidos por Delgado (2010), quien obtuvo de 5 a 6 grados al aplicar un producto a base Pochonia contra *M. incognita.* De igual forma, Castillo y Medina (2014) quien obtuvo un índice de agallamiento de 4,7 según la escala de infestación de Bridge y Page, (1980).

Los aislados del género *Purpureocillium spp.*, presentaron un índice entre 3,7 a 5,75 los resultados concuerdan con Castillo & Medina (2014) quien obtuvo un índice de agallamiento de 4,7 a 6,9 según la escala de infestación de Bridge y Page, (1980); mientras que Duarte (2015) aplicando *P. lilacinus* obtuvo un índice de agallamiento de 3,3 muy por debajo del Testigo; mientras que Flores (2009), quien obtuvo un índice de agallamiento de 2,5 % según

la escala de infestación de Taylor y Sasser (1983); por su parte Cruz (2007) observó que *Paecilomyces* sp reduce el 84 % de nódulos con relación al testigo.

Las variables número de nematodos en suelo y en raíces se redujo por efecto de los aislamientos P004, TkT19 y TvirC27, esto se relaciona con el estudio de Castillo & Medina (2014) quien determinó que *Paecilomyces* redujo la población de nematodos en un 66 % en tomate, Mendoza (2010), reporta en su estudio que al probar el hongo *Paecilomyces* spp., para el control de *Meloidogyne incognita* en tomate este redujo significativamente la población de nematodos tanto en raíces como en suelo a diferencia del testigo. Mientras que Sánchez de Prato (2016), en su estudio reporta que *Trichoderma harzianum* erradicó en un 100% los nematodos de los géneros *Meloidogyne* spp y *pratylenchus* spp, y en cuanto al desarrollo agro productivo de las plántulas de café en la fase de vivero, esto se relaciona con el estudio de Pérez *et al*. (2001), en condiciones controladas, semicontroladas y de campo obtuvieron un control superior al 80% sobre *M. incognita* en *coffea arábiga*.

4.1.2. Altura, Biomasa foliar y Biomasa radicular en tomate.

En el Cuadro 7, se presentan los resultados de las variables altura, biomasa foliar y biomasa radicular, en cada una de las cuales se observa diferencias estadísticas significativas entre tratamientos con respecto al testigo. En la variable altura de planta el tratamiento Pl-002 y TkT19 muestran valores superiores al testigo con diferencia estadística entre ellos. En cuanto a biomasa foliar todos los tratamientos difieren significativamente con el testigo, siendo los aislados TkT19, TlL15, NZO2(s)V. En el caso de biomasa radicular los mejores tratamientos fueron Pl-004, TlL15 y NZO2(s)V.

Cuadro 7. Efecto de aislamientos sobre altura, biomasa del follaje y biomasa de raíces en tomate, en condiciones de campo. Loja, 2017.

Tratamientos	Aislados.	Altura (cm)	Biomasa foliar (g)	Biomasa radicular (g)
1	**TlL15**	71,02 AB	368,34 B	91,48 A
2	**TatrL16**	75,20 AB	235,41 GH	73,05 C
3	**TkT19**	78,00 A	372,29 A	51,00 FG
4	**ThLE26**	77,53 A	222,14 H	68,78 D
5	**TvirC27**	69,18 C	268,23 EF	62,63 E
6	**Pch-001**	73,75 AB	243,20 G	52,28 F
7	**Pch-002**	76,05 B	270,99 E	44,45 H
8	**NZO2(s)V**	70,15 AB	353,57 C	82,68 B
9	**Pl-001**	74,65 AB	121,09 J	56,03 F
10	**Pl-002**	83,48 A	255,87 F	48,00 GH
11	**Pl-004**	70,15 BC	323,87 D	96,48 A
12	**T00**	68,98 D	182,5 I	39,28 I

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$)

En el cuadro 7, se observa que en cuanto a la variable altura los mejores resultados obtenidos son los aislados Pl-002 con 83,48 cm y TkT19 con 78,0 cm, estos resultados se relacionan con Duarte (2015) que al probar *Paecilomyces* sp y *Trichoderma sp* naranjilla obtuvo mayor desarrollo de la planta a diferencia del testigo.

En la variable biomasa foliar se determinó que los aislados más efectivos y estadísticamente diferentes fueron TkT19 con 372,2 g, TlL15 con 368,3 g y NZO2(s)V con 353,5 g, estos resultados se asemejan a la investigación realizada por Duarte (2015) que con el objetivo de reducir los

niveles de infestación de *Meloidogyne javanica* en el cultivo de naranjilla evaluaron el efecto de aislados fungicos encontrando un efecto estimulante sobre los parámetros morfológicos, fisiológicos y productivos del cultivo. De la misma forma Chaves (2007) al probar *Trichoderma atroviride* y *Fusarium oxisporum* para el control de *Radophulus similis*, encontró que estos dos hongos ejercieron una actividad positiva sobre las plantas de banano presentando valores mayores en las variables peso total de la planta, peso radical y longitud radical en comparación con las inoculaciones individuales y los testigos.

En la variable biomasa radicular entre los aislados de *Purpureocillium* spp., con el aislado Pl-004 (96,4 g), *Trichoderma* spp., con el aislado TIL15 (91,4 g) y *Pochonia* spp., con el aislado NZO2(S)V (82,6 g), obtuvieron mayor peso, estos resultados se asemejan a la investigación realizada por Duarte (2015) que con el objetivo de reducir los niveles de infestación de *Meloidogyne javanica* en el cultivo de naranjilla evaluaron el efecto de aislados fúngicos encontrando un efecto estimulante sobre los parámetros morfológicos, fisiológicos y productivos del cultivo. Baños *et al*. (2010), que con el objetivo de reducir los niveles de infestación de *Meloidogyne* spp., en el cultivo de tomate de mesa evaluaron el efecto *T. viride, T. harzianum*, melaza y gallinaza mostraron un efecto estimulante del 36,6 al 44,6 %, sobre los parámetros morfológicos, fisiológicos y productivos del cultivo de tomate.

4.1.3. Variables de Producción y rendimiento por hectárea

En el Cuadro 8, se muestran las variables número de frutos/planta, Peso de frutos y rendimiento/ha, en cada una de ellas se determinaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, los mayores rendimientos presentaron el tratamiento TatrL16 seguido por NZO2(s)V, el testigo obtuvo la producción más baja.

Cuadro 8. Efecto de aislamientos fúngicos en la producción de tomate, en condiciones de campo. Loja, 2017.

Trat.	Aislados	Peso Frutos/Pl/50 % de producción (g)	Pl/ha	Rend. proyectado/100 % Producción/ha	
				Kg/ha	tn/ha
1	**TlL15**	849,0 G	14285	28301,6 G	28,30 G
2	**TatrL16**	1279.0 A	14285	42632.4 A	42,2 A
3	**TkT19**	1024.2 D	14285	34139.1 D	34.1 D
4	**ThLE26**	735,7 H	14285	24523.9 H	24,5 H
5	**TvirC27**	905.5 F	14285	30182.4 F	30,1 F
6	**Pch-001**	992.6 E	14285	33083.3 E	33,0 E
7	**Pch-002**	1044,9 D	14285	34828,7 D	34,8 D
8	**NZO2(s)V**	1140,3 B	14285	38008,7 B	38,8 B
9	**Pl-001**	930.1 F	14285	30182,4 F	31.0 F
10	**Pl-002**	1107,6 C	14285	36918,6 C	36,9 C
11	**Pl-004**	542.6 I	14285	18083.8 I	18,8 I
12	**T00**	500,5 J	14285	16682,7 J	16,0 J

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$)

En la variable rendimiento por hectárea se encontró que el aislado del genero *Trichoderma* spp., con el aislado TatrL16, se alcanzó una producción de 42,2 t/ha, seguido por el aislado NZO2(s)V con 38,8 t/ha que corresponde al género *Pochonia spp.*, el testigo presentó los más bajos rendimientos con una producción de 16,0 t/ha. Resultados que coinciden con Baños *et al*., (2010), que con el objetivo de reducir los niveles de infestación de *Meloidogyne* spp., en el cultivo de tomate de mesa evaluaron el efecto *T. viride, T. harzianum,* melaza y gallinaza mostraron un efecto estimulante sobre los parámetros productivos del cultivo de tomate, resultando en rendimientos de 47.05, 46.56, 38.75 y 34.99 t/ha, respectivamente, con

diferencias significativas sobre el testigo (26,81 t/ha). Además, se obtuvo incrementos en la producción superiores al 30 %. Por otra parte, Solano *et al*., (2014), al aplicar de varios aislamientos autóctonos de los hongos *Pochonia chlamydosporia* y *Purpureocillium lilacinum* en el control de *Meloidogyne incognita* en tomate, en condiciones de campo observó un estímulo en las variables agronómicas número de frutos, masa de los frutos y rendimiento agrícola.

4.2. CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE EFECTIVIDAD DE LOS AISLADOS EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE *M. INCOGNITA* Y LAS VARIABLES AGRONÓMICAS.

4.2.1. Correlación entre los niveles de efectividad de los aislados de *Trichoderma* spp y las variables agronómicas.

En el cuadro 9, se muestra los coeficientes de correlación de Pearson, entre los niveles de efectividad promedio de los aislados del género *Trichoderma* spp y las variables agronómicas, destacando una correlación positiva directa entre el índice de agallamiento (IA) y la población de J_2 suelo y J_2 raíces; además se observa una correlación positiva entre la población J_2 suelo y J_2 raíces.

Cuadro 9. Correlación entre niveles de efectividad de *Trichoderma* spp y las variables agronómicas, en condiciones de campo. Loja, 2017.

	Altura		**Biom foliar**		**Producción**		**I.A**		**J_2-Suelo**	
variables	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Altura										
Biom foliar	0,04	0,9404								
Producción	0,65	0,1663	0,63	0,1763						
I.A	-0,67	0,1481	-0,10	0,8490	-0,26	0,6127				
J_2-Suelo	-0,73	0,1001	-0,27	0,6036	-0,50	0,3174	**0,97**	**0,0018**		
J_2-raíces	-0,35	0,4918	-0,14	0,7965	-0,17	0,7407	**0,80**	**0,0567**	0,79	0,0589

p*: Pearson p-valor (determinado por el programa). **r**: coeficiente de correlación.

El análisis de correlación para los aislados del género *Trichoderma* spp determinó que el índice de agallamiento (IA) presentó una correlación positiva directa y altamente significativa con la población de J_2 suelo (r=0,97; p=0,0018) y la población J_2 raíces (0,80;

p=0,0567), lo cual confirma los resultados del cuadro 5 y explica que el índice de agallamiento de las raíces es proporcional a la población de inóculo J_2 en el suelo, por lo tanto, a menor población de J_2 en el suelo el índice de agallamiento es menor y viceversa. La interacción biológica entre los niveles de efectividad y la respuesta positiva de las plantas tratadas confirma por una parte la acción parasítica de las especies nematófagas de *Trichoderma* sobre larvas J_2 y huevos, y por otra parte explica la acción endofítica del hongo el cual estimula el crecimiento del sistema radicular e incrementa niveles de inmunidad contra el patógeno. Resultados que coinciden con Pérez et al. (2006) afirman que *Trichoderma* spp., es un biorregulador efectivo contra nematodos del género *Meloidogyne* por medio de sus toxinas e hifas. De igual manera Harman (2006) y Vinale *et al.* (2008), informaron nuevos mecanismos con los cuales *Trichoderma* ejerce su acción como antagonista y colonizador de las raíces, como son la aceleración del desarrollo del sistema radicular que posibilita la tolerancia al estrés por parte de la planta, la solubilización y absorción de nutrientes inorgánicos, estimulación del crecimiento vegetal y la inducción de la resistencia; mecanismos que actúan indirectamente sobre los patógenos, ya que su acción es elicitar o impulsar mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos en la planta.

4.2.2. Correlación entre los niveles de efectividad de los aislados de *Pochonia chlamydosporia* y las variables agronómicas.

En el cuadro 10, se muestra los coeficientes de correlación de Pearson, entre los niveles de efectividad promedio de los aislados del género *Pochonia chlamydosporia* y las variables agronómicas, destacando una correlación positiva entre la biomasa foliar y la producción y una correlación negativa entre la biomasa foliar y el índice de agallamiento (IA); además, se observa una correlación positiva y altamente significativa entre el IA y la población J_2 raíces.

Cuadro 10. Correlación entre niveles de efectividad de *Pochonia chlamydosporia* y las variables agronómicas, en condiciones de campo. Loja, 2017.

Variables	Biomasa Foliar		Producción		I.A	
	r	p	r	p	r	p
Biomasa foliar						
Producción	**0,92**	**0,0801**				
I.A	**-0,96**	**0,0396**	-0,78	0,2223		
J_2- raíces	-0,8	0,2038	-0,50	0,5001	**0,93**	**0,0670**

*: Pearson p-valor (determinado por el programa) **r**: coeficiente de correlación.

En el cuadro 10, se indica el análisis de correlación para los aislados de la especie *Pochonia chlamydosporia* determinó que la variable biomasa foliar presentó una correlación positiva y altamente significativa sobre la producción (r = 0,92; p=0.0801) y una correlación negativa entre índice de agallamiento y la biomasa foliar (r= -0,96 p=0,0396) esto nos indica que el índice de agallamiento afecta a la biomasa foliar, lo que explica que a menor índice de agallamiento mayor será la biomasa foliar, además existe una correlación positiva entre la variable IA y la población de J_2 raíces (r= 0,93 p=0,0567). Estos resultados se ven referenciados en el cuadro 5 y 7 y explica que a mayor biomasa foliar mayor será el rendimiento en la producción, al respecto de la variable IA, a menor población de J_2 en raíces el índice de agallamiento es menor y viceversa.

La correlación biológica entre los niveles de efectividad de *Pochonia chlamydosporia* y el desarrollo de las plantas tratadas demuestra que la acción parasítica de los aislados nematófagos disminuyeron la población de larvas J2 *M. incógnita* en el suelo y de huevos, lo cual se evidenció en la disminución de los IA en las raíces. Resultados que se relacionan con los reportados por Carneiro *et al*., 2011; Arévalo *et al*., 2012; Viggiano *et al*., 2014, quienes explican los mecanismos químicos de penetración, determinados por la actividad enzimática de tipo hidrolítica como las esterasas, proteasas de tipo serina, quitinasas y lipasas, que digieren la cutícula del huevo y garantizan la efectividad infecciosa.

4.2.3. Correlación entre los niveles de efectividad de los aislados de *Purpureocillium lilacinus* y las variables agronómicas.

En el cuadro 11, se muestra los coeficientes de correlación de Pearson, entre los niveles de efectividad promedio de los aislados del género *Purpureocillium lilacinus* y las variables agronómicas, destacando una correlación positiva directa entre la producción y el índice de agallamiento (IA).

Cuadro 11. Correlación entre variables del aislado y agronómicas, en condiciones de campo. Loja, 2017.

Variables	Biomasa Foliar		Producción		I.A	
	r	p	r	p	r	p
Biomasa foliar						
Producción	-0,74	0,2560				
I.A	0,07	0,9299	**0,27**	**0,0271**		
J_2- raíces	-0,17	0,8310	-0,44	0,7271	0,74	0,2605

*: Pearson p-valor (determinado por el programa) **r**: coeficiente de correlación.

En el cuadro 11, se indica el análisis de correlación para los aislados de la especie *Purpureocillium lilacinus* determinó que la variable la producción presentó una correlación positiva y altamente significativa entre el índice de agallamiento (r=0,27; p=0.0271). Estos resultados se ven referenciados en el cuadro 5 y 7 nos indica que a menor índice de agallamiento mayor producción. Resultados que se relacionan con los referidos por Abd Fattah *et al., (*2013) quien, en condiciones de campo, aplicando *P. lilacinus* sobre *M. incognita* en tomate, determinó parasitismo en huevos, disminuyendo la nodulación radical y la población de nematodos en el suelo, además de que se incrementaron los rendimientos del cultivo.

4.3. RECAPTURA Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE SOBREVIVENCIA Y DE PARASITISMO DE LOS AISLADOS FÚNGICOS EN CONDICIONES IN VITRO.

4.3.1. Recaptura de *P. lilacinus, P. chlamydosporia* y de *Trichoderma* spp., en suelo.

En el cuadro 12, se observa las unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de suelo de los tratamientos (aislados) recapturados, los cuales muestran diferencias estadísticas entre ellos, destacando el tratamiento TvirC27 con una mayor cantidad de UFC, mientras que el testigo no desarrolló UFC.

Cuadro 12. Unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de suelo a las 96 horas. Loja, 2017.

Tratamientos	Aislado.	UFC/96horas	UFC/g de suelo	Especie identificada.
1	**TlL15**	2,50 AB	250,0 AB	*Trichoderma longibrachiatum*
2	**TatrL16**	2,08 AB	208,3 AB	*Trichoderma atroviride*
3	**TkT19**	1,90 ABC	191,6 ABC	*Trichoderma koningii*
4	**ThLE26**	0,83 CD	83,3 CD	*Trichoderma harzianum*
5	**TvirC27**	2,83 A	283,3 A	*Trichoderma viride*
6	**Pch-001**	2,18 AB	216,6 AB	*Pochonia chlamydosporia*
7	**Pch-002**	2,68 AB	266,7 AB	*Pochonia chlamydosporia*
8	**NZO2(s)V**	1,75 ABC	175,0 ABC	*Pochonia chlamydosporia*
9	**Pl-001**	1,50 BC	150,0 BC	*Purpureocillium lilacinus*
10	**Pl-002**	1,93 ABC	191,7 ABC	*Purpureocillium lilacinus*
11	**Pl-004**	0,23 D	24,9 D	*Purpureocillium lilacinus*
12	**T00**	0,00 E	0,0 E	Testigo.

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$)

Según los resultados del cuadro 12, se pudo evidenciar que el aislado TvirC27 presentó el mayor valor de UFC (283,3 UFC/g), seguido por los aislados Pch-002 (266,6) y TlL15 (250,00 UFC/g). Resultados que coinciden con Arévalo *et al* (2012) quienes en plantaciones de guayaba (*Psidium guajava* L.), evaluaron las actividades saprofítica y patogénica de tres cepas de *P. chlamydosporia* frente a *M. enterolobii*, en una sucesión de cultivos tomate (*Solanum lycopersicum* L.)- lechuga (*Lactuca sativa* L.), al finalizar el ciclo de los cultivos, seis meses después de la aplicación, se comprobó que la colonización de *P. chlamydosporia* se mantuvo

en el orden de 10^4UFC.g-1de suelo y mayor de 10^3UFC.g-1 en las raíces. El porcentaje de colonización de estos hongos sobre las masas de huevos fue superior al 60% en todos los tratamientos. Similares resultados de sobrevivencia observaron Sánchez de Prato *et al* (2016), en un estudio sobre la efectividad del *Trichoderma harzianum* como biocontrolador de nematodos de los géneros *Meloidogyne*spp y *pratylenchus* spp., en fase de vivero del cultivo de café (*coffea arábica*, L.).

4.3.2. Parasitismo de *P. lilacinus, P. chlamydosporia* y de *Trichoderma* spp en huevos y larvas J2 de *M incognita.*

En el cuadro 13, se presentan las variables porcentaje de parasitismo en huevos y porcentaje de parasitismo en J_2, con diferencias estadísticas entre los aislados recapturados y el testigo, destacándose con mayor efectividad los aislados Pch-002 (H) ThLE26 (H) y Pl-002 (J_2). Anexo 17, Fig. 9.

Cuadro 13. Parasitismos en huevos y larvas J_2 de *M. incognita,* por tratamientos de hongos nematofagos, en condiciones de campo. Loja. 2017.

Tratamientos	Aislado	parasitismo huevos %	parasitismo J2 %
1	**TlL15**	19,75 CDE	30,50 B
2	**TatrL16**	30,00 BCD	30,35 B
3	**TkT19**	5,75 E	1,00 C
4	**ThLE26**	43,25 AB	34,25 B
5	**TvirC27**	36,00 BCD	30,75 B
6	**Pch-001**	39,50 ABC	5,75 C
7	**Pch-002**	60,00 A	5,50 C
8	**NZO2(s)V**	41,00 ABC	6,75 C
9	**Pl-001**	14,25 DE	7,00 C
10	**Pl-002**	34,50 BCD	46,75 A
11	**Pl-004**	14,50 DE	0,00 E
12	**T00**	0,0 E	0,00 E

Medias con letras iguales, no difieren significativamente, según Tukey ($p \leq 0.05$)

Como se demuestra en el cuadro 13, los aislados del genero *Trichoderma* spp y *Pochonia chlamydosporia* spp, fueron los que mejor resultado obtuvieron con un alto nivel de parasitismo en huevos con un porcentaje de 43 % y 60 % respectivamente con respecto al

testigo que presentó 0.0%, y el nivel de parasitismo en de larvas J_2, fue el aislado *P. lilacinus* (Pl-002) con un porcentaje del 46,7%. Resultados que concuerdan con Padilla *et al*. (2014) al evaluar el parasitismo *in vitro* de 6 aislamientos de *Trichoderma* spp., obtuvieron parasitismo entre 95 a 96%. De igual forma Arévalo *et al* (2012) en plantaciones de guayaba (*Psidium guajava* L.), evaluaron las actividades saprofítica y patogénica de tres cepas de *P. chlamydosporia* frente a *M. enterolobii*, y determinaron un porcentaje de colonización de superior al 60% en todos los tratamientos, mientras que los porcentajes de parasitismo de huevos estuvieron entre 45 y 55%. Por otra parte, Mendoza, (2010), realizó un estudio *in vitro* utilizando *Trichoderma asperellum* e *Hypocrea virens* obteniendo parasitismos mayores al 50 %.

5. CONCLUSIONES.

Los aislados de los géneros *Trichoderma* spp y *Paecilomyces* spp redujeron significativamente los índices de agallamiento con valores de 3,25 y 3,75 con porcentajes de efectividad de 63,9 y 58,4 respectivamente, respecto al testigo alcanzó un grado 9,0 en la escala de 10 grados de Bridge y Page (1981).

En las condiciones experimentales en las que se desarrolló la investigación, ninguno de los tratamientos controló totalmente a *M. incognita*, sin embargo, se logró reducir significativamente las poblaciones de J2 en el suelo y raíces, destacándose los aislados de *Purpureocillium lilacinum* (Pl-004) con un porcentaje de efectividad de 76.6%; mientras que, en raíces el asilado de *Trichoderma viride* (Tvir-C27) alcanzó una efectividad de 87.6%.

Los análisis de correlación permitieron determinar una relación positiva entre los tratamientos que presentaron menores índices de agallamiento, menor población de J_2 en suelo y menor población J2 en raíces con los mayores valores de las variables agronómicas y de la producción.

Los ensayos de recaptura de los aislados de hongos nematofagos permitieron determinar una gran variabilidad de supervivencia expresada en UFC por gramo de suelo y una gran variabilidad de porcentajes de parasitismo en J2 y huevos, los cuales guardan relación con los niveles de efectividad en condiciones de campo.

6. RECOMENDACIONES.

Los niveles de efectividad obtenidos en el ensayo en campo, con los aislamientos de los géneros *Purpureocillium, Pochonia, Trichoderma* spp., permiten sugerir su utilización como alternativa de control biológico del nematodo agallador *M. incognita* en condiciones similares a las investigadas.

Monitorear nuevas zonas agroecológicas que permitan incrementar la diversidad de aislamientos fúngicos que puedan ser probados como agentes de control biológico de nematodos.

Realizar investigaciones que permitan extraer un bioproducto basado en aislamientos de hongos antagonistas de género *Meloidogyne incognita*, de tal forma que permita entregar a los productores de tomate un producto comercial estandarizado y que garantice altos porcentajes de efectividad.

7. BIBLIOGRAFÍA.

1. Abad Fattah, A. I.; Shalaby, N. M.; Wafaa, M. A. 2013. Impact of two bio-products on *Meloidogyne javanica* and their influence on yield components of some sugar beet varieties. Egipto. Journal of Applied Sciences Research; 9(8): 4627-4637. 734-749 p.
2. Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18:265-267
3. Acevedo Paiz 2015. Evaluación de *Beauveria bassiana* y *Trichoderma harzianum* sobre nematodos parásitos de melón; Huité, Zacapa, México. Tesis en ingeniero agrónomo. Universidad Rafael Landívar.
4. Agrios, G. 2005. Plant Pathology. Published Elsevier. 5 ed. United States of America. 734-749 p.
5. Arias, E; Piñeros P. 2008. Aislamiento e Identificación de Hongos Filamentosos de Muestras de Suelo de los Páramos de Guasca y Cruz Verde. Tesis. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá – Colombia. 204 p.
6. Arévalo, Silva, Carneiro, Lopes, Carnerio. 2012. *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams como potencial agente decontrol biológico de *Meloidogyne enterolobii* (Yang y Eisenback) en cultivos hortícolas. Rev. Protección Veg. Vol. 27 No. 2. Brasil.
7. Baños, Y., Armando, B., Lazo, R., Gonzalez, I., Morejón, L. 2010. Efecto de enmiendas orgánicas y Trichoderma spp. en el manejo de Meloidogyne spp. Revista Brasileira de Agroecologia. 5.
8. Barres, M., Bello, A., Jordá, C., Tello, J. 2009. La eliminación del bromuro de metilo en la protección de cultivos como modelo mundial para la conservación del medio ambiente. Tesis. Universidad de Almería. España. 515 p
9. Bourguignon, E.2008. Ecology and diversity of indigenous Trichoderma species in vegetable cropping systems. PhD. Tesis. Lincoln University, Canterbury, New Zealand.pp.235.
10. Bourne, J.M. (1995). The importance of the host plant in the biological control of root-knot nematodes Meloidogyne spp by the nematophagous fungus Verticillium chlamydosporium. PhD Thesis, University of Reading.

11. Brand, D., Roussos, S., Pandey, A., Zilioli, P., Pohl, J., Soccol, C. 2004. Development of a Bionematicide with Paecilomyces lilacinus to Control Meloidogyne incognita. Applied Biochemistry and Biotechnology 118:81-88.
12. Bridge, J. y Page, S.L.J. 1980. Estimation of root-knot nematodes infestation levels on roots using a rating chart. Tropical Pest Management 26: 296-298.
13. Bustillo, A. 2001. Hongos e insectos y posibilidades de uso de control biológico de plagas en Colombia. En seminario uso de entomopatogenos en Colombia. Sociedad Colombiana de Entomologia. Bogotá, Colombia. 30-53p.
14. Carneiro, R.M.D.; Hidalgo, L; Martins I; Silva K.F.A.; De Sousa, M.G.; Tigano, M.S. 2011. Effect of nematophagous fungi on reproduction of *Meloidogyne enterolobi*i on guava (*Psidium guajava*) plants. Nematology 13(6):721-728.
15. Carrillo, J., García, R., Allende, R., Márquez, I., Cruz, J. 2013. Manejo del nematodo agallador (*Meloidogyne* spp) en hortalizas, en Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 2(18).
16. Castillo y Medina. 2014. Control biológico del nematodo agallador del tomate de mesa meloidogyne incognita (kofoit and white, 1919) chitwood, 1949 mediante aislamientos de hongos nematófagos nativos. Universidad Nacional de Loja. Tesis Ing. Agronómica, Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables. Loja, Ecuador.
17. Castro, L, I; Diez, R, M.A; López, P, J.A; Díaz, V, L; Bello, A. 2011. Biodesinfección de suelos en producción ecológica. Dossier. Sociedad Española de Agricultura Ecológica. 1era edición. 56 p.
18. Ceiro, Arévalo, Puertas, Hidalgo-Díaz. 2015 Tolerancia de *Pochonia chlamydosporia* var. *Catenulata* (Kamyschko ex Barron y Onions) Zare y W. Gams a diferentes niveles de cloruro de sodio. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Mayabeque, Cuba. Rev. Protección Veg. Vol. 28 No. 31
19. Ciancio, A.; K. G. Mukerji. 2007. General Concepts in Integrated Pest and Disease Management. Canada, Springer. 181-184 p.

20. Chamba, 2016. Composición florística y estructura de la vegetación natural del centro binacional de formación técnica Zapotepamba, cantón Paltas, provincia de Loja. Tesis de ingeniera forestal. Universidad nacional de Loja.
21. Chaves, N. 2007. Utilización de bacterias y hongos endofíticos para el control biológico del Nematodo Barrenador Radopholus similis (Cobb) Thorn. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR. CATIE. 85p
22. Chet, I; Vitervo, A; Brotman, Y. 2006. Plant biocontrol by *Trichoderma* spp. (en línea). Israel, Departamento de Química Biológica. Consultado 15 enero. 2017. Disponible en. http://www.weizmann.ac.il/Biological_Chemistry/scientist/Chet/Chet.html
23. Cruz, F. 2007. Control del nematodo nodulador de la raíz (*Meloidogyne* spp.) en el cultivo de okra americana (Abelmoschus esculentus) con Micorriza Vesiculo Arbuscular (VAM), *Trichoderma harzianum, Paecilomyces lilacinus, Pochonia chlamydosporia* y Marigold (Tagetes erecta). Tesis. Zamorano. Honduras. 19p.
24. Daine Hernández- Ochandía, Mayra G. Rodríguez, Belkis Peteira, Ileana Miranda, Yailén Arias, Benedicto Martínez. 2015. Efecto de cepas de Trichoderma asperellum Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg sobre el desarrollo del tomate y Meloidogyne incognita (Kofoid Y White) Chitwood1. Rev. Protección Veg. Vol. 30 No. 2. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) Mayabeque, Cuba.
25. Deacon, JW. 2006. Fungal biology. 4 ed. USA, Blackwell Publishing. p. 240-241.
26. Duarte, M. 2015. Control biológico del nematodo agallador de las raìces de la naranjilla *Meloidogyne* spp mediante aislamientos nativos de hongos nematófagos. Universidad Nacional de Loja. Tesis Ing. Agronómica, Area Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables. Loja, Ecuador.
27. Duncan, L.W.; Phillips, M.S. 2009. Sampling Root-knot Nematodes. En: Perry, R.N;. Moens, M.; Starr, J.L. (Eds.). “Root-knot Nematodes”. CAB International, Wallingford, U.K., pp. 275-300.

28. FAOSTAT 2008: Principales países productores de tomate a nivel mundial. Producción de productos alimenticios agrícolas, disponible en: http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx
29. Flores Herrera, P. R. 2009. Control del nematodo *Meloidogyne* sp. en el cultivo de rosa Rosa sp. Con aplicaciones del hongo *Paecilomyces lilacinus* y materia orgánica en la zona de Tabacundo Provincia de Pichincha. Tesis Ing. Agr. Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Ingeniería Agronómica, Babahoyo, Ec. 106 p
30. French, E.R., Herbert, T. T. 1982. Métodos de investigación fitopatológica. San José, CR, IICA. 175-17p.
31. Gams y Bissett, 1998. Morphology and identification of Trichoderma in: Trichoderma and Gliocladium Vol. 1. 3-31p.
32. Gams, W., R. Zare. 2001. A revision of Verticillium sect. Prostrata. III. (Generic classification). Nova Hedwigia. 72 (3-4): 329-337.
33. Gordillo. 2017. Efectividad de aislados nativos de trichoderma spp., en el control biológico del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood de las raíces de tomate (*Solanum lycopersicum)*. Tesis Ing. Agronómica Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables. Loja, Ecuador
34. Gortari & Roque. 2016. *Purpureocillium lilacinum* LPSC # 876: Producción de conidias en cultivos sobre sustratos sólidos y evaluación de su actividad sobre *Nacobbus aberrans* en plantas de tomate. Revista de la Facultad de Agronomía, Vol. 115 (2). La plata. Argentina.
35. Gunasekera, T., Holland,R., Gillings, M., Briscoe, D., Neethling, D., Williams, K., Nevalainen, K. 2002. Phenotypic and genetic characterization of Paecilomyces lilacinus strains with biocontrol activity against root-knot nematodes. Canadian Journal of Microbiology 46: 775–783.
36. Harman G. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology. 2006; 96 (2):190- 194.

37. Haydock, P.P.J.; Woods, S.R.; Grove, I.G.; Hare, M. 2006. Chemical control of nematodes. En: Perry, R.N.; Moens, M. (Eds). "Plant Nematology". CAB International, Wallingford, UK, pp. 392-410.
38. Hernández- Ochandia, Rodríguez, Peteira, Miranda, Arias, Martínez. 2015. Efecto de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenbergsobre el desarrollo del tomate y *Meloidogyne incognita* (Kofoid Y White) Chitwood.*Rev*. Protección Veg. Vol.30 No. 2. Mayabeque, Cuba.
39. Holdridge, L. R. 1967. Ecología basada en zona de vida. 1 ed. IICA. San José, C.R.
40. Hooper, D.J.; Hallmann, J.; Subbotin, S.A. 2005. Methods for extraction, processing and detection of plant and soil nematodes. En: Luc, M.; Sikora, R. A.; Bridge, J. (Eds.). "Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CAB International, Wallingford, UK, pp. 53-86.
41. Howell, C, R. 2003. Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. Plant Disease 87(1):1-10.
42. Howell, C.R., 2006. Understanding the mechanisms employed by Trichoderma virens to effect biological control of cotton diseases. Phytopathology 96, 178-180.
43. Hunt, D.J.; Luc, M.; Manzanilla, R. 2005. Identification, morphology and biology of plant parasitic nematodes. En: Luc, M.; Sikora, R. A.; Bridge, J. (Eds.). "Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CAB International, Wallingford, UK. pp. 11-52.
44. INEC. 2007. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. III Censo Nacional Agropecuario. Resultados Nacionales y Provinciales. Ecuador.
45. INEC. 2010. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. III Censo Nacional Agropecuario. Resultados Nacionales y Provinciales. Ecuador.
46. INEC. 2015. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. III Censo Nacional Agropecuario. Resultados Nacionales y Provinciales. Ecuador.

47. Infante., Martínez, B., González, N y Reyes, Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* Frente a hongos fitopatógenos. Rev. Protección Veg. 24 (1), 80p.
48. Kaewchai, S; Soytong, K; Hyde, KD. 2009. Mycofungicides and fungal biofertilizers. Fungal Diversity 38: 25-50.
49. Karssen, G. and Moens, M. 2006. Root knot nematodes. En: Plant Nematology (R.N. Perry,M. Moens, eds.). Plant Nematology. CABI publishing, Wallingford, U.K., pp. 59-90.
50. Kiewnick, S., Sikora, R. 2005. Biological control of the root-knot nemato de Meloidogyne incognita by Paecilomyces lilacinus strain 251. Biological control 38:179-187.
51. Kirkegaard, J.A; Akiew, S; Pattison, T; Young, A; Prior, L. 2008. Undestandin mechanism of plant pest suppression using Brassica green manures. Proceedings of 3th International Biofumigation Symposium. Canberra, Australia, 21-25 July 2008. 21 p.
52. Kozakiewicz, Z. 2001. Paecilomyces lilacinus. IMI Descriptions of Fungi and Bacteria No. 1426. CAB International, Egham, Surrey, UK.
53. Leandro, L.F.S., Guzman, T., Ferguson, L.M., Fernández, G.E., Louws, F.J., 2007. Population dynamics of *Trichoderma* in fumigated and compostamended soil and on strawberry roots. Applied Soil Ecology 35, 237–246.
54. López-Llorca, L.V. y Robertson, W.N. (1992). Immuno cytochemical localization of a 32-kDa protease from the nematophagous fungus *Verticillium suchlasporium* in infected nematode eggs. Experimental Mycology, 16: 261-267.
55. Luangsa-ard, J.J.; Houbraken, J.; van Doorn, T.; Hong, S.B.; Borman, A.M.; Hywel-Jones, N.L.; Samson, R.A. 2011. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus. FEMS Microbiol. Lett.* 321: 141-149.
56. Marín M, (2012), Evaluación de la eficacia de diferentes productos en el control de Meloidogyne en el cultivo de tomate, Universidad de Almería, España.

57. Marín M, (2012), Evaluación de la eficacia de diferentes productos en el control de *Meloidogyne* en el cultivo de tomate, Universidad de Almería, Escuela Superior de Ingeniería, Departamento de producción Vegetal, Proyecto de fin de carrera, p156.
58. Mendoza, I., D.A. 2010. Identificación y evaluación de agentes microbiales nativos como potenciales biocontroladores de *Meloidogyne* spp, *Rotylenchulus reniformis* y *Pratylenchus* spp, en tomate *Solanum lycopersicum*). Universidad Técnica de Manabí. Facultada de Ingeniería Agronómica. Tesis, Ing. Agr. Manabí, Ec. 93 p.
59. Moens, M., Perry, R.N. and Starr, J.L., 2009. Meloidogyne species- a Diverse Group of Novel and Important plant parasites. In: Root-Knot Nematodes (Eds. Perry, R.N., Moens, M. and Starr, J.L.). CABI, U.K., pp. 8-9.
60. Morton, O.C., Hirsch, P.R., Peberdy, J.P., Kerry. B.R. (2003). Cloning of and genetic variation in protease VCP1 from the nematophagous fungus Pochonia chlamydosporia. Mycol. Res., 107(1): 38-46.
61. Molina Santos, E. 2006. Manejo de plagas del follaje y patógenos de suelo del cultivo de pascua (Euphorbia pulcherrima Willd ex. Klotzsch) para exportación de esquejes, en la empresa Paul Ecke de Guatemala S.A., San Juan Alotenango, Sacatepéquez. Tesis, Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. p. 22-25, 40-46.
62. Mukhtar, T., Arshad, M., Zameer, M. 2013. Biocontrol potential of Pasteuria penetrans, Pochonia chlamydosporia, Paecilomyces lilacinus and Trichoderma harzianum against Meloidogyne incognita in okra. Phytopathologia Mediterranea 52 (1):66−76.
63. Nyczepir, A.P.; Thomas, S.H. 2009. Current and Future ManagemenStrategies in Intensive Crop Production Systems. En: Perry, R.N;. Moens, M.Starr, J.L. (Eds.) "Root-knot Nematodes" CAB International, Wallingford, U.K.pp 412-443.
64. Orna, A. (2009). Micorrizas en la producción de tomate riñón (*Solanum lycopersicum*) bajo invernadero. Tesis de Ingeniero Agrónomo, Escuela superior politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 67p.

65. Padilla, W., Orozco, M., Esquivel A. 2014. Evaluación in vitro de hongos nematófagos en zonas arroceras de costa rica contra el nematodo agallador *Meloidogyne javanica.* Rev, Agronomía Costarricense. 38 (2). Costarrica. 19 p.
66. Páez, M.E., Albarracin, N. 2007. Evaluación de la capacidad antagónica de *Trichoderma koningii* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. Rev. Fav. Agron. (LUZ). Supl. 1: 27 – 31.
67. PÉREZ, J.M. *et.al*., 2006.*Trichoderma*: alternativa para el control biológico de nematodos en el marco de una agricultura sostenible. Fito sanidad 10 (2):165 p
68. Perry, R.N., Moens, M. and Starr, J.L. (Eds). 2009. Root-Knot nematodes. CABI. Oxfordshide, U.K., 520 pp.
69. Peteira, B., Puertas, A., Hidalgo, L., Hirsch, P.R., Kerry, B.R., Atkins, S.D. (2004). Monitoring a nd assessing the release of two applications of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* and its effect upon root-knot nematode populations in the field. Applied Environmental Microbiology.
70. Pocasangre, LE. 2004. Nuevas estrategias para el manejo de nematodos en musáceas, y otras plagas asociadas al cultivo de las musáceas" celebrado en Guayaquil, Ecuador. 11- 13 de agosto, 2003. Montpelier, FR, INIBAP. 121 p.
71. Plan Estratégico del Centro Binacional de Formación Técnica, Zapotepamba, 2010-2014.
72. Vargas, Amy Wang, Miguel Obregón, Mario Araya. 2015. Efecto de *trichoderma* spp., *paecilomyces lilacinus* y la inyección de nematicida en el pseudotallo en el combate de *radopholus similis* y la producción de banano. Agronomía Costarricense 39(2): 61-76.
73. Regaieg H., et al. 2011. World Journal of Microbiology y Biotecnología. vol. 27 Número 7. Tunecina. 1615 – 1623 p.
74. Revelo, J. 2002. Nematodos parásitos de las plantas. Apuntes de la Cátedra de Fitopatología.

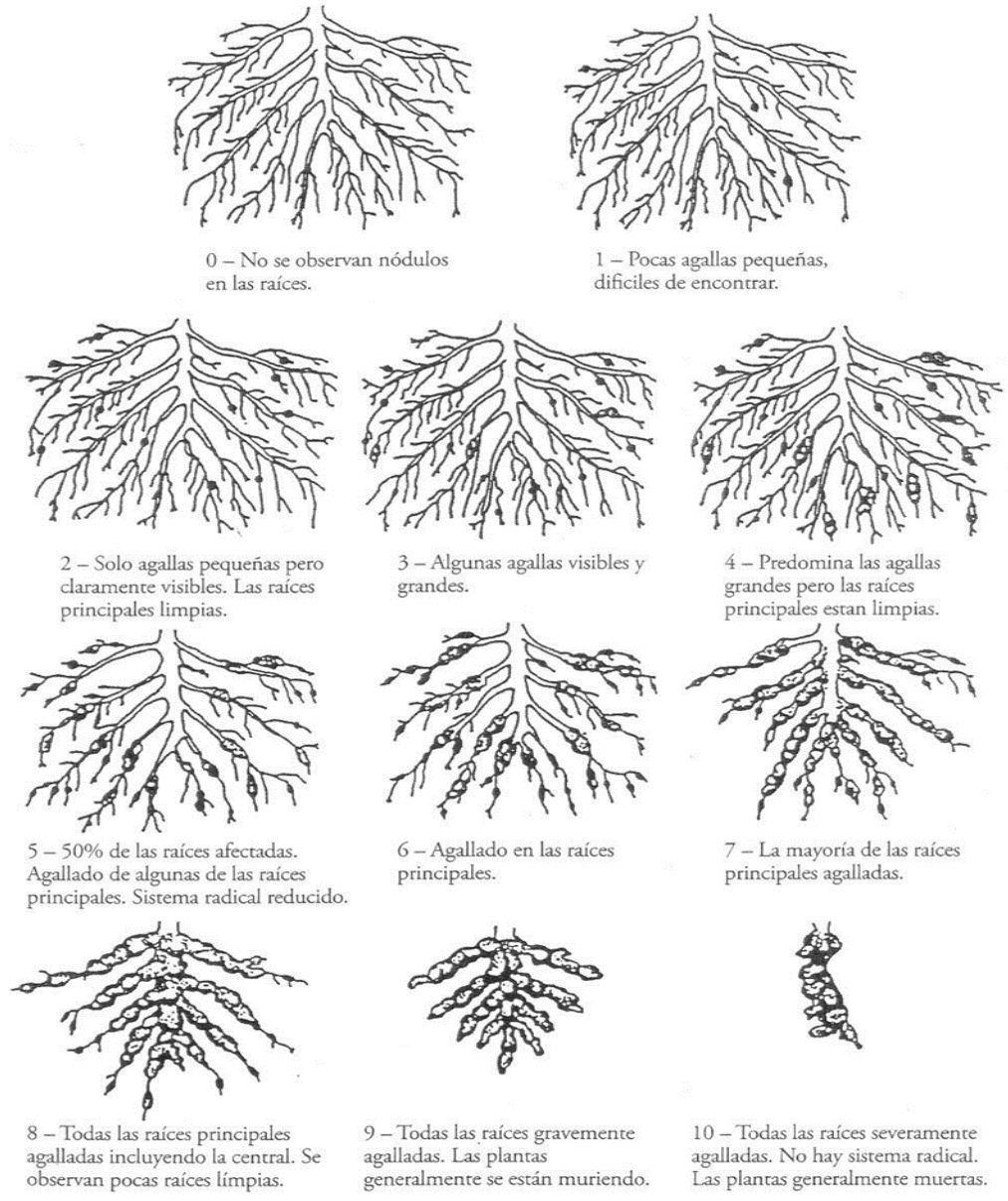
75. Rey, M., Delgado-Jarana, J., Rincón, A., Benítez, T. 2000. Mejora de cepas de *Trichoderma* para su empleo como biofungicida. Revista Iberoamericana de Micologia.
76. Rodríguez, M., Sánchez, L., Gómez, L., Hidalgo, L., González, E., Gómez, M., Díaz, L.,Casanova, A., Cuadra, R., Fernández, E., Hernández, R., 2013.Meloidogyne spp., plagas de las hortalizas: alternativas para su manejo en sistemas de cultivo protegido. Rev. Protección Veg. Vol. 20 (1).
77. Romero, D. 2004. Efectos de aplicación de *Paecilomyces lilacinus* en el control de *Meloidogyne* spp. en pepino. Tesis. Zamorano. Honduras. 32p.
78. Sánchez de Prato, Rodríguez, Sisne, Sierra, Rodríguez Santana. 2016. Efectividad de *trichoderma harzianum* sobre la población de nemátodos fitopatógenos en café (*coffea* arábica l.) En condiciones de vivero. Universidad &Ciencia. Vol. 5, No. 2. Junín, Venezuela.
79. Samson, R.A. (1974). Paecilomyces and some allied Hyphomycetes. Studies in Mycology 6:1.
80. Samuels G.J. (2005). Changes in taxonomy, occurrence of the sexual stage and ecology of Trichoderma spp. Phytopathology 96, 195-206.
81. Samuels, GJ., Chaverri, P., Farr, DF., McCray, EB. 2010. *Trichoderma* Systematic. Disponible en:http://nt.arsgrin.gov/taxadescriptions/keys/Trichodermalndex.cfm.
82. Solano, T.F., Castillo, M., Medina, J., Del Pozo, E. 2014. Efectividad de hongos nematofagos sobre Meloidogyne incognita (Konfoid y White) Chitwood en tomate en condiciones de campo, Loja, Ecuador. Revista Protección Vegetal. Loja – Ecuador. 5p.
83. Solano, T.F. 2012. Los Plaguicidas agrícolas en Ecuador: Impactos en la producción, la salud y el ambiente. Universidad Agraria de la Habana. Monografía 16 p.
84. Sarango, S. Palta, M. 2011. Biocontrol de *Fusarium* spp. en el cultivo de tomate de mesa con *Trichoderma* spp., Universidad Nacional de Loja. Tesis Ing. Agronómica, Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables. Loja, Ecuador. 36p.

85. Taylor, A. y Sasser, J. 1983. Biología, identificación y control de nematodos del nudo de la raíz (especies de *Meloidogyne*) C.I.P USA. Artes gráficas de la Universidad del Estado de Carolina del Norte. 111p.
86. Taylor, A.L. 1971. Publicado por la Guía de la FAO para el estudio y combate de los nematodos parásitos de las plantas. Introducción a la nematología vegetal aplicada 38-41. P
87. Talavera, M., Verdejo, S. 2015. Gestión de nematodos fitoparásitos. Interempresas. Madrid - España.
88. Téllez A, Ayvar S, Mena B, Tejeda A. 2015. Control biológico con *Paecilomyces* spp., de *Meloidogyne incognita* (kof.) Chit. en chile criollo ancho liso. Revista de Sistemas Experimentales. Vol.2 No.4 134-138. Chapingo Estado de México.
89. TRIVIÑO G. C. 2004. El nematodo de la agalla de la nariz en arroz *Meloidogyne graminícola*. Sanidad Vegetal. Quito, Ec.110 p.
90. Vargas, Wang, Obregón, Araya. 2015.Efecto de *trichoderma* spp., *paecilomyces lilacinus* y la inyecciónde nematicida en el pseudotallo en el combatede *radopholus similis* y la producción de banano. Revista Agronomía Costarricense 39(2). Costa Rica.
91. Viggiano, J.; Freitas, L.G.; Lopes, E.A. 2014. Use of *Pochonia chlamydosporia* to control *Meloidogyne javanica* in cucumber. Biological Control 69(1): 72–77.
92. Vinale F, Sivasithamparamb K, Ghisalbertic EL, Marraa R,Woo L, Lorito M. *Trichoderma* plant–pathogen interactions. Soil Biology & Biochemistry. 2008; 40: 1-10.
93. Williamson, V.M.; y Gleason, C.A. 2003. Plant-nematode interactions. Current Opinion in plant Biology 6: 327-33p.

9. ANEXOS.

Anexo 1. Escala de Bridge y Page, para el índice de agallas de *Meloidogyne* spp.

Diagrama del índice de agallas para el nematodo agallador
Cortesía de John Bridge y Sam Page (1980)



Anexo 2. Concentración requerida para todos los Tratamientos. Loja, 2017.

Aislados	Concentración Requerida	N° de esporas/g de sustrato.	Sustrato/ planta (g)
TlL15	2x10 ^{9} esporas/mL *T. longibrachiatum*	240963855	8,3
TatrL16	2x10 ^{9} esporas/mL *T. atroviride*	221238938	9,04
TkT19	2x10 ^{9} esporas/ mL *T. koningii*	330578512	6,05
ThLE26	2x10 ^{9} esporas/ mL *T. harzianum*	227272727	8,8
TvirC27	2x10 ^{9} esporas/ mL *T. viride*	283687943	7,05
Pch-001	2x10 ^{9} esporas/ mL *Pochonia* spp	396039604	5,05
Pch-002	2x10 ^{9} esporas/ mL *Pochonia* spp	317460317	6,3
NZO2(s)V	2x10 ^{9} esporas/ mL *Pochonia* spp	232558139	8,6
Pl-001	2x10 ^{9} esporas/ mL *Purpureocillium* spp	240963855	8,3
Pl-002	2x10 ^{9} esporas/ mL *Purpureocillium* spp	253164557	7,95
Pl-004	2x10 ^{9} esporas/ mL *Purpureocillium* spp	210526315	9,49
Testigo	*Solo nematodos.*		

Anexo 3. Cuadro del efecto de los aislados fúngicos sobre la formación de agallas por *M. incognita* en raíces de tomate en condiciones de campo. Loja, 2017.

ÍNDICE DE AGALLAMIENTO						
TRATAMIENTO	**AISLAMIENTO**	**BLOQUES**				
		I	**II**	**III**	**IV**	**MEDIA**
T1	**TlL15**	5,4	5,4	3	3,5	4,3
T2	**TatrL16**	5	4,1	2,8	4,6	4,1
T3	**TkT19**	7,4	4,9	3,5	2,4	4,6
T4	**ThLE26**	4,9	2,2	2,1	4,3	3,4
T5	**TvirC27**	7,2	5,3	3,2	5,3	5,3
T6	**Pch-001**	7	3,6	5,6	3,9	5,0
T7	**Pch-002**	5,4	5,3	2,6	2,6	4,0
T8	**NZO2(s)V**	7,2	2	3,6	4,4	4,3
T9	**Pl-001**	4,6	5,2	3,8	3,7	4,3
T10	**Pl-002**	7	4,6	5,4	5,8	5,7
T11	**Pl-004**	3,4	5,6	2,5	3,1	3,7
T12	**T00**	8,7	8,5	9	9	8,8

Anexo 4. Cuadro del efecto de los aislados fúngicos sobre población de J_2 en 10 g de raíces en *tomate*. Loja, 2017.

POBLACIÓN DE J_2 EN 10 g DE RAICES						
TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	BLOQUES				MEDIA
		I	II	III	IV	
T1	**TlL15**	568,9	239,0	490,8	353,1	412,9
T2	**TatrL16**	526,5	888,1	411,1	910,0	683,9
T3	**TkT19**	68,3	571,5	97,3	906,3	410,8
T4	**ThLE26**	205,6	108,8	142,6	212,0	167,3
T5	**TvirC27**	257,1	154,4	74,3	111,2	149,3
T6	**Pch-001**	492,3	302,1	272,0	195,7	315,5
T7	**Pch-002**	682,5	300,1	234,8	385,3	400,7
T8	**NZO2(s)V**	366,7	513,5	749,1	506,0	533,8
T9	**Pl-001**	585,9	1279,8	837,1	750,9	863,4
T10	**Pl-002**	283,2	212,5	397,8	851,0	436,1
T11	**Pl-004**	265,8	462,3	368,8	604,7	425,4
T12	**T00**	1417,1	1662,6	885,9	853,2	1204,7

Anexo 5. Cuadro del efecto de aislamientos de *Trichoderma* spp., sobre población de J_2 en 100 cc de suelo en condiciones de campo. Loja, 2017.

J_2 EN 100 cc DE SUELO						
TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	BLOQUES				MEDIA
		I	II	III	IV	
T1	**TlL15**	53,8	36,5	95,5	70,7	64,1
T2	**TatrL16**	25,7	41,3	53,6	117,8	59,6
T3	**TkT19**	80,4	26,6	43,3	27,7	44,5
T4	**ThLE26**	50,3	49,3	45,3	56,7	50,4
T5	**TvirC27**	177,0	23,0	63,3	56,7	80,0
T6	**Pch-001**	48,3	52,2	57,4	66,5	56,1
T7	**Pch-002**	176,8	69,8	103,9	111,6	115,5
T8	**NZO2(s)V**	33,5	11,7	87,8	57,5	47,6
T9	**Pl-001**	170,4	31,7	52,3	27,7	70,5
T10	**Pl-002**	88,8	30,5	53,9	21,2	48,6
T11	**Pl-004**	62,4	14,6	39,8	31,6	37,1
T12	**T00**	224,8	72,7	168,1	170,3	159,0

Anexo 6. Cuadro del efecto de aislados fúngicos sobre la variable altura de plantas en tomate, en campo. Loja, 2017.

ALTURA DE PLANTAS (cm)						
TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	BLOQUES				MEDIA
		I	II	III	IV	
T1	TlL15	80,4	65,4	64,2	74,1	71,0
T2	TatrL16	76,5	85,1	78,2	61	75,2
T3	TkT19	81,4	77,8	70,4	82,4	78,0
T4	ThLE26	83,3	79,3	70,8	76,7	77,5
T5	TvirC27	75,1	64,1	73,2	64,3	69,2
T6	Pch-001	71,7	73,7	74,5	75,1	73,8
T7	Pch-002	77,2	75,1	74,7	77,2	76,1
T8	NZO2(s)V	65,5	63,7	75,1	76,8	70,3
T9	Pl-001	74,8	73,8	75	75	74,7
T10	Pl-002	81,3	83,6	83,6	85,4	83,5
T11	Pl-004	70,6	71,3	69,9	68,8	70,2
T12	T00	69,7	68,3	71	66,9	69,0

Anexo 7. Cuadro del efecto de los aislados fúngicos, sobre la variable biomasa foliar de plantas en tomate, en campo. Loja, 2017.

PESO BIOMASA FOLIAR (g)						
TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	BLOQUES				MEDIA
		I	II	III	IV	
T1	TlL15	384,2	362,0	355,0	372,1	368,3
T2	TatrL16	304,6	188,0	218,0	231,0	235,4
T3	TkT19	389,4	367,3	343,9	388,6	372,3
T4	ThLE26	196,7	230,5	238,7	222,6	222,1
T5	TvirC27	257,0	279,3	273,9	262,7	268,2
T6	Pch-001	239,8	246,0	252,2	234,7	243,2
T7	Pch-002	272,9	267,2	260,2	283,6	271,0
T8	NZO2(s)V	360,5	351,7	336,6	365,4	353,6
T9	Pl-001	111,3	133,3	121,9	117,9	121,1
T10	Pl-002	185,4	174,2	172,0	198,0	182,4
T11	Pl-004	332,2	322,9	323,3	317,2	323,9
T12	T00	262,6	259,6	268,6	232,7	255,9

Anexo 8. Cuadro del efecto de aislados fúngicos sobre el peso de la biomasa radicular en plantas de tomate, en campo. Loja, 2017.

PESO BIOMASA RADICULAR (g)						
TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	BLOQUES				MEDIA
		I	II	III	IV	
T1	TlL15	78,8	81,5	50,1	51,8	65,5
T2	TatrL16	63,4	70,1	30,6	46,3	52,6
T3	TkT19	100,5	66,7	49,5	33,1	62,4
T4	ThLE26	80,1	45,8	27,0	52,5	51,3
T5	TvirC27	100,9	84,6	44,5	55,0	71,3
T6	Pch-001	77,5	52,0	62,2	50,3	60,5
T7	Pch-002	75,1	69,4	40,9	46,3	57,9
T8	NZO2(s)V	111,1	48,8	29,6	51,1	60,1
T9	Pl-001	42,8	66,1	39,2	49,6	49,4
T10	Pl-002	79,5	65,1	47,9	62,9	63,8
T11	Pl-004	62,2	90,9	37,5	33,7	56,1
T12	T00	105,8	145,4	100,6	65,3	104,3

Anexo 9. Cuadro del efecto de aislamientos de los aislados fúngicos sobre la variable peso de frutos en plantas de tomate, en campo. Loja, 2017.

PESO DE FRUTOS (g)						
TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	BLOQUES				MEDIA
		I	II	III	IV	
T1	TlL15	849,1	852,4	843,9	850,9	849,1
T2	TatrL16	1279,3	1273,1	1288,5	1288,5	1279,0
T3	TkT19	1024,5	1021,0	1021,6	1021,6	714,7
T4	ThLE26	755,2	718,2	747,4	722,2	713,5
T5	TvirC27	8,98,6	903,7	907,2	912,6	905,5
T6	Pch-001	997,2	992,6	990,4	990,0	992,5
T7	Pch-002	1050,7	1041,0	721,5	715,5	759,8
T8	NZO2(s)V	1112,0	1147,0	723,4	740,1	780,2
T9	Pl-001	930,8	932,9	925,9	930,6	930,1
T10	Pl-002	1100,9	1111,3	1096,9	1121,3	1107,6
T11	Pl-004	522,2	535,8	556,3	555,9	542,5
T12	T00	511,4	497,0	500,4	493,2	500,5

Anexo 10. Cuadro del efecto de aislados fúngicos sobre la variable parasitismo en huevos. Loja, 2017.

PARASITISMO EN HUEVOS						
TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	BLOQUES				MEDIA (%)
		I	II	III	IV	
T1	TlL15	13,8	20,4	27,8	17,5	19,9
T2	TatrL16	38,4	31,3	22,4	28,7	30,2
T3	TkT19	5,1	7,3	5,3	6,5	6,1
T4	ThLE26	54,6	38,0	47,3	33,2	43,3
T5	TvirC27	30,9	42,6	38,7	30,5	35,7
T6	Pch-001	35,9	45,7	33,5	43,0	39,5
T7	Pch-002	100,0	50,5	42,6	46,0	59,8
T8	NZO2(s)V	47,5	36,4	44,0	35,6	40,9
T9	Pl-001	12,5	11,5	14,9	19,4	14,6
T10	Pl-002	33,5	30,0	33,9	40,9	34,6
T11	Pl-004	14,8	13,1	12,4	17,6	14,5
T12	T00	0	0	0	0	0

Anexo 11. Cuadro del efecto de aislados fúngicos sobre la variable parasitismo en J_2. Loja, 2017.

PARASITISMO EN J_2						
TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	BLOQUES				MEDIA (%)
		I	II	III	IV	
T1	TlL15	27,1	33,3	34,7	26,9	30,5
T2	TatrL16	33,2	30,9	26,8	29,7	30,1
T3	TkT19	1,7	0,0	1,8	0,0	0,9
T4	ThLE26	33,3	31,9	32,6	38,9	34,2
T5	TvirC27	27,8	33,3	27,0	34,7	30,7
T6	Pch-001	5,1	4,4	7,4	7,4	6,1
T7	Pch-002	3,7	3,7	8,3	5,6	5,3
T8	NZO2(s)V	7,3	5,9	5,6	8,3	6,8
T9	Pl-001	5,6	8,3	5,6	8,3	6,9
T10	Pl-002	5,6	8,3	5,6	8,3	6,9
T11	Pl-004	62,0	41,6	44,4	38,9	46,7
T12	T00	0	0	0	0	0

Anexo 12. Cuadro UFC de aislados fúngicos en condiciones de campo. Loja, 2017.

Unidades Formadoras de Colonias (UFC)						
TRATAMIENTO	AISLAMIENTO	BLOQUES				MEDIA
		I	II	III	IV	
T1	**TlL15**	1,7	3,0	2,3	3,0	2,5
T2	**TatrL16**	1,3	2,3	2,7	2,0	2,1
T3	**TkT19**	2,0	2,0	2,3	1,3	1,9
T4	**ThLE26**	0,7	1,0	1,3	0,3	0,8
T5	**TvirC27**	4,0	2,3	3,0	2,0	2,8
T6	**Pch-001**	2,7	2,0	2,0	2,0	2,2
T7	**Pch-002**	3,7	2,7	2,3	2,0	2,7
T8	**NZO2(s)V**	2,0	1,7	2,0	1,7	1,8
T9	**Pl-001**	1,7	1,3	1,0	2,0	1,5
T10	**Pl-002**	2,0	1,7	2,0	2,0	1,9
T11	**Pl-004**	0,3	0,3	0,3	0,0	0,3
T12	**T00**	0	0	0	0	0

Anexo 13. Reactivación y masificación de los aislados fungicos.

Figura 4. Reactivación y masificación de los aislados fungicos. **a)** Siembra de las cepas de aislados fúngicos TIL15**. b)** sustrato de arroz colonizado. Loja, 2017.

Anexo 14. Preparación de semilleros para la fase de campo.

Figura 5. Preparación de semilleros para la fase de campo. **a)** Preparación de semillero. **b)** plántulas de *Solanum lycopersicum* L. var. Caribe. Loja, 2017.

Anexo 15. Establecimiento del terreno en el ensayo en campo.

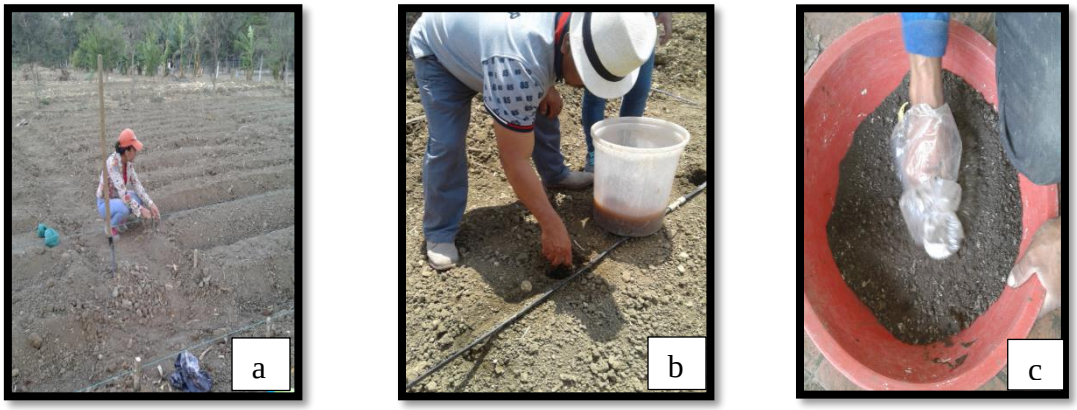


Figura 6. Establecimiento del terreno en el ensayo en campo. **a)** Trazado del terreno del ensayo en campo. **b)** Aplicación del patógeno en el suelo en el ensayo de campo y **c)** Mezcla de los hongos nematófago con M.O. Loja, 2017.

Anexo 16. Establecimiento del ensayo en campo.

Figura 7. Cultivo de tomate de dos meses de edad. CBFT-Z, cantón Paltas, Loja, 2017.

Anexo 17. Socialización de resultados.

Figura 8. Día de campo; socialización de resultados obtenidos en el ensayo realizado, en el CBFT-Z, cantón Paltas, Loja, 2017.

Anexo 18. Parasitismos de larvas J_2 y huevos de *Meloidogyne incognita.*

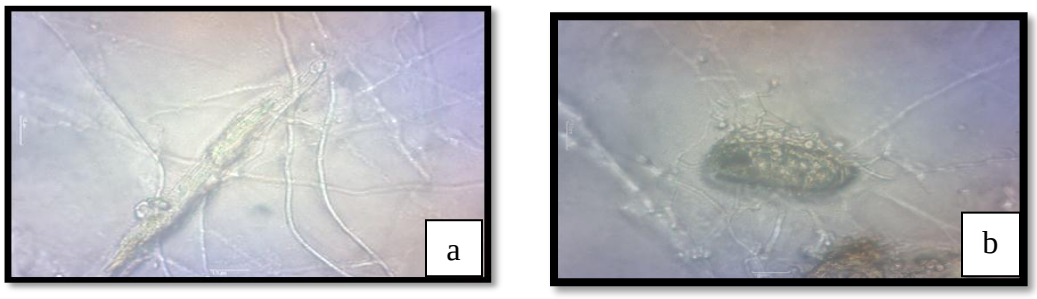


Figura 9. Parasitismos de larvas J_2 y huevos de *Meloidogyne incognita*. **a)** Parasitismo del aislado Pl-002 en J_2 de *Meloidogyne incognita.* **b)** Parasitismo del aislado Pch-002 en huevos de *Meloidogyne incognita.*