

EVALUACIÓN DE LOS HONGOS *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus* EN EL CONTROL DE *Meloidogyne* spp. EN LULO (*Solanum quitoense*) Y TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betacea*).

DIANA MARIA LORA VILLARREAL

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
INGENIERIA AGRONÓMICA
PASTO – COLOMBIA
2006

EVALUACIÓN DE LOS HONGOS *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus* EN EL CONTROL DE *Meloidogyne* spp. EN LULO (*Solanum quitoense*) Y TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betacea*).

DIANA MARIA LORA VILLARREAL

TESIS DE GRADO PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO

PRESIDENTE DE TESIS
I.A. M. Sc. CARLOS ARTURO BETANCOURT GARCIA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
INGENIERIA AGRONÓMICA
PASTO – COLOMBIA
2006

APROBACIÓN

El trabajo de tesis desarrollado bajo el nombre de “EVALUACIÓN DE LOS HONGOS *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus* EN EL CONTROL DE *Meloidogyne* spp. EN LULO (*Solanum quitoense*) Y TOMATE DE ÁRBOL (*Solanum betacea*)”, presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo, fue **APROBADO** por su director y el jurado calificador.

Atentamente,

I.A. M. Sc. Claudia Salazar
Jurado de tesis

I.A. M. Sc. Jaime Benavides
Jurado de tesis

I.A. M. Sc. Luis Alfredo Molina
Jurado de Tesis

San Juan de Pasto, 1 de septiembre de 2006.

Dedicado a:

A mi hija Gabriela, a mis padres, hermanos, familia y amigos.

Diana Maria Lora.

AGRADECIMIENTOS

El autor Diana Maria Lora Villarreal agradece a:

A mis padres, Javier Lora y Fanny Villarreal, por su esfuerzo, dedicación y apoyo en todo momento de mi vida.

I.A. M. Sc. Carlos Betancourt, por brindarme sus conocimientos, su colaboración y amistad durante el desarrollo de esta investigación.

I.A. M. Sc. Marino Rodríguez, por sus enseñanzas, su amistad y asesoría brindada durante el desarrollo de esa investigación.

A mis compañeros y amigos, Juliana Obando y Fernando García, por su grandiosa colaboración y apoyo brindado en el transcurso de mi carrera.

A Jaime Salazar, por brindarme su apoyo durante el desarrollo de esta investigación.

A las personas que directa o indirectamente colaboraron para poder culminar este trabajo de grado.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	18
1. MARCO TEORICO	20
1.1 IMPORTANCIA SOCIECONOMICA DE TOMATE DE ARBOL (<i>Solanum betacea</i> y LULO (<i>Solanum quitoense</i>)	20
1.2 DESCRIPCION DEL NEMATODO DEL NUDO RADICAL <i>Meloidogyne</i> spp.	21
1.2.1 Clasificación taxonómica	22
1.2.2 Parasitismo y sintomatología	22
1.3 MANEJO Y CONTROL DE LA ENFERMEDAD	23
1.3.1 Control cultural	24
1.3.2 Control físico	27
1.3.3 Control químico	28
1.3.4 Control biológico	30
1.3.4.1 Bacterias	30
1.3.4.2 Protozoarios	30
1.3.4.3 Insectos	31
1.3.4.4 Hongos	32
1.3.4.4.1 Hongos parásitos	32
1.3.4.4.2 Hongos depredadores	37

2.	DISEÑO METODOLÓGICO	38
2.1	LOCALIZACIÓN	38
2.2	MATERIAL VEGETAL	38
2.2.1	Recolección de material infectado por <i>Meloidogyne</i> spp.	38
2.2.2	Transporte y conservación de muestras	40
2.3	FASE DE LABORATORIO	40
2.3.1	Inóculo de los hongos <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Paecilomyces lilacinus</i>	40
2.3.1.1	Multiplicación de <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Paecilomyces lilacinus</i>	40
2.3.1.2	Preparación del inóculo	41
2.3.2	Obtención de hembras de <i>Meloidogyne</i> spp.	41
2.3.3	Pruebas de patogenicidad <i>in vitro</i>	42
2.3.3.1	Inoculación del hongo sobre hembras de <i>Meloidogyne</i> spp.	42
2.3.4	Diseño experimental	42
2.3.5	Variable evaluada	42
2.3.6	Análisis estadístico	43
2.4	Fase de invernadero	43
2.4.1	Propagación del material vegetal de tomate de árbol y lulo	43
2.4.2	Inóculo de los hongos <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Paecilomyces lilacinus</i>	43
2.4.3	Obtención de huevos de <i>Meloidogyne</i> spp.	44
2.4.4	Pruebas de patogenicidad en invernadero	44
2.4.4.1	Inoculación de los hongos	44

2.4.4.2	Inoculación de <i>Meloidogyne</i> spp.	44
2.4.5	Diseño experimental	44
2.4.6	Variable evaluada	45
2.4.7	Análisis estadístico	47
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
3.1	FASE DE LABORATORIO	48
3.1.1	Inóculo de los hongos <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> y <i>Paecilomyces lilacinus</i>	48
3.1.2	Multiplicación de los hongos	50
3.1.3	Pruebas de patogenicidad <i>in vitro</i>	50
3.1.3.1	Parasitismo de los hongos en hembras de <i>Meloidogyne</i> spp.	50
3.2	FASE DE INVERNADERO	57
3.2.1	Pruebas de patogenicidad en invernadero	57
3.2.1.1	Evaluación de los índices y porcentajes de infección por <i>Meloidogyne</i> spp.	57
3.2.1.1.1	Tomate de árbol	59
3.2.1.1.2	Lulo	64
4.	CONCLUSIONES	69
	RECOMENDACIONES	70
	BIBLIOGRAFIA	71
	ANEXOS	77

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Escala de infección radical (Sasser y Taylor, 1983).	47

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Cultivo de lulo afectado por <i>Meloidogyne</i> spp., nótese las áreas vacías a causa de la muerte por la planta.	39
Figura 2. Plantas de tomate de árbol presentado síntomas aéreos típicos del ataque del nematodo <i>Meloidogyne</i> spp.	39
Figura 3. Raíces de tomate de árbol (a) y lulo (b) afectadas por <i>Meloidogyne</i> spp., nótese la presencia de nudos radicales.	40
Figura 4. Índice y porcentaje de infestación radical en tomate de árbol y lulo por <i>Meloidogyne</i> spp.	46
Figura 5. Colonia de <i>Beauveria bassiana</i>	48
Figura 6. Colonia de <i>Metarhizium anisopliae</i>	49
Figura 7. Colonia de <i>Paecilomyces lilacinus</i>	49
Figura 8. <i>Paecilomyces lilacinus</i> (a), <i>Metarhizium anisopliae</i> (b), y <i>Beauveria bassiana</i> (c) multiplicados en botellas de vidrio de boca ancha en sustrato de arroz.	50
Figura 9. Hembra de <i>Meloidogyne</i> spp. colonizada por <i>Metarhizium anisopliae</i> (a), obsérvese la abundante proliferación de esporas penetrando a través de la cutícula de la hembra (b).	53
Figura 10. Hembra de <i>Meloidogyne</i> spp. destruida a causa del parasitismo de <i>Metarhizium anisopliae</i> , obsérvese la abundante proliferación de esporas y agregado micelial interno y externo del hongo.	53
Figura 11. Conidioforos de <i>M. anisopliae</i> sobre la hembra de <i>Meloidogyne</i> spp.	54

Figura 12.	Esporas de <i>B. bassiana</i> formando una red que entra en contacto con la superficie de la hembra (a), posteriormente penetra a la hembra (b) y reemplaza con sus estructuras el contenido interno de este (c).	54
Figura 13.	Conidioforos del hongo <i>Paecilomyces lilacinus</i> sobre la cutícula de la hembra de <i>Meloidogyne</i> spp.	56
Figura 14.	Hembra de <i>Meloidogyne</i> spp. con abundante agregado micelial interno y externo de <i>Paecilomyces lilacinus</i> .	56
Figura 15.	Raíces de tomate de árbol con porcentajes de infección radical entre 0 y 60%.	58
Figura 16.	Raíces de lulo con porcentajes de infección radical entre 0 y 60%.	58
Figura 17.	Raíces de tomate de árbol con el efecto de seis tratamientos.	59
Figura 18.	Raíces testigo de tomate de árbol después de la inoculación de <i>Meloidogyne</i> spp.	60
Figura 19.	Raíces testigo de tomate de árbol después de aplicado el tratamiento <i>M. anisopliae</i> inoculado diez días antes de <i>Meloidogyne</i> spp.	60
Figura 20.	Raíces testigo de tomate de árbol con el tratamiento <i>P. lilacinus</i> aplicado diez días antes de inoculado <i>Meloidogyne</i> spp.	62
Figura 21.	Raíces de tomate de árbol con el tratamiento <i>M. anisopliae</i> aplicado diez días después de inoculado <i>Meloidogyne</i> spp.	63
Figura 22.	Raíces de lulo con el efecto de tres tratamientos: (a) <i>P. lilacinus</i> , (b) <i>M. anisopliae</i> y (c) <i>B. bassiana</i> aplicado diez días antes de la inoculación de <i>Meloidogyne</i> spp.	64
Figura 23.	Raíces de lulo con un porcentaje de infección radical igual al 15% después de aplicado el tratamiento <i>P. lilacinus</i> aplicado diez días después de inoculado <i>Meloidogyne</i> spp.	67
Figura 24.	Raíces de lulo con porcentajes de infección radical de 30 y 35% después de aplicado el tratamiento <i>B. bassiana</i> aplicado diez días después de inoculado <i>Meloidogyne</i> spp.	67

Figura 25. Raíces de lulo con porcentajes de infección radical de 15, 20 68 y 25% después de aplicado el tratamiento *M. anisopliae* aplicado diez días después de inoculado *Meloidogyne* spp.

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Tabla 2. Porcentaje de parasitismo de los hongos <i>M. anisopliae</i> , <i>P. lilacinus</i> y <i>B. bassiana</i> sobre hembras de <i>Meloidogyne</i> spp. observado a nivel de laboratorio.	77
Tabla 3. Análisis de variancia del porcentaje de parasitismo de los hongos <i>M. anisopliae</i> , <i>P. lilacinus</i> y <i>B. bassiana</i> sobre hembras de <i>Meloidogyne</i> spp. a nivel de laboratorio.	77
Tabla 4. Comparación de promedios de parasitismo de los hongos <i>M. anisopliae</i> , <i>P. lilacinus</i> y <i>B. bassiana</i> mediante la prueba de Tukey a nivel de laboratorio.	77
Tabla 5. Análisis de variancia de los porcentajes de infección radical presentados en raíces de tomate de árbol después de aplicados los tratamientos <i>M. anisopliae</i> , <i>P. lilacinus</i> y <i>B. bassiana</i> diez días antes y diez días después de inoculado <i>Meloidogyne</i> spp.	78
Tabla 6. Comparación de promedios de los porcentajes de infección radical presentados en raíces de tomate de árbol después de aplicados los tratamientos <i>M. anisopliae</i> , <i>P. lilacinus</i> y <i>B. bassiana</i> diez días antes y diez días después de inoculado <i>Meloidogyne</i> spp. mediante la prueba de Tukey.	78
Tabla 7. Análisis de variancia de los porcentajes de infección radical presentados en raíces de lulo después de aplicados los tratamientos <i>M. anisopliae</i> , <i>P. lilacinus</i> y <i>B. bassiana</i> diez días antes y diez días después de inoculado <i>Meloidogyne</i> spp.	79
Tabla 8. Comparación de promedios de los porcentajes de infección radical presentados en raíces de lulo después de aplicados los tratamientos <i>M. anisopliae</i> , <i>P. lilacinus</i> y <i>B. bassiana</i> diez días antes y diez días después de inoculado <i>Meloidogyne</i> spp. mediante la prueba de Tukey.	79

RESUMEN

El género de las Solanáceas, es muy susceptible al ataque de nematodos fitoparásitos, tal es el caso del tomate de árbol y lulo. Su control con productos nematicidas aumenta significativamente los costos de producción y en algunas ocasiones no ofrece reducción de la población y recuperación de las plantas. Con el fin de brindar nuevas alternativas en el manejo de nematodos se evaluó el efecto de los hongos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus* en el control de *Meloidogyne* spp. tanto en laboratorio como en invernadero.

En la fase de laboratorio en cajas petri con medio de cultivo PDA, que contenían 20 hembras de *Meloidogyne* spp., se evaluó el porcentaje de parasitismo de los hongos *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. lilacinus*, a una concentración de 5×10^8 conidias/ml, siete días después, los resultados indicaron que todos presentaron porcentajes de parasitismo de 82.32, 74.65 y 73.11% respectivamente y son estadísticamente iguales al 99%.

En invernadero, en plantas de tomate de árbol y lulo de 30 días de edad, se aplicaron siete tratamientos los cuales correspondieron a los hongos *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. lilacinus*, aplicados diez días antes y diez días después de la inoculación de *Meloidogyne* spp. y a un testigo no tratado. Dos meses después de las inoculaciones se observó tanto en lulo como en tomate de árbol que el único tratamiento que no presentó control fue en el que se utilizó *B. bassiana* diez días después de inoculado *Meloidogyne* spp., los demás tratamientos presentaron a nivel del 95% de probabilidad estadística cierto grado de control de *Meloidogyne* spp.

En tomate de árbol, el mejor tratamiento fue en el que se utilizó *M. anisopliae* aplicado diez días antes de la inoculación del nematodo con un porcentaje promedio de infección radical igual a 18.23%, este tratamiento presentó diferencias estadísticas con respecto al testigo, a *B. bassiana* aplicado después y a *P. lilacinus* aplicado antes de la inoculación de *Meloidogyne* spp. a nivel de 95% de probabilidad estadística.

Sin embargo, en tomate de árbol, la aplicación de *M. anisopliae* aún aplicado después de inocularse *Meloidogyne* spp., presentó baja infección de raíces con un promedio de 29.63%.

En lulo, *P. lilacinus* aplicado antes de la inoculación del nematodo con un porcentaje promedio de infección radical igual a 5.13 %, fue el mejor tratamiento, presentando diferencias estadísticas a nivel de 95% con respecto al testigo, a *B. bassiana* y a *M. anisopliae* aplicados diez días después de la inoculación de *Meloidogyne* spp.

En esta misma especie, *P. lilacinus* aún aplicado diez días después de la inoculación del nematodo, presentó control sobre la enfermedad, con un promedio de 15.74% de infección radical, similar estadísticamente al nivel de 99% de probabilidad a los tratamientos en los que se aplicaron los hongos *M. anisopliae* y *B. bassiana* antes del nematodo, los cuales presentaron porcentajes de 10.45 y 15.75% de infección radical respectivamente.

ABSTRACT

The genus of the Solanaceae, is very susceptible to attack of root-knot genus nematode, such it is the case of the species *Solanum betacea* and *Solanum quitoense*. Its control with products chemicals nematicide increases the production costs significantly and in some occasions it doesn't offer the population's reduction and recovery of the plants. With the purpose of offering new alternatives in the management of nematodes, the effect of the fungus *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces lilacinus* it was evaluated in the control of *Meloidogyne* spp. both in laboratory as in greenhouse.

In Petri dishes with PDA, that contained 20 females of *Meloidogyne* spp., the percentage of parasitism of the fungus *B. bassiana*, *M. anisopliae* and *P. lilacinus* to a concentration of 5×10^8 conidias/ml, was evaluated seven days later, the results indicated that all presented percentages of parasitism of 82.32, 74.65 and 73.11% respectively and they are statistically similar to 99%.

In greenhouse, plants of *Solanum betacea* and *Solanum quitoense* of 30 days of age, seven treatments those were applied, which corresponded to the fungus *B. bassiana*, *M. anisopliae* and *P. lilacinus*, applied ten days before and ten days after the inoculation of *Meloidogyne* spp. and a control non treatment. Two months after the inoculations it was observed, as in *Solanum quitoense* as in *Solanum betacea*, that only treatment that didn't present control was in the one that *B. bassiana* was used ten days after having inoculated *Meloidogyne* spp., the other treatments presented at level of 95% of statistical probability control of *Meloidogyne* spp.

In *Solanum betacea*, the best treatment was *M. anisopliae* applied ten days before the inoculation of the nematode with a percentage average of radical infection of 18.23%, it presented statistical differences with regard to the control, to *B. bassiana* applied later and to *P. lilacinus* applied before the inoculation of *Meloidogyne* spp. at level of 95% of statistical probability.

However, in *Solanum betacea*, the application of *M. anisopliae* even applied after the inoculation of *Meloidogyne* spp., presented low infection of roots with average of 29.63%.

In *Solanum quitoense*, *P. lilacinus* applied before the inoculation of the nematode with a percentage average of radical infection equal to 5.13%, it was the best treatment, it presented statistical differences with regard to the control, to *B. bassiana* and *M. anisopliae* applied ten days after the inoculation of *Meloidogyne* spp.

In this specie same, *P. lilacinus* even applied ten days after the inoculation of the nematode it presented control of *Meloidogyne* spp., with an average of 15.74% of radical infection, similar statistically at the level of 99% of probability to the treatments in those that the fungus *M. anisopliae* and *B. bassiana* ten days before of the nematode, those which presented averages of 10.45 y 15.75 % of radical infection respectively.

INTRODUCCION

Entre los géneros de nematodos, *Meloidogyne* es considerado el de mayor importancia económica a escala mundial, por su amplia distribución y su capacidad de atacar una amplia gama de especies de cultivos¹.

Recientes estudios afirman que en el norte del Departamento de Nariño, se encuentran especies del nematodo como *M. incognita*, *M. hapla*, *M. exigua* y *M. arenaria*, afectando cultivos de tomate de árbol y lulo, en donde, *M. incognita* es considerada como la especie de mayor frecuencia y distribución en esta zona².

En Nariño, estos cultivos, se han convertido en componentes de un sistema de producción rentable y competitivo y una importante fuente de sustento para al menos 1000 familias del Departamento, ya que según el último consolidado agrícola, existen 634 y 611 ha de tomate de árbol y lulo respectivamente³.

Sin embargo, la rentabilidad de estos se ve afectada por el inadecuado manejo que los agricultores hacen de diversas plagas y enfermedades. Entre las cuales, el nematodo *Meloidogyne* spp., causante del nudo radical, en los últimos años, se ha convertido en una de las enfermedades que ocasiona mayor disminución de los rendimientos, ya que causa daños irreversibles al sistema radical de la planta afectando su desarrollo y producción⁴.

¹ CAMPOS, V., SIVAPALAN, P., GNAPRAGASAM, N. Nematodes parasites of coffee, cocoa and tea. In: Luc, M., SIKORA, R. AND BRIDGE, S. Eds. Plant parasitic Nematodes in subtropical and tropical agriculture. St. Albans. C.A.B. International. Institute of Parasitology, 1990. p 387 – 401.

² GARCIA, F. Y OBANDO, J. Reconocimiento de especies de *Meloidogyne* en tomate de árbol y lulo en la zona norte del departamento de Nariño. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias agrícolas, Pasto, 2005. 57 p.

³ COLOMBIA. Ministerio de Agricultura y Desarrollo rural, Gobernación de Nariño, Secretaria de Agricultura y Medio Ambiente. Consolidado Agropecuario. Nariño, 2005. 71p.

⁴ GAVIRIA, W. Y BURBANO, L. Etiología de los problemas radicales en lulo (*Solanum quitoense*) en la zona Norte del Departamento de Nariño. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias agrícolas, Pasto, 2005.

Bajo estas condiciones de la planta, los productos químicos de acción sistémica no son absorbidos ni traslocados por el sistema radical atrofiado por el nematodo y los productos de contacto reducen solo provisionalmente las poblaciones existentes en el suelo.⁵

La fuerte agresividad del nematodo, así como su importancia económica, requiere que las medidas de control que se apliquen, involucren todo el entorno donde él se desarrolla, buscando así conformar una propuesta de manejo integrado que integre no solo al nematodo como tal, sino también sus relaciones con el ambiente y sus hospedantes y que sirva de modelo para otros cultivos donde el nematodo es de importancia económica⁶.

Con respecto a lo anterior, existe en el suelo la presencia natural de microorganismos entre los que se destacan, a los hongos capaces de infectar diferentes estados del ciclo de vida de *Meloidogyne* spp.⁷ Entre estos se pueden mencionar especies como *Paecilomyces lilacinus*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium chlamydosporium*, *Dactylella oviparasitica* y *Monacrosporium ellisporium*, los cuales han dado resultados eficientes en el control del nematodo del nudo radical⁸.

Teniendo en cuenta que hasta el momento, en el Departamento de Nariño no existen recomendaciones de control lo suficientemente eficientes para manejar los problemas causados por *Meloidogyne* spp. se realizó el presente trabajo, cuyo objetivo general fue el de brindar nuevas alternativas competitivas y sostenibles mediante el control biológico en la solución de este problema fitosanitario. Se pretendió así mismo, evaluar el efecto de parasitismo de las especies de hongos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus* sobre *Meloidogyne* spp. a nivel de laboratorio e invernadero, en los cultivos anteriormente mencionados.

⁵ LEGUIZAMON, J. Efecto de *Meloidogyne* spp. en plantaciones establecidas de café var. Caturra. In: Informe anual de actividades, disciplina fitopatología. Chinchiná (Colombia), Cenicafé. 1994. 248 – 252 pp.

⁶ GIRALDO, M. A., LEGUIZAMON, T. Evaluación de *Paecilomyces lilacinus* para el control de *Meloidogyne* spp. en almácigos de café var. Caturra. In: Fitopatología Colombiana, 21(2), 1997. 104 – 117 pp.

⁷ SAÑUDO, B., ARTEAGA, M., VALLEJO, W., AREVALO, R. Y BURBANO, E. Fundamentos de micología agrícola. Universidad de Nariño, Pasto, 2001. 201 p.

⁸ MAÑUZCA, A., VARON, F. Identificación y evaluación de organismos fungosos como posibles agentes biocontroladores de *Meloidogyne* spp. Fitopatología colombiana. 25 (1), 2001. 33 – 38 pp.

1. MARCO TEORICO

1.1 IMPORTANCIA SOCIOECONOMICA DE TOMATE DE ARBOL (*Solanum betacea*) y LULO (*Solanum quitoense*):

Dentro de un proceso de globalización y frente a las expectativas del TLC, la explotación de frutales en Colombia ha sido considerada una de las actividades agrícolas más promisorias que pueden ser competitivas, mientras garanticen su calidad⁹.

Estos procesos, han generado una tendencia hacia el consumo de alimentos saludables e inoocuos que exigen el cambio radical en el manejo de cultivos mediante BPA (Buenas Prácticas Agrícolas) y BPM (Buenas Prácticas de Manejo)¹⁰, por lo que se hace necesario la identificación y evaluación de otras alternativas de manejo como las que se buscaron en el presente trabajo.

En Colombia, los cultivos de tomate de árbol y lulo participan con 5 y 1.7%, de la producción frutícola nacional, respectivamente, con una producción de 140.228 toneladas al año de tomate de árbol en 7.686 ha y 47.236 toneladas de lulo al año en 5.750 ha sembradas¹¹.

En Nariño, según el último consolidado agropecuario, la producción de tomate de árbol para el año 2005 fue de 5858.6 toneladas en 634 ha, pertenecientes a 1085 productores y para lulo fue de 3015.9 toneladas en 611 ha, pertenecientes a 610 productores¹².

⁹ La Cadena de los Frutales de Exportación en Colombia: una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2004. En: Frutales de exportación. Colombia, 2005. [Citado 10 de Marzo de 2006]. Disponible en Internet: http://www.agrocadenas.gov.co/frutales/frutales_descripcion.htm.

¹⁰ Ibit. p. http://www.agrocadenas.gov.co/frutales/frutales_descripcion.htm

¹¹ Producción Nacional de Frutas y Hortalizas. En: Frutas y Hortalizas de Colombia para el mundo. Colombia, 2003. [Citado 10 de Marzo de 2006]. Disponible en Internet: http://www.frutasyhortalizas.com.co/portal/Business/product_search.php?type=1.

¹² COLOMBIA, Op. cit., p. 71.

Sin embargo, diferentes especies del nematodo del nudo radical, como *Meloidogyne incognita* y *Meloidogyne arenaria*, las cuales presentan una amplia distribución y gran variedad de hospederos económicamente importantes a nivel mundial, son registradas como los nematodos más agresivos en los cultivos de tomate de árbol y lulo en el norte de Nariño¹³, debido principalmente a los daños irreversibles causados al sistema radical de la planta y a su alta capacidad reproductiva, lo cual los hace responsables de considerables disminuciones en los rendimientos de los cultivos¹⁴.

1.2 DESCRIPCIÓN DEL NEMATODO DEL NUDO RADICAL *Meloidogyne* spp.

Los estados juveniles de este género miden 0.5 mm de largo, tienen cabeza cónica, estilete pequeño y delgado. Los machos miden de 1 a 2 mm de longitud, con cabeza trapezoidal, ovoide, plana o redondeada, estilete fuerte y mediano. Las hembras tienen el cuerpo esférico u ovoide con 0.5 a 0.7 mm de diámetro y cuello pronunciado, estilete corto y delgado¹⁵.

Meloidogyne spp., es un endoparásito obligado, dotado de una capacidad de adaptación en lo que se refiere a características biológicas. Poseen una amplia gama de plantas hospedantes y se caracterizan por dar lugar a la formación de nudos radicales o agallas¹⁶.

Las poblaciones de *Meloidogyne* spp. están en función del cultivo o planta hospedante. Es factible encontrar altas densidades del nematodo, en cualquier época del año, en la medida en que exista un hospedante disponible; no obstante, en ausencia de este, y en suelos muy secos, la sobrevivencia del nematodo disminuye¹⁷.

¹³ GARCIA, F Y OBANDO, J. Op. cit., p.57.

¹⁴ CHRISTIE, J. Nematodos de los vegetales: su ecología y control. Limusa, México 1985. 275p.

¹⁵ SAÑUDO, B., SALAZAR, C. Y BETANCOURTH, C. Principios de nematología agrícola. Pasto, Colombia, Universidad de Nariño. 2003. 120 p.

¹⁶ Ibit. p. 275.

¹⁷ VOLCY, C. Nematodos. Tomo 2. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, 1998. 182p.

El género *Meloidogyne* está distribuido desde el nivel del mar hasta los 3000 msnm. Se considera que su distribución es del orden del 50%, tanto en suelos cultivados, como en aquellos con vegetación natural¹⁸.

En la actualidad, de acuerdo a su importancia en la agricultura, las especies más descritas son: *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica*, *M. hapla*, *M. exigua* y *M. acornea*¹⁹.

1.2.1 Clasificación taxonómica: Rudolphi (1808) y Chitwood (1985) clasifican a *Meloidogyne spp.* así²⁰:

División: Nematoda
Clase: Secernentea
Orden: Tylenchida
Suborden: Tylenchina
Superfamilia: Tylenchoidea
Familia: Heteroderidae
Subfamilia: Meloidogyninae
Género: *Meloidogyne*
Especie: *Meloidogyne spp*

1.2.2 Parasitismo y Sintomatología: La infección de *Meloidogyne spp.* ocurre cuando el segundo estadio larval penetra en las raíces, causando formación de células gigantes de las que se alimenta, hasta convertirse en hembras adultas que producen huevos²¹.

Estas especies además de causar la formación de células gigantes y agallas, provocan en raíces y tubérculos, necrosis, acortamiento y disminución de raíces

¹⁸ EGUIGUREN R. Avances de investigación sobre el género de *Meloidogyne* en Ecuador. In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne spp.* Centro internacional de la papa. Perú. 1982. 77 – 92 pp.

¹⁹ CEPEDA, M. Nematología agrícola. México: Trillas, 1996. 305p.

²⁰ SAÑUDO, SALAZAR Y BETANCOURTH, Op. cit., p. 120p.

²¹ Ibit. p. 305.

laterales y escasos pelos radicales; al romperse los elementos vasculares en las agallas, se interrumpe en forma mecánica el flujo de agua y nutrientes²².

Fisiológicamente los ataques aumentan la producción de proteínas en las agallas y provocan un mal funcionamiento de los reguladores de crecimiento entre las raíces y el tallo. Estos cambios contribuyen a una reducción de crecimiento y desarrollo de las plantas²³.

Los síntomas en la parte aérea, son los mismos causados por cualquier anomalía que prive a la planta de un sistema radical adecuado y de funcionamiento apropiado. Las plantas afectadas, carecen de vigor, el follaje es pequeño y presenta amarillamiento, puede presentarse defoliación, baja producción y reducción en el ciclo de producción de la planta²⁴.

Además, las lesiones causadas por *Meloidogyne* spp., predisponen la actividad de otros patógenos de suelo, tales como hongos y bacterias, que incrementa la enfermedad en la planta; en muchos casos, esta relación causa daños irremediables en el cultivo, y el diagnóstico al nivel de campo se dificulta por tratarse de complejos de enfermedad²⁵.

1.3 MANEJO Y CONTROL DE LA ENFERMEDAD

Los ataques de *Meloidogyne* spp. en las plantas tienen gran importancia económica, lo cual conlleva a plantear estrategias de control, que deben integrarse teniendo en cuenta las condiciones climáticas, el tipo de suelo, el hospedante, las etapas de susceptibilidad, las poblaciones existentes de la especie a controlar y el costo de la medida o sistema de control²⁶.

²² BAUER, M. Fitopatología. Limusa. 1^{era} ed, México, 1987. 377

²³ CEPEDA, Op. cit., p. 305.

²⁴ CHRISTIE, Op. cit., p. 275.

²⁵ Ibit. p. 377.

²⁶ SAÑUDO, SALAZAR Y BETANCOURTH, Op. cit., 120.

Para el manejo y control del nematodo *Meloidogyne* spp., se emplean estrategias como:

1.3.1 Control Cultural: Consiste en buscar condiciones desfavorables al nematodo o favorables al cultivo, se implementan antes o durante el cultivo²⁷. Este tipo de control, exige las siguientes prácticas:

- **Rotación de cultivos:** Se refiere a la alternación de especies cultivadas, las cuales bajan la incidencia de plagas. El éxito depende en escoger las secuencias de cultivos que tengan menos plagas en común. Los mejores resultados son usualmente obtenidos, combinando uno detrás de otro, cultivos no relacionados botánicamente²⁸.

Se realiza ausentando las plantas hospederas durante 3 a 4 temporadas y buscando alternativas que reduzcan las poblaciones del nematodo y que sean económicamente rentables²⁹.

Por ejemplo, plantas como el maní (*Arachis hypogaea*) son inmunes a algunas razas de *Meloidogyne* spp., igualmente el algodón (*Gossypium* spp) es altamente resistente a todos los nematodos del nudo de la raíz³⁰.

En el mismo sentido, Raymundo (1982)³¹, afirma que otras especies como el ajo y el rábano, reducen notablemente las poblaciones de *Meloidogyne* spp, como también rotaciones sucesivas de arroz, ajo, maíz y tomate de mesa.

²⁷ SAÑUDO, SALAZAR Y BETANCOURTH, Op. cit., 120.

²⁸ RAYMUNDO, S. Efectos de sistemas de cultivo en el control del nematodo del nudo de la raíz. In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne* spp. Centro Internacional de la Papa. Peru. 1982. 173 – 190 pp.

²⁹ SAÑUDO *et al.*, Op. cit., p 201.

³⁰ ERAZO, M. Efecto de cuatro tratamientos en el control del nematodo del nudo de la raíz (*Meloidogyne incógnita* Chitwood), en lulo ácido (*Solanum quitoense* lam.), en una zona del departamento de Nariño. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias agrícolas, Pasto, 1987. 84 p.

³¹ Ibit p. 173 – 190.

- **Abonos verdes:** Existen raíces de plantas que exudan químicos tóxicos que afectan a los nematodos, estas plantas son llamadas plantas parásitas de nematodos³². Especies de la familia *Compositae*, principalmente de los géneros *Tagetes*, *Chrysanthemum*, *Gaillardia*, *Helenium* y *Erycophyllum* tienen esta capacidad, ocasionando disminución de nematodos de los géneros *Meloidogyne* y *Pratylenchus*³³.

Otras plantas como *Crotalaria spectabilis* y el pasto bermuda (*Cynodon dactylon*), incorporado al suelo antes del transplante de tabaco u hortalizas, protegen e impiden la reproducción y el ataque de *Meloidogyne* spp³⁴.

Estudios realizados por Mosquera y Murcia (1996)³⁵, mostraron que extractos vegetales de *Tagetes* spp. alcanzaron porcentajes hasta del 100% de reducción de población de *Meloidogyne* spp. en plantas de guayaba, resultando este control más efectivo que el control químico con la aplicación de carbofuran.

De igual manera, Amosu (1981)³⁶, estudió el efecto de la aplicación de extractos de raíces de *Eupatorium oderatum*, comúnmente conocido como coquito, sobre huevos de *Meloidogyne incognita*, observándose pocos días después de la aplicación del extracto, inhibición del ataque del nematodo en plantas de *Lycopersicum esculentum*, este autor recomienda el uso de esta práctica ya que resulta efectiva y económicamente viable para el agricultor.

³² AMOSU, J. Control of root – knot nematode by cultural practices. In Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne* spp. University of Ife Ile- Ife, Nigeria, 1981. 259 – 262 pp.

³³ ESPAÑA, A. y ORTIZ, F. Efecto de algunas plantas de la familia *Compositae* en la población del nematodo de las agallas radicales *Meloidogyne incognita* Chitwood en lulo ácido *Solanum quitoense* Lam. bajo condiciones de invernadero. Universidad de Nariño, Facultad de ciencias agrícolas, Pasto. 1990. 37 p.

³⁴ALTIERI, M., GONZALES, M. Investigación y ciencia en agricultura alternativa. En: CLADES (centro latinoamericano de desarrollo sustentable). Chile, 2004. [Citado Febrero de 2005] Disponible en: www.clades.cl/hacemos/4/rev4art2.htm.

³⁵ MOSQUERA, E. Y MURCIA, A. Efecto de extractos vegetales y hongos patógenos en la población de nematodos en Guayaba. Revista Fitopatología Colombiana , 20 (1), 1996, 25 – 29 pp.

³⁶ Ibit. p.259 – 262.

Además, estudios recientes indican que el extracto acuoso del algodón de seda posee efecto nematocida contra *M. exigua*. La mortalidad del nematodo se incrementó con el aumento de la concentración del extracto y del tiempo de exposición³⁷.

Otros estudios muestran que extractos obtenidos en éter de petróleo de plantas silvestres como *Tragia involucrata* (Euphorbiaceae) y *Acanthocephalus kadamba* (Rubiaceae) contienen sustancias nematocidas al igual que el extracto en cloroformo de *Peristrophe bicalyculata*³⁸.

- **Fertilización:** Con el fin de mejorar las condiciones físico – químicas del suelo, permitir un buen desarrollo de la planta y por lo tanto mayor tolerancia al ataque de nematodos, por la formación de un sistema radical extenso y activo, la incorporación de fertilizantes y abonos orgánicos, crean condiciones desfavorables para el establecimiento de los nematodos³⁹.

Con respecto a lo anterior, Eguiguren (1982)⁴⁰, quien estudió el efecto de las enmiendas químicas y orgánicas sobre la dinámica poblacional de *M. incognita* en tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum*), encontró que el fertilizante compuesto NPK a una relación de 10 – 30 – 10 y el abono orgánico (estiércol de vacuno descompuesto más residuos de hojas y tallos de arveja), actuaron en forma independiente, pero, su acción reguladora de la población de *Meloidogyne* spp. fue afín entre ellas.

Molina (1989)⁴¹, encontró que la incorporación de gallinaza al suelo, permite cierto grado de control de la infestación radical causada por *Meloidogyne incognita* en plantas de lulo.

³⁷ CROZZOLI, R. Y GRECO, N. Actividad nematocida del extracto acuoso de hojas de *Calotropis procera* en el nematodo agallador *Meloidogyne exigua*. In : www.ceniap.gov.ve. 2000

³⁸ RAYMUNDO, Op cit., p. 173 – 190.

³⁹ CHRISTIE, Op. cit., p. 275.

⁴⁰ EGUIGUREN, Op. cit., p. 77 – 92.

⁴¹ MOLINA, B. Manejo de *Meloidogyne incognita* chitwood el lulo de castilla (*Solanum quitoense lam*) el municipio de San Lorenzo departamento de Nariño. Tesis ingeniero agrónomo, Universidad de Nariño, Facultad de ciencias agrícolas, Pasto. 1989. 53 p.

Según Babatola (1981)⁴², tanto la urea como el ácido nítrico son utilizados en el control de nematodos, ya que se ha encontrado que estos tienen una actividad nematicida.

- **Material de propagación sano:** Es una medida muy práctica para evitar la dispersión de especies de nematodos contenidas en semillas vegetativas y sexuales, las cuales deben proceder de lugares libres de presencia de nematodos fitoparásitos⁴³.

1.3.2 Control Físico: Consiste en cambiar la humedad del suelo y la temperatura de los órganos de propagación infestados por nematodos, por medio de las siguientes prácticas⁴⁴:

- **Tratamiento térmico del suelo:** Se utilizan pequeñas porciones de suelo, las cuales se calientan en estufas o con agua hirviendo, con el fin de eliminar inóculo de la enfermedad⁴⁵.

También se puede desinfectar el material vegetal a plantar, mediante inmersiones en agua caliente a una temperatura promedio de 50°C por varios intervalos de tiempo, durante treinta minutos⁴⁶.

- **Desecación del suelo:** La humedad del suelo afecta la emergencia de las larvas y la infectividad de *Meloidogyne* spp. La mayoría de larvas emergen del suelo cuando este tiene una capacidad de campo de alrededor del 70%, después de pasar por un ciclo de secado, por el contrario la inundación y el barbecho aumentan las poblaciones del nematodo⁴⁷.

⁴² BABATOLA, J. Root – knot nematode problems of horticultural crops in Nigeria. In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne* spp. National Horticultural Research Institute, Nigeria, 1981 135 – 139 pp.

⁴³ CHRISTIE, Op. cit., p. 275.

⁴⁴ SAÑUDO, SALAZAR Y BETANCOURTH, Op. cit., p.120.

⁴⁵ Ibit p. 275.

⁴⁶ NWAUSOR, E AND FAWOLW, B. Root - knot nematodes on yams in Eastern Nigeria. In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne* spp. University of Ibadan. Nigeria. 1981. 161 – 167 pp.

⁴⁷ RAYMUNDO, Op. cit., p. 173 – 190.

1.3.3 Control Químico: Desde el punto de vista práctico, el combate de los nematodos con químicos presenta dos problemas: encontrar la sustancia eficaz y la aplicación⁴⁸.

Aunque muchas veces, cuando las otras alternativas son imprácticas o no reducen los niveles de incidencia y severidad del ataque, esta práctica es necesaria⁴⁹.

Actualmente se usan productos granulados, no específicos, con el fin, no solo de controlar nematodos sino también insectos; entre estos nematicidas se encuentran: Carbofuran, Fenamifos, Ethoprop, Oxamil, entre otros⁵⁰.

Los nematicidas son usados en cultivos donde la rentabilidad es alta y justifica la aplicación de estos, ya que las dosis y el costo son altos. Al usar un nematicida, además de tener en cuenta el costo de la aplicación, se debe tener en cuenta que el producto no tenga efecto residual, que las dosis sean bajas y el nematicida sea eficiente. Además debe tener capacidad de translocación para ofrecer mayor protección al cultivo⁵¹.

Eguiguren (1982)⁵² en el cultivo de tomate de mesa (*Lycopersicum esculentum*), encontró que la aplicación de Oxamil 10G (10 Kg. (I.A.)/ ha), distribuido e incorporado al suelo en el momento de transplante, redujo el índice de nodulación a 2 comparado con el testigo, el cual obtuvo un índice de nodulación igual a 4.5, además el rendimiento de 41 t/ha, fue mayor que todos los otros tratamientos en los que se utilizaron nematicidas como: Carbofuran, Ethoprop y Fenamifos.

En el mismo estudio se tiene en cuenta que la aplicación de estos productos puede perjudicar la población benéfica de la nematofauna constituida por:

⁴⁸ CHRISTIE, Op. cit., p. 275.

⁴⁹ SAÑUDO, SALAZAR Y BETANCOURTH, Op. cit., p. 120.

⁵⁰ Ibit, p. 120.

⁵¹ ADESIYAN, S. Comparison of methods and rates of application of some short residual toxicants for the control of *Meloidogyne incognita* attacking some vegetable crops. In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne spp.* University of Ibadan. Nigeria. 1981. 157 – 160 pp.

⁵² EGUIGUREN, Op. cit., p. 77 – 92.

Dorylaimus sp. *Mononchus* sp. *Rhabditis* sp., entre otros, puesto que estos microorganismos depredadores son drásticamente reducidos.

Otra clase de químicos que controlan poblaciones de *Meloidogyne* spp., como el Bromuro de etilo, acaban no solo con nematodos sino también con insectos, arañas y hongos. Este producto es un gas muy tóxico, que afecta a la salud humana, esto hace que la aplicación sea difícil. Este tipo de químicos no son recomendados, ya que acaban con la microbiota del suelo⁵³.

El uso de lípidos antioxidantes en el control de los nematodos resulta ser efectivo y de bajo costo, comparado con los nematicidas comunes. Estos son grupos químicos heterogéneos, no son tóxicos y son poco residuales, por ejemplo el ácido ascórbico, componente natural de comidas. Estos inhiben la oxidación de lípidos en plantas atacadas, controlan y reducen la enfermedad⁵⁴.

La aplicación de creolina, por su efecto esterilizante es otro producto que resulta efectivo para la reducción de poblaciones larvales de *Meloidogyne* spp. así como para el número de agallas radicales⁵⁵. Además en el estudio realizado por Molina (1989)⁵⁶, se encontró que la creolina tiene un efecto erradicante parcial sobre *Meloidogyne incognita*.

Revelo, Gowen y Orellana (1982)⁵⁷ estudiaron la influencia de riego, fertilización y combate químico sobre la dinámica poblacional de *Meloidogyne incognita* en tomate de mesa encontrando que el mejor tratamiento fue el que se aplicó 120 Kg. de Nematicur 5G/ha, y N, P, K a una dosis de 200, 100 y 100 Kg./ha respectivamente, en un suelo con el 70% de capacidad de campo, sin embargo,

⁵³ CHRISTIE, Op. cit., p. 275.

⁵⁴ FAWOLE. B. Lipid – antioxidant control of root – knot nematodes. In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne* spp. University of Ibadan. Nigeria. 1981. 168 – 171 pp.

⁵⁵ ERAZO, Op. cit., p. 84.

⁵⁶ MOLINA, Op. cit., p. 53.

⁵⁷ REVELO, J., GOWEN, S. Y ORELLANA, H. Influencia de dos niveles de riego, fertilización y combate químico sobre la dinámica poblacional de *Meloidogyne incognita* en tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum*). In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne* spp. Centro Internacional de la Papa. Peru. 1982. 91 – 92 pp.

en este mismo estudio se observó que la aplicación de 120 Kg. de Namacur 5G/ha en un suelo con el 70% de capacidad de campo pero sin fertilizante, resultaron antieconómicos por sus altos costos y baja producción.

1.3.4 Control Biológico: La tendencia actual para el control de enfermedades que afectan diferentes cultivos se basa en la utilización de estrategias de manejo integrado en donde se destaca el control biológico con microorganismos, que registran excelentes resultados⁵⁸.

Debach (1964) citado por Crozzoli y Mazzani⁵⁹, define el Control Biológico como la acción de parásitos, predadores y patógenos en el mantenimiento de la densidad de otro organismo a niveles más bajos de los que presenta en su ausencia.

El control biológico de nematodos, significa un aporte muy importante por cuanto, de los grupos de organismos que habitan en el suelo, los nematodos ocupan el segundo lugar en términos de abundancia, sólo superados por los protozoos⁶⁰.

En condiciones naturales, plantas, bacterias, virus, hongos, insectos e incluso otros nematodos regulan las poblaciones de *Meloidogyne* spp. mediante mecanismos como competencia, antibiosis, parasitismo, depredación e inducción de respuestas de resistencia en la planta hospedante⁶¹.

1.3.4.1 Bacterias: Frapolli, citado por Fernández y García (1996)⁶² señala que *Pasteuria penetrans*, en condiciones de laboratorio y campo es eficaz en la

⁵⁸ CRESPO, M. El control biológico de los fitonematodos: una alternativa al uso de nematicidas y cultivos transgénicos. In www.ceniap.gov.ve/bdigital/congresos/fitopato. México, 2001.

⁵⁹ CROZZOLI, R. Y MAZZANI, R. Control biológico de nematodos fitoparásitos. Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, 0 (46). 1994. 3 – 27 pp.

⁶⁰ DUBE, B. and SMART ,C.J. Biological control of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* a fungus that parasites nematode eggs. Nematology circular No 203, 1987. 12 p.

⁶¹ SAÑUDO, SALAZAR Y BETANCOURTH, Op. cit., p. 120.

⁶² FERNANDEZ, J. Y GARCIA, A. Identificación de hongos patógenos del nematodo *Meloidogyne incognita chitwood* en el departamento de Nariño. Tesis ingeniero Agrónomo, Universidad de Nariño, Pasto, 1996. 67p.

reducción de poblaciones de *Meloidogyne* spp., ayuda al desarrollo vigoroso de las plantas inoculadas y reduce las nudosidades radicales.

Una ventaja de este microorganismo es la facilidad con la cual las endosporas pueden ser almacenadas, ya que son resistentes a la sequedad y a las altas temperaturas. Esto implica una relativa facilidad de aplicación al suelo, aunque hay que tener en cuenta un periodo de activación de la endospora, necesario para su adhesión al huésped y para la germinación en su interior⁶³.

1.3.4.2 Protozoarios: Entre los protozoarios que utilizan a los nematodos como fuente de alimento se pueden citar las amebas, flagelados, ciliados y esporozoarios que penetran a su hospedero por la boca en forma de esporas o a través de la cutícula⁶⁴.

Sañudo citado por Fernández y García (1996)⁶⁵ señala que protozoarios de la clase Sporozoa son parásitos internos de muchos nematodos, cuyo cuerpo se oscurece y el interior se llena de esporas.

La ameba *Theratromyxa weberi* es capaz de capturar y digerir juveniles de *Meloidogyne incognita* y otros nematodos de los géneros *Aphelenchoides*, *Ditylenchus*, y *Globodera*⁶⁶.

1.3.4.3 Insectos: Algunos insectos pertenecientes al orden Collembola han sido observados alimentándose de nematodos, tal es el caso de los géneros *Isotma*, *Onychimarus*, *Achorutes* y *Felsomia*⁶⁷.

⁶³ CIANCIO, A., CARBONELLI, E., CROZZOLI, R. Ecología y biodiversidad de *Pasteuria* spp., antagonistas naturales de nematodos fitoparásitos. Fitopatología Venezolana, 11(1). 1998. 1 – 9 pp.

⁶⁴ TAYLOR, A. y SASSER, J. Biología, identificación y control de nemátodos del nudo de la raíz (especies de *Meloidogyne*) C.I.P USA. Artes gráficas de la universidad del estado de Carolina del Norte, 1983. 111p.

⁶⁵ Ibit. p. 67.

⁶⁶ CROZZOLI, R. Y MAZZANI, R. Op. cit., p. 3 - 27.

⁶⁷ TAYLOR y SASSER, Op. cit., p. 111.

1.3.4.4 Hongos: Los nematodos viven libres e independientes en el suelo y se enfrentan a diversos peligros, uno de estos consiste en ciertos hongos, los cuales se alimentan y subsisten gracias a ellos, algunos de estos han desarrollado varios métodos para atraparlos, resultando eficientes en esta especie de caza mayor⁶⁸.

Sin embargo, una de las dificultades que presenta el control biológico de *Meloidogyne* spp. radica en la característica de depositar sus huevos en forma masal al interior de una matriz gelatinosa, ya que los hongos pueden realizar el parasitismo de los huevos más externos de la masa quedando aquellos más internos protegidos de la acción parasítica⁶⁹.

Así mismo, la gran capacidad reproductiva del nematodo y la susceptibilidad de algunos hospedantes como el tomate de árbol y lulo, hace que aún bajo condiciones de altos parasitismos por parte del biocontrolador exista un remanente de huevos sin parasitar que proporciona un número de juveniles suficientemente altos para causar infección. (Sasser, *et al.*, 1978. citado por Giraldo y Leguizamon, 1997⁷⁰).

En la naturaleza existe una gran variedad de hongos que cuentan con la capacidad de antagonizar a diferentes géneros de nematodos, estos, se pueden clasificar en hongos parásitos y depredadores⁷¹.

1.3.4.4.1 Hongos parásitos: El parasitismo supone una serie de acciones naturales ejercidas directamente por el hongo, contra el patógeno. Las distintas cepas de hongos oportunistas del suelo pueden llegar a colonizar huevos, larvas y adultos de *Meloidogyne* spp.⁷².

El hongo parásito mantiene un contacto casual con el hospedero y puede ser necrotrófico, cuando obtiene parte de los nutrientes del hospedero después de

⁶⁸ SAÑUDO *et al.*, Op. cit., p. 201.

⁶⁹ STIRILING, G. Biological control of plant parasitic nematodes. Wallingford (Inglaterra). C.A.B International. 1991. 227 P.

⁷⁰ GIRALDO y LEGUIZAMON, Op. cit., p. 104 – 117.

⁷¹ CASTILLO, J. Micología general. Limusa, México, 1987. 208p.

⁷² DUBE, Op. cit., p. 12.

causar su muerte o biotrófico, cuando hay toma de nutrientes al producirse contacto con las células vivas del huésped. Entre éstos se pueden destacar a: *Dactylella oviprasitica*, *Fusarium solani*, *Catenaria anguillulae*, *Verticillium chlamidosporium*, *Paecilomyces lilacinus*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y los géneros *Penicillium*, *Dactylaria*, *Cephalosporium* y *Cladobotryum*⁷³.

Sterling y Mankau, citados por Erazo (1987)⁷⁴, mencionan que *Dactylella oviprasitica*, es un parásito de huevos de *Meloidogyne* spp. que realiza infección a través de un sistema mecánico – enzimático.

También Sañudo *et al.*, (2001)⁷⁵, afirman que *Fusarium solani* en estado de clamidospora produce infección sobre hembras, huevos y juveniles de *Meloidogyne* spp. y que la especie *Catenaria anguillulae* produce esporas que se adhieren a la cutícula de los huevos de *Meloidogyne* spp. y germinan formando tubos que penetran dentro de éste.

La especie *Verticillium chlamidosporium*, estudiada por Hincapié y Leguizamón (1999)⁷⁶, demostró en condiciones de laboratorio y de almacigo en café var. Caturra, la efectividad del parasitismo sobre huevos de *Meloidogyne* spp. Esta especie presenta un gran potencial como controlador por la producción de dictioclamidosporas (estructuras de resistencia), que ayudan a una fácil manipulación, almacenamiento y supervivencia en el suelo.

Una de las especies de hongos más estudiadas por diferentes investigadores en el control de *Meloidogyne* spp. es *Paecilomyces lilacinus*, este hongo parasita huevos de *Meloidogyne* spp., primero los invade y después destruye sus embriones evitando la formación de larvas. También parasita hembras a las cuales les causa la muerte. Se establece en el suelo, crece saprofiticamente, se disemina con bastante rapidez y en corto tiempo llega a ser la especie dominante⁷⁷.

⁷³ SAÑUDO *et al.*, Op. cit., p. 201.

⁷⁴ ERAZO, Op. cit., p. 84p.

⁷⁵ Ibit, p. 201.

⁷⁶ HINCAPIE, D., LEGUIZAMON, J. Efecto de *Verticillium chlamidosporium* en el control de *Meloidogyne* spp. en almacigo de café, var. Caturra. Cenicafé, 50 (4), 1999. 286 – 298 pp.

⁷⁷ DUBE, Op. cit., p. 12.

Los huevos, larvas y hembras, suelen presentar deformaciones, vacuolizaciones y pérdida de movimiento a causa de las sustancias tóxicas del hongo, las cuales actúan sobre estos.⁷⁸

Mediante experimentos de laboratorio se encontró que *Paecilomyces lilacinus* crece bien en rangos de temperatura entre 15 y 30 °C, con un crecimiento óptimo entre 25 y 30°C. Parece que el requerimiento de temperatura para su crecimiento es análogo al de su huésped prioritario. Frapoli,1991, citado por Fernández y García (1996)⁷⁹

Cárdenas y Benavides (1996)⁸⁰ demostraron la variabilidad patogénica de este hongo sobre *Meloidogyne incognita* al aislar de tomate de mesa una cepa virulenta procedente de este, así mismo encontraron eficiente la aplicación de *Paecilomyces lilacinus* en el control de *Meloidogyne* spp., en plantas de melón y sandía, con porcentajes de infestación radical entre 19.96% y 20.14%, índices menores en comparación con el testigo absoluto.

Otros autores como Giraldo y Leguizamón (1997)⁸¹, también encontraron efectiva la aplicación de *Paecilomyces lilacinus* en almácigos de café sobre el nematodo *Meloidogyne* spp., reduciendo la población de estos entre un 32 y 49%, en forma significativamente similar a un producto nematicida químico aplicado en dosis comercial y según recomendaciones técnicas. Estos dos tratamientos presentaron el mejor comportamiento en esta investigación.

Jiménez y Gallo (1986) citado por Fernández y García (1996)⁸², afirman que *Paecilomyces lilacinus*, a nivel de invernadero, tiene alto grado de eficacia en el control de *Meloidogyne incognita* con grados entre 89.44 y 94.33%. El hongo no

⁷⁸ JIMÉNEZ, J. El control biológico de plagas de banano. En: El control biológico de plagas de banano. Cuba. 1999. [Citado Febrero de 2005]. Disponible en Internet: <http://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/BANA-BIO>.

⁷⁹ FERNÁNDEZ Y GARCIA, Op. cit., p. 67.

⁸⁰ CARDENAS, D. Y BENAVIDES, F. Efecto del hongo *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson sobre el nematodo de agalla *Meloidogyne incognita* Chitwood del melón (*Cucumis melo* linn.) y la sandía (*Citrollus vulgaris* schrad.) en una zona del municipio de Taminango, Nariño. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas, Pasto, 1996. 109 p.

⁸¹ GIRALDO Y LEGUIZAMON, Op. cit., p. 104 – 117.

⁸² FERNANDEZ Y GARCIA, Op. cit., p. 67.

solo atacó en alto grado a las masas de huevos, sino también penetró en el cuerpo de las hembras, destruyéndolas.

Por otra parte, Garzón (1995), citado por Fernández y García (1996)⁸³, encontró que ***Paecilomyces lilacinus*** es parásito exclusivo de *Meloidogyne incognita* y por lo tanto de sus razas, además estima que en el campo se puede hallar razas de ***P. lilacinus*** que difieren en grado de virulencia frente a las razas conocidas de *M. incognita*.

Paecilomyces lilacinus ha demostrado ser efectivo contra *M. incognita* en banano, principalmente cuando se utiliza como agente preventivo, antes del trasplante y en el momento de la siembra⁸⁴, al igual, Molina (1989)⁸⁵ encontró que la aplicación de ***P. lilacinus***, 15 días antes del trasplante, permite mejores resultados de control de *Meloidogyne incognita*.

Los hongos ***Metarrhizium anisopliae*** y ***Beauveria bassiana*** han demostrado tener relaciones antagónicas con nematodos del género *Meloidogyne*, pero comúnmente estos son conocidos como parásitos de insectos (Sañudo *et al.*, 2001⁸⁶ y Jiménez, 1999⁸⁷).

Estudios realizados por Leguizamón y Padilla (2001)⁸⁸, confirman el parasitismo de estos hongos al demostrar que en almacigo ***Beauveria bassiana*** y ***Metarrhizium anisopliae*** con dosis superiores a 3 gramos de arroz colonizado, ofrecieron protección a las plantas de Café var. Caturra contra el ataque de *Meloidogyne* spp., obteniéndose un mayor número de plantas con grados de infección 0, comparados con el testigo, el cual presentó mayor número de plantas con grado de infección radical entre 4 y 5.

⁸³ FERNANDEZ Y GARCIA, Op. cit., p. 67.

⁸⁴ JIMÉNEZ, Op. cit., <http://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/BANA-BIO>.

⁸⁵ MOLINA, Op. cit., p. 53.

⁸⁶ SAÑUDO *et al.*, Op. cit., p. 201.

⁸⁷ Ibit, p. <http://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/BANA-BIO>.

⁸⁸ LEGUIZAMON, J. Y PADILLA, B. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarrhizium anisopliae* en el control del nematodo del nudo radical en café. In: Cenicafé, 52 (1), 2001. 29 – 41 pp.

De igual manera Padilla, Leguizamón y Velásquez (2001)⁸⁹, en condiciones de laboratorio, demostraron el parasitismo de estos hongos, al observar abundante proliferación de micelio y estructuras de reproducción de ***Beauveria bassiana*** y ***M. anisopliae*** en huevos de *Meloidogyne* spp., presentando porcentajes de huevos parasitados superiores al 75%. En el mismo estudio, pero en almácigos de café, ***Beauveria bassiana***, y ***M. anisopliae*** causaron una mortalidad para *Meloidogyne* spp. del 49% y 40%, respectivamente.

Estos autores, destacan igualmente que el parasitismo de estos hongos sobre huevos de *Meloidogyne* spp., parece ser de naturaleza enzimática, ya que poseen mecanismos especiales que facilitan la penetración de la cutícula de insectos utilizando enzimas extracelulares como lipasas, proteasas y quitinazas, las cuales también constituyen la pared de los huevos del nematodo.

Mosquera y Murcia (1996)⁹⁰, encontraron una reducción del 38% de la población de *Meloidogyne* spp. en raíces de guayaba, tratadas con el hongo *Beauveria bassiana*, resultando más eficiente que el control químico, ya que este, a una dosis de 0.6 Kg./árbol/año, solo redujo el 31% de la población del nematodo.

En el mismo estudio, se realizó el análisis económico y se encontró que el beneficio neto al utilizar *Beauveria bassiana* fue de \$137.050, en cambio Carbofuran representó pérdidas económicas por \$287.950 por la aplicación continua de este producto, lo que indica que el control biológico ofrece mayor reducción de la enfermedad a un menor costo.

Fernández y García(1996)⁹¹, detectaron en tres zonas del departamento de Nariño la presencia de otros hongos parásitos de *Meloidogyne* spp: pertenecientes a los géneros Paecilomyces, Penicillium, Dactylaria, Verticillum, Cephalosporium y Cladobotryum, además de uno no identificado afectando masas de huevos y hembras de *Meloidogyne incognita*.

⁸⁹ PADILLA, B., LEGUIZAMON, T., VELAZQUEZ, E. Evaluación de formulaciones de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* par el control de *Meloidogyne* spp. Cenicafé, 52 (4), 2001, 249-269 pp.

⁹⁰ MOSQUERA Y MURCIA, Op. cit., p. 25-29.

⁹¹ FERNANDEZ Y GARCIA, Op.cit., p. 67.

1.3.4.4.2 Hongos depredadores: Existen hongos del suelo que desarrollan un sistema extensivo de hifas y estructuras de captura del nematodo, así como sustancias de atracción y otras inmovilizantes⁹²

Una vez establecido el contacto entre las estructuras de captura y la cutícula del patógeno, el hongo produce cuerpos que penetran y matan la presa, seguido por la producción de enzimas digestivas que absorben todo el contenido⁹³.

Sañudo et al., (2001)⁹⁴, mencionan que las modificaciones hifales para la captura de nematodos únicamente se forman en presencia de estos y básicamente son cinco:

- Hifas adhesivas no modificadas (*Arthrobotrys botryospora*)
- Bulbos adhesivos (*Dactylella elliospora*)
- Redes adhesivas tridimensionales (*Arthrobotrys oligospora*)
- Anillos no contráctiles (*Dactylella leptospora*)
- Anillos contráctiles (*Dactylella bruchopaga*)

⁹² BAUER, Op. cit., p. 377.

⁹³ SAÑUDO *et al.*, Op. cit., p. 201.

⁹⁴ Ibit, p. 201.

2. DISEÑO METODOLOGICO

2.1 LOCALIZACIÓN

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de microbiología y en el invernadero de la Universidad de Nariño, ubicados a 2600 msnm y con una temperatura promedio anual de 13 °C y 18°C respectivamente.

2.2 MATERIAL VEGETAL

2.2.1 Recolección de material infectado por *Meloidogyne* spp.: Se realizó en fincas productoras de Tomate de árbol y Lulo lindantes a la carretera Buesáco – La Unión, ubicadas al Norte del departamento de Nariño, en las cuales mediante visitas previas se detectó la presencia de la enfermedad del nudo radical causada por *Meloidogyne* spp.

Se localizaron diez fincas, en donde los cultivos de Tomate de árbol y Lulo presentaron síntomas aéreos típicos del ataque del nematodo, como: retardo en el desarrollo, baja floración, clorosis, defoliación prematura, plantas con marchitez y hojas dobladas hacia el envés, los cuales se indican en las Figuras 1 y 2, y coinciden con los reportados por Christie (1985)⁹⁵.

En cada finca y con la ayuda de un palín, se tomaron cinco muestras de raíces con presencia de nudos para ambos cultivos, con el fin de verificar la presencia de *Meloidogyne* spp en el laboratorio. Figura 3.

⁹⁵ CHRISTIE, Op. cit., p. 275.

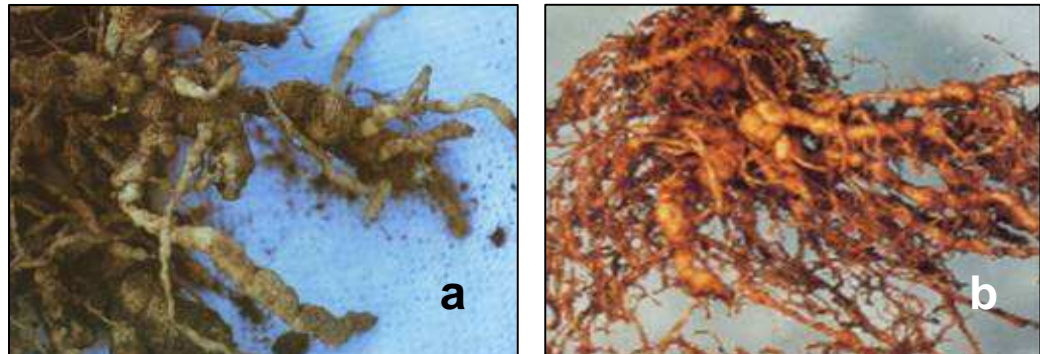
Figura 1. Cultivo de lulo afectado por *Meloidogyne* spp., nótese las áreas vacías a causa de la muerte de plantas por la enfermedad.



Figura 2. Plantas de tomate de árbol, presentando síntomas aéreos típicos del ataque del nematodo *Meloidogyne* spp.



Figura 3. Raíces de tomate de árbol (a) y lulo (b) afectadas por *Meloidogyne* spp., nótese la presencia de nudos radicales.



2.2.2 Transporte y conservación de muestras: Las muestras colectadas se guardaron en bolsas plásticas rotuladas apropiadamente con el sitio de procedencia. Las muestras fueron transportadas al laboratorio para su conservación en nevera (a 10°C) hasta su posterior procesamiento, con un tiempo límite de tres días.

2.3 FASE DE LABORATORIO

2.3.1 Inóculo de los hongos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus*: Las cepas de estos hongos existentes en el laboratorio de Microbiología y pertenecientes a la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Nariño, fueron transferidas en cajas petri con medio de cultivo PDA (papa dextrosa agar) con el fin de obtener colonias activas, a partir de las cuales se multiplicó cada uno de ellos en sustrato de arroz.

2.3.1.1 Multiplicación de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus*: Con el fin de obtener inóculo suficiente para realizar las pruebas de patogenicidad tanto en el laboratorio como en el invernadero, los hongos fueron cultivados en sustrato de arroz.

El arroz se lavó previamente con agua corriente, se coció a 150°C por 15 minutos y se depositó en frascos de vidrio de boca ancha (100 g arroz/ frasco de 473 ml),

posteriormente las botellas fueron tapadas con papel aluminio y esterilizadas en autoclave a 15 psi durante 30 minutos a 120°C.

Se tomaron de las cajas petri, segmentos de 2 cm² de cada cultivo puro de los hongos y se inoculó el arroz preparado, el cual fue posteriormente incubado a temperatura ambiente.

2.3.1.2 Preparación del inóculo: Se empleó la metodología descrita por Cardona y Leguizamón (1997)⁹⁶, para determinar una concentración 5x10⁸ esporas por mililitro ya que esta concentración, según Padilla, Leguizamón, y Velásquez (2001)⁹⁷ permite que el hongo se adapte y no sufra un proceso de autoinhibición.

A los granos de arroz colonizados por los hongos y contenidos en las botellas de vidrio se les agregó 500 ml de agua destilada estéril, el medio de arroz y el crecimiento fungoso fueron suspendidos suavemente en el agua, con la ayuda de una espátula metálica para evitar la formación de espuma. Con el fin de retirar las porciones más gruesas de arroz la solución fue filtrada en un colador.

La suspensión de conidias obtenida se contabilizó en la cámara de Neubauer hasta obtener la concentración de 5x10⁸ esporas por mililitro.

2.3.2 Obtención de hembras de *Meloidogyne* spp: Las hembras del nematodo se obtuvieron por medio del método de disección descrito por Sañudo, Salazar y Betancourt, (2003)⁹⁸.

Este método consiste en cortar las raíces enfermas en pedazos pequeños y hacer observaciones directas bajo un estereoscopio y con la ayuda de agujas de disección separar el tejido alrededor de una lesión y extraer la hembra. Las hembras extraídas fueron llevadas a una solución de Hipoclorito de sodio al 5% durante cinco minutos y lavadas en agua destilada estéril para luego ser depositadas en cajas petri.

⁹⁶ CARDONA, N Y LEGUIZAMON, J. Aislamiento y patogenicidad de hongos y bacterias al nematodo del nudo radical del café *Meloidogyne* spp. In. Fitopatología Colombiana, 21 (1). 1997. 39 – 52 pp.

⁹⁷ PADILLA, LEGUIZAMON Y VELÁSQUEZ , Op. cit., p. 249 – 269.

⁹⁸ SAÑUDO, SALAZAR Y BETANCOURTH, Op. cit., p. 120.

2.3.3 Pruebas de Patogenicidad In –Vitro: Se realizaron con el fin de determinar el grado de parasitismo de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus* sobre hembras de *Meloidogyne* spp.

2.3.3.1 Inoculación del hongo sobre hembras de *Meloidogyne* spp: Se realizó teniendo en cuenta la metodología descrita por Leguizamón y Padilla (2001)⁹⁹, la cual se describe a continuación:

Determinada la concentración de 5×10^8 conidias/ml, se tomaron alícuotas de 3 ml de la suspensión de cada hongo, las cuales fueron depositadas individualmente en cajas petri con medio de cultivo PDA que contenían 20 hembras de *Meloidogyne* spp., previamente depositadas y marcado el sitio de ubicación.

Las cajas fueron agitadas manualmente en forma suave y dejadas en incubación a temperatura ambiente durante siete días, tiempo en el cual, el hongo coloniza el medio.

2.3.4 Diseño experimental: Para probar el efecto de parasitismo de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus* sobre hembras de *Meloidogyne* spp. en el laboratorio, se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y cuatro repeticiones así:

- Testigo. Sin inoculación
- *Beauveria bassiana*. 3 ml de la concentración (5×10^{10} conidias/ ml)
- *Metarhizium anisopliae*. 3 ml de la concentración (5×10^{10} conidias/ ml)
- *Paecilomyces lilacinus*. 3 ml de la concentración (5×10^{10} conidias/ ml)

La unidad experimental la constituyó 20 hembras del nematodo dispuestas en una caja petri más el tratamiento.

2.3.5 Variable evaluada: La variable evaluada fue el número de hembras parasitadas. Se utilizó la siguiente fórmula para determinar el porcentaje de infección de *M. anisopliae*, *B. bassiana* y *P. lilacinus* sobre hembras de *Meloidogyne* spp.

⁹⁹ LEGUIZAMON Y PADILLA, Op. cit., p. 29 – 41.

$$\% \text{ de infección} = \frac{\text{No. de hembras infectadas} \times 100}{\text{Total de hembras}}$$

Pasados los siete días, se retiraron cuidadosamente las hembras con agujas de disección y se las montó en placas portaobjetos, a las cuales se les adicionó previamente una gota de azul de lactofenol para facilitar la observación al microscopio de las estructuras de los hongos y su parasitismo.

2.3.6 Análisis Estadístico: Para estas pruebas se transformaron los datos obtenidos anteriormente mediante la fórmula $Y = \arcsin \sqrt{x}$ y se hizo un análisis de variancia ANDEVA y la comparación de promedios mediante la prueba de Tukey.

2.4 FASE DE INVERNADERO

2.4.1 Propagación del material vegetal de tomate de árbol y de lulo: A nivel de invernadero se hicieron semilleros de tomate de árbol y lulo con un sustrato (2:1) de suelo y arena desinfectados con Formol 5% (1 cc/lt). Se utilizó semilla sexual de lulo criollo y tomate de árbol amarillo de la marca SEMICOL, obtenida en casas comerciales. Los semilleros se regaron diariamente.

A los treinta días, cuando las plantas emergieron, se transplantaron 112 plantas de cada especie en recipientes de 2 Kg., los cuales contenían el mismo sustrato que contenían los semilleros.

Las plantas se regaron diariamente para evitar la deshidratación y se les aplicaron 5 g de un fertilizante completo (15 – 15 -15).

2.4.2 Inóculo de los hongos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus*: Para esta fase de la investigación se tomó el inóculo multiplicado en botellas de vidrio de boca ancha con sustrato de arroz cocido y se calibró una concentración de 5×10^8 conidias/ml, los procesos realizados en esta etapa de la investigación, son iguales a los usados en la fase de laboratorio.

2.4.3. Obtención de huevos de *Meloidogyne* spp.: Se llevó a cabo la metodología descrita por (Erazo, 1987)¹⁰⁰. Las raíces de los dos cultivos, recolectadas en campo, que presentaron nudos, se cortaron en pequeños trozos, se lavaron suavemente con agua corriente, y se licuaron durante 30 segundos, finalmente se pasaron por dos tamices, un superior de 200 mallas y un inferior de 500 mallas.

La porción que quedó en el tamiz de 500 mallas, se lavó y se lo llevó a un erlenmeyer en cantidad de un litro, se agitó fuertemente y se colocó una gota en la cámara de Neubauer para contar la población de huevos por mililitro, calibrando una cantidad de 300 huevos/mililitro de suspensión.

2.4.4 Pruebas de Patogenicidad en invernadero: Estas pruebas se hicieron cuando las plantas de tomate de árbol y lulo tuvieron un mes de edad. Se realizaron con el fin de evaluar el porcentaje de infección radical de cada planta y así determinar la eficiencia de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. lilacinus*, para ello se ajustaron concentraciones de 5×10^8 conidias/ml de cada hongo y 300 huevos/ml del nematodo, que fueron posteriormente inoculadas.

2.4.4.1 Inoculación de hongos: Calibrada la concentración de 5×10^8 conidias/ml., se tomaron 20 ml de la suspensión y se regaron alrededor de la planta incorporando la solución en los primeros cinco centímetros del suelo. Metodología modificada de la propuesta por Fernández y García (1996)¹⁰¹, en la contabilización de esporas del hongo por mililitro.

2.4.4.2 Inoculación de *Meloidogyne* spp: Se siguió la metodología descrita por Erazo (1987); por cada unidad experimental, en cada uno de los tratamientos, se agregó una cantidad de 100 ml de suspensión o inóculo que contenían un total de 30.000 huevos de *Meloidogyne* spp., esta solución fue aplicada y mezclada en los primeros cinco centímetros superficiales del suelo de cada planta.

2.4.5 Diseño experimental: En invernadero para tomate de árbol y lulo se realizó un diseño completamente al azar con 7 tratamientos correspondientes a la inoculación de hongos en dos épocas; antes y después de la inoculación del nematodo y con 4 repeticiones. Los tratamientos fueron los siguientes:

¹⁰⁰ ERAZO, Op. cit., p. 84.

¹⁰¹ FERNANDEZ Y GARCIA, Op. cit., p. 67.

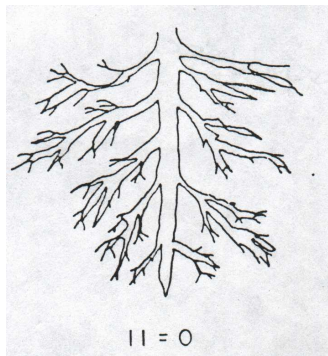
1. Testigo . Con inoculación de 30000 huevos de *Meloidogyne* spp. únicamente
2. *Beauveria bassiana* aplicado diez días antes de la inoculación de 30000 huevos *Meloidogyne* spp.
3. *Metarhizium anisopliae* aplicado diez días antes de la inoculación de 30000 huevos *Meloidogyne* spp.
4. *Paecilomyces lilacinus* aplicado diez días antes de la inoculación de 30000 huevos *Meloidogyne* spp.
5. *Beauveria bassiana* aplicado diez días después de la inoculación de 30000 huevos *Meloidogyne* spp.
6. *Metarhizium anisopliae* aplicado diez días después de la inoculación de 30000 huevos *Meloidogyne* spp.
7. *Paecilomyces lilacinus* aplicado diez días después de la inoculación de 30000 huevos *Meloidogyne* spp.

Los tratamientos fueron distribuidos totalmente al azar en las mesas del lugar. La unidad experimental estuvo conformada por cuatro plantas

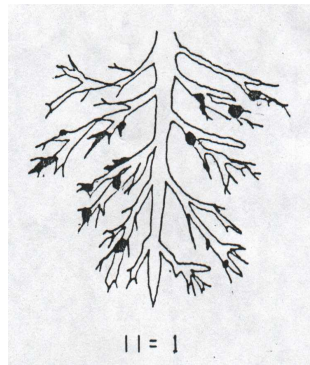
2.4.6 Variable evaluada: Transcurridos 60 días después de aplicadas las inoculaciones tanto del nematodo como de los hongos, cada una de las plantas se sacaron presionando el recipiente que contenía la planta, tratando de no ocasionar daños al sistema radical, se lavaron las raíces para evaluar los índices y porcentajes de infección por *Meloidogyne* spp. comparándolas con la escala propuesta por Taylor y Sasser (1983)¹⁰² Figura 4. Tabla 1.

¹⁰² TAYLOR, A. y SASSER, J. Biología, identificación y control de nemátodos del nudo de la raíz (especies de *Meloidogyne*) C.I.P USA. Artes gráficas de la universidad del estado de Carolina del Norte, 1983. 111p.

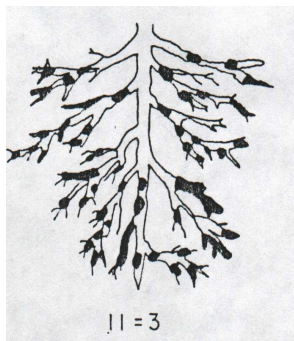
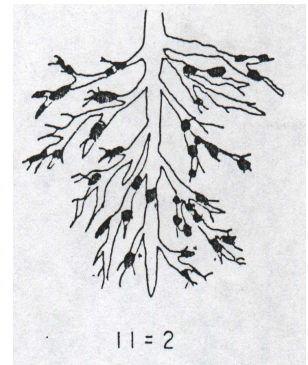
Figura 4. Índice y porcentaje de infestación radical en tomate de árbol y lulo por *Meloidogyne* spp.



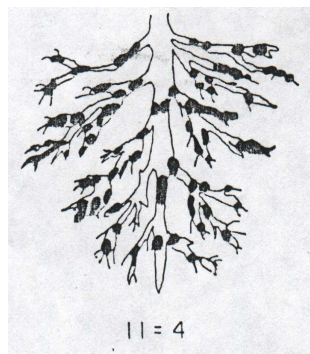
% 0
% = 11 - 25



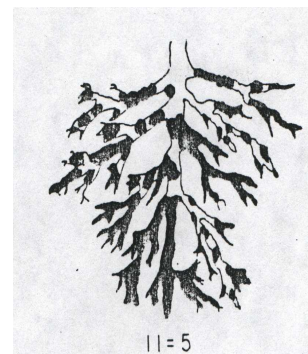
% = 0 - 10



% = 26 - 50
100



% = 51 - 75



% = 76 -

(II = Índice de infestación)

Fuente: Taylor y Sasser (1983)

Tabla 1. ESCALA DE INFECCION RADICAL (TAYLOR Y SASSER, 1983)

GRADOS	INFECCION RADICAL
0	Raíces sin daño de nematodos
1	Pocos nudos pequeños, difíciles de encontrar
2	Nudos del mismo tamaño que en uno, pero más numerosos.
3	Nudosidades alargadas. El sistema radical no sufre mucho.
4	El 50% del sistema radical no funciona, debido a la hipertrofia de los tejidos.
5	La alimentación de la planta es interrumpida, hay pudrición de tejidos afectados

2.4.7 Análisis estadístico: Se hizo el análisis de variancia para cada cultivo y la comparación de promedios, mediante la prueba de Tukey.

Los datos en porcentaje fueron transformados mediante la fórmula $Y = \arccos(\sqrt{X})$.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 FASE DE LABORATORIO

3.1.1 Inóculo de los hongos *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus*: A partir de las cepas de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus*, se obtuvieron en cajas petri colonias activas de estos mismos hongos las cuales presentaron las siguientes características:

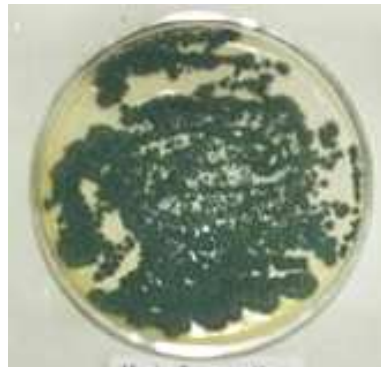
- ***Beauveria bassiana*:** Micelio blanco que se desarrolla en forma circular, de apariencia vellosa a polvorienta. Figura 5.

Figura 5. Crecimiento de *Beauveria bassiana* en medio PDA.



- ***Metarhizium anisopliae***: Al los tres días después del aislamiento, se observó que las colonias de este hongo presentan un aspecto de masa verde oliva y apariencia polvorienta que se desarrolla en forma rápida. Figura 6.

Figura 6. Crecimiento de *Metarhizium anisopliae* en medio PDA.



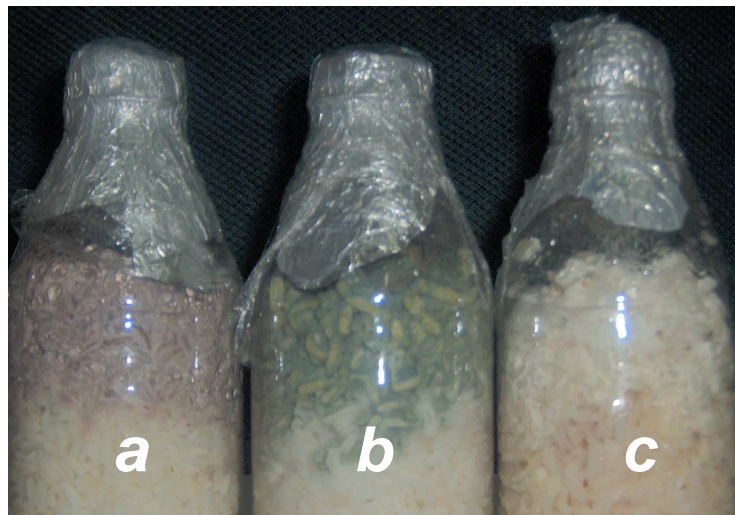
- ***Paecilomyces lilacinus***: El hongo se desarrolla de forma rápida con crecimiento en colonias dispersas, circulares, inicialmente de micelio blanco algodónoso que después se torna rosado. Figura 7.

Figura 7. Crecimiento de *Paecilomyces lilacinus* en medio PDA.



3.1.2 Multiplicación de hongos: Se observó que los hongos cultivados en el sustrato de arroz presentaron un alto grado de colonización a los 25 días después de la inoculación, tiempo que se consideró como el óptimo para la cosecha de esporas que fueron utilizadas en las pruebas de patogenicidad tanto en laboratorio como en invernadero. Estos resultados se pueden observar en la Figura 8.

Figura 8. *Paecilomyces lilacinus* (a), *Metarhizium anisopliae* (b) y *Beauveria bassiana* (c) multiplicados en botellas de vidrio de boca ancha con sustrato de arroz esterilizado.



3.1.3 Pruebas de patogenicidad *in vitro*.

3.1.3.1 Parasitismo de hongos sobre hembras de *Meloidogyne* spp.: A los siete días después de la inoculación de cada uno de los hongos sobre hembras de *Meloidogyne* spp., se encontró que *M. anisopliae*, *B. bassiana* y *P. lilacinus* presentaron porcentajes de parasitismo de 82.32, 74.65 y 73.11% respectivamente como se observa en la Tabla 2 del anexo.

El análisis de variancia muestra diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo al cual no se realizó inoculación del hongo (tabla 3 del anexo). Estos

resultados fueron comparados mediante la prueba de Tukey (Tabla 4 del anexo), la cual indicó que los tratamientos *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. lilacinus*, fueron altamente significativos al 99% de probabilidad estadística comparados con el testigo.

Así mismo, no se encontraron diferencias en el parasitismo entre hongos, lo cual indica que en condiciones de laboratorio en las cuales se llevó a cabo el experimento, *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. lilacinus* son igualmente efectivos para parasitar al nematodo.

Esta prueba permitió observar la capacidad de parasitismo de *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces lilacinus* como controladores de *Meloidogyne* spp, registrada en trabajos anteriores por Leguizamón y Padilla, 2001¹⁰³; Mosquera y Murcia, 1997¹⁰⁴; Cardona y Leguizamón, 1997¹⁰⁵; Padilla, Leguizamón y Velásquez, 2001¹⁰⁶, quienes bajo las mismas condiciones de este estudio, demostraron la eficiencia de estos hongos.

Igualmente, con todos los tratamientos se encontró patogenicidad *in vitro* superior al 70%, resultando comparable con la patogenicidad *in vitro* del 76% de los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre huevos de *Meloidogyne* spp., encontrada por Padilla, Leguizamón y Velásquez (2001)¹⁰⁷.

La efectividad de parasitismo contra *Meloidogyne* spp. de estos hongos en laboratorio se puede comparar también, con la obtenida en estudios realizados por Hincapié y Leguizamón (1999)¹⁰⁸, quienes utilizaron el hongo *Verticillium chlamidosporium*, el cual se ha registrado como un excelente biocontrolador de este nematodo, lo anterior demuestra que existen otras alternativas con un alto potencial para el control de estados de *Meloidogyne* spp.

¹⁰³ LEGUIZAMON Y PADILLA, Op. cit., p. 29 – 41.

¹⁰⁴ MOSQUERA Y MURCIA, Op. cit., p. 25-29.

¹⁰⁵ CARDONA Y LEGUIZAMON, Op. cit., p. 39 – 52.

¹⁰⁶ PADILLA, LEGUIZAMON Y VELÁSQUEZ , Op. cit., p. 249 – 269.

¹⁰⁷ Ibit. p. 249-269.

¹⁰⁸ HINCAPIÉ Y LEGUIZAMON, Op. cit., p. 286-298.

Aunque son pocos los estudios realizados con *B. bassiana* y *M. anisopliae* para el control de *Meloidogyne* spp, el potencial de estos puede deberse a su habilidad biocontroladora contra patógenos del suelo, ya que estos hongos han sido registrados como parásitos de insectos plagas del suelo por autores como Jiménez, (1999)¹⁰⁹ y Sañudo *et al.*, (2001)¹¹⁰.

Desde el contacto con las hembras, estos hongos crecen rápidamente y las parasitan. Mediante registros fotográficos se pudo observar en detalle las características de parasitismo que realiza cada hongo sobre las hembras de *Meloidogyne* spp.

- ***M. anisopliae***: Se observó abundante proliferación de micelio y estructuras de reproducción en hembras del nematodo, corroborando el parasitismo de este hongo observado en trabajos anteriores realizados por Padilla, Leguizamón y Velásquez (2001)¹¹¹.

El hongo *M. anisopliae* inicia la colonización penetrando a través de la cutícula de la hembra de *Meloidogyne* spp. con abundante producción de esporas del hongo (Figura 9). Como consecuencia del ataque del hongo, hubo total destrucción de la pared celular de la hembra y del tejido interno, con agregado de origen fúngico. Figura 10.

Además se pudo observar que después de la colonización del hongo sobre la hembra del nematodo, aparecieron sobre la pared de la hembra conidioforos de *M. anisopliae*. Figura 11.

¹⁰⁹ JIMÉNEZ, Op. cit., <http://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/BANA-BIO>.

¹¹⁰ SAÑUDO *et al.*, Op. cit., p. 201.

¹¹¹ PADILLA, LEGUIZAMON Y VELÁSQUEZ , Op. cit., p. 249 – 269.

Figura 9. Hembra de *Meloidogyne* spp. colonizada por *Metarhizium anisopliae* (a), obsérvese la abundante proliferación de esporas penetrando a través de la cutícula (b).

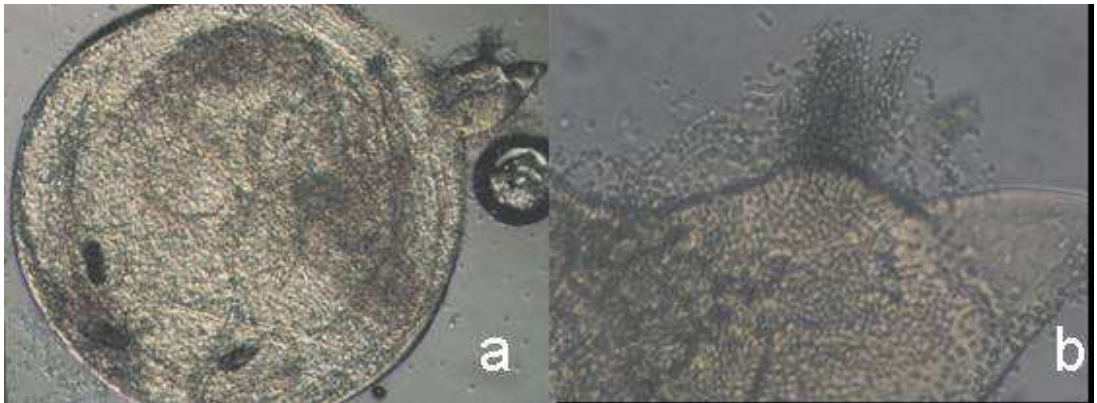


Figura 10. Hembra de *Meloidogyne* spp. destruida a causa del parasitismo de *Metarhizium anisopliae*, obsérvese la proliferación de esporas y el abundante agregado micelial interno y externo del hongo.

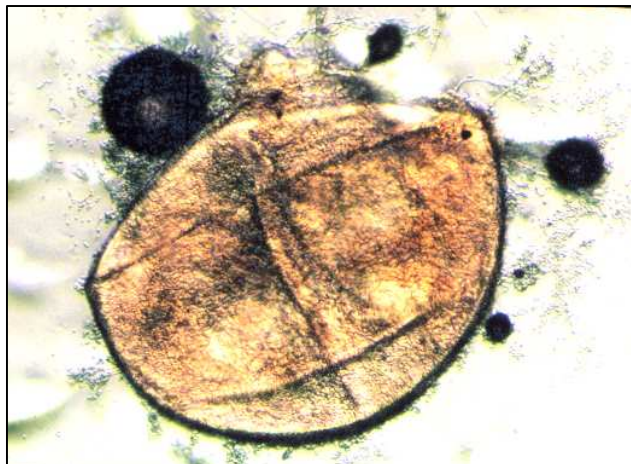
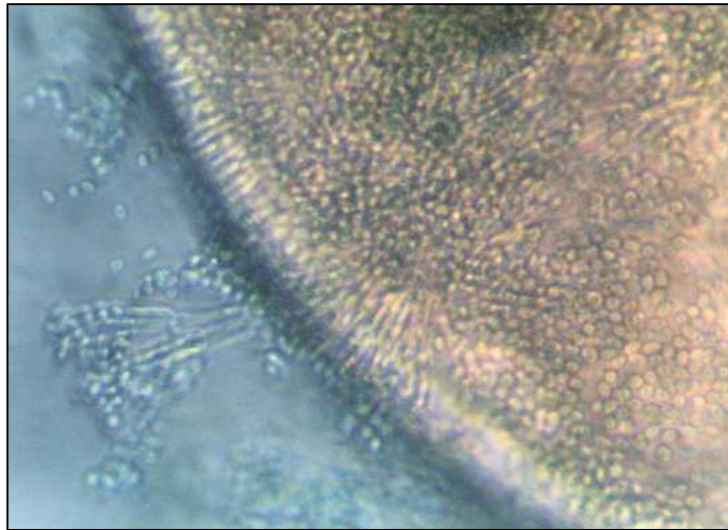
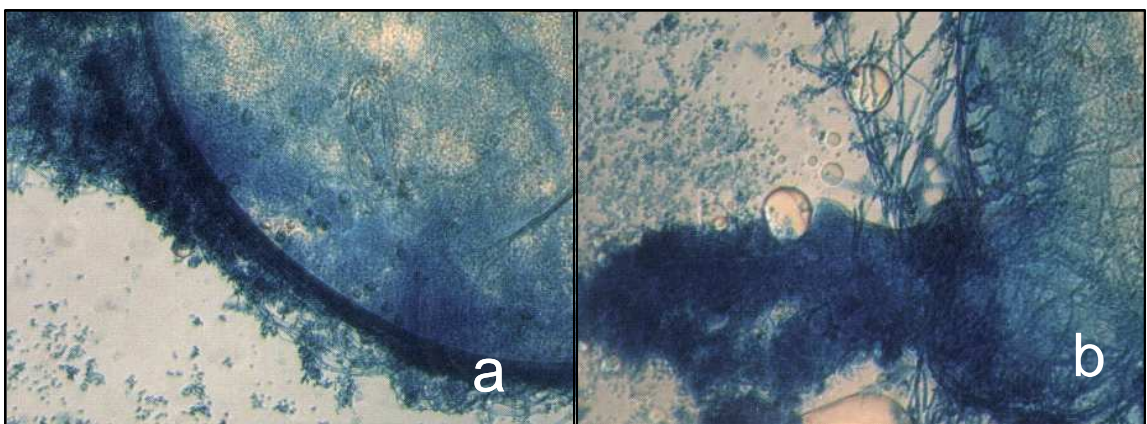


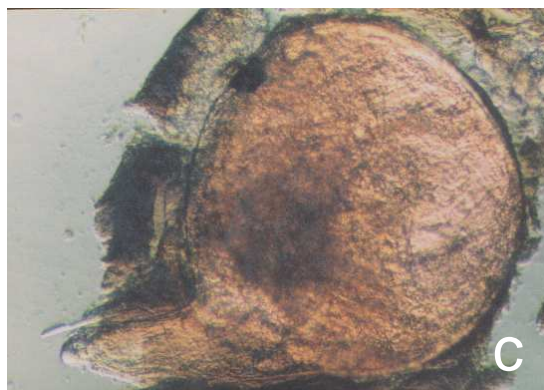
Figura 11. Conidioforos de *Metarhizium anisopliae* sobre la hembra de *Meloidogyne* spp.



- ***B. bassiana***: Con respecto a este hongo, las esporas de *B. bassiana*, forman una red que entra en contacto con la superficie de la hembra, posteriormente penetra a la hembra y reemplaza con sus estructuras el contenido interno de ésta. Figura 12.

Figura 12. Esporas de *B. bassiana*, formando una red que entra en contacto con la superficie de la hembra (a), posteriormente penetra a la hembra (b) y reemplaza con sus estructuras el contenido interno de ésta (c).





- ***P. lilacinus***: Las estructuras de este hongo sobre la pared celular de la hembra, indican que el hongo internamente ya ha parasitado a la hembra huésped. Figura 13 y 14.

Según Jatalá (1986) citado por Cardona y Legizamón (1997)¹¹², el hongo *P.lilacinus* penetra las hembras por lo general a través de la apertura anal o vulval.

Cardona y Legizamón (1997)¹¹³, señalan que *P.lilacinus* produce colagenasas que destruyen la cutícula de las hembras, por lo tanto este hongo presenta la capacidad de producir enzimas específicas que degradan la pared de hembras de *Meloidogyne* spp.

¹¹² CARDONA Y LEGUIZAMON, Op. cit., p. 39 – 52.

¹¹³ Ibit, p. 39-52.

Figura 13. Conidioforos del hongo *Paecilomyces lilacinus* sobre la cutícula de la hembra de *Meloidogyne* spp.



Figura 14. Hembras de *Meloidogyne* spp. con abundante agregado micelial interno y externo de *Paecilomyces lilacinus*.



3.2 FASE DE INVERNADERO

3.2.1 Pruebas de Patogenicidad en invernadero:

3.2.1.1 Evaluación de los Índices y porcentajes de infestación por *Meloidogyne* spp.: A los dos meses después de aplicadas las inoculaciones de los hongos y del nematodo se evaluaron los índices y porcentajes de infestación de *Meloidogyne* spp.

En este experimento todos los tratamientos probados tanto en tomate de árbol como en lulo presentaron porcentajes de infección radical entre 0 y 60%, explicado por la población inicial del nematodo (población inoculada) y al incremento poblacional de este a través del tiempo. Además, la aplicación dirigida del inóculo del nematodo sobre las raíces de la planta fue una condición altamente favorable para la infección y por esto altamente exigente para que los hongos realizaran su control. Figura 15 y 16.

Al respecto Cano *et al.*, (1980) citados por Giraldo y Leguizamon (1997)¹¹⁴ demostraron que 600 juveniles de *Meloidogyne* spp. ubicados en la zona de raíces de una planta de café, son suficientes para generar una infección de grado 5, tres meses después de ser inoculados. Lo anterior indica que cualquier población inicial superior a 30.000 huevos o 600 juveniles usada para la infección de raíces es adecuada ya que la población de estos se incrementa con el tiempo.

Lo anterior demuestra la dificultad que presenta el control del nematodo del nudo radical con el empleo de una sola medida de control, pues ninguna de ellas, salvo la esterilización del suelo, garantiza la supresión total del inóculo¹¹⁵.

Además, se demuestra la importancia de adoptar estrategias preventivas de manejo, antes del establecimiento de la población del nematodo.

Los resultados obtenidos en esta investigación con la aplicación de *M. anisopliae* y *B. bassiana* y *P. lilacinus*, los cuales se indican a continuación, muestran un

¹¹⁴ GIRALDO Y LEGUIZAMON, Op. cit., p. 104 -117.

¹¹⁵ BAUER, Op. cit., p. 377.

promisorio potencial de estos en el control biológico de *Meloidogyne* spp. en condiciones de invernadero, para ser incluidos en un plan de manejo integrado.

Figura 15. Raíces de tomate de árbol con porcentajes de infección radical entre 0 y 60%.



Figura 16. Raíces de lulo con porcentajes de infección radical entre 0 y 60%.



3.2.1.1.1 Tomate de árbol: El análisis de variancia (Tabla 5 del anexo) muestra diferencias significativas entre tratamientos, estos resultados fueron comparados mediante la prueba de Tukey (Tabla 6 del anexo), la cual muestra que todos los tratamientos (Figura 17), excepto el tratamiento donde se utilizó *B. bassiana* diez días después de inoculado *Meloidogyne* spp., presentaron a nivel del 99% de probabilidad estadística control de *Meloidogyne* spp. contrastado con el testigo, quien obtuvo un porcentaje de infección igual a 48.31%. Figura 18.

Figura 17. Raíces de tomate de árbol con el efecto de seis tratamientos: T1 *B. bassiana*, T2 *M. anisopliae* y T3 *P. lilacinus* aplicados después de *Meloidogyne* spp. y T4 *B. bassiana*, T5 *M. anisopliae* y T6 *P. lilacinus* aplicados antes de *Meloidogyne* spp.

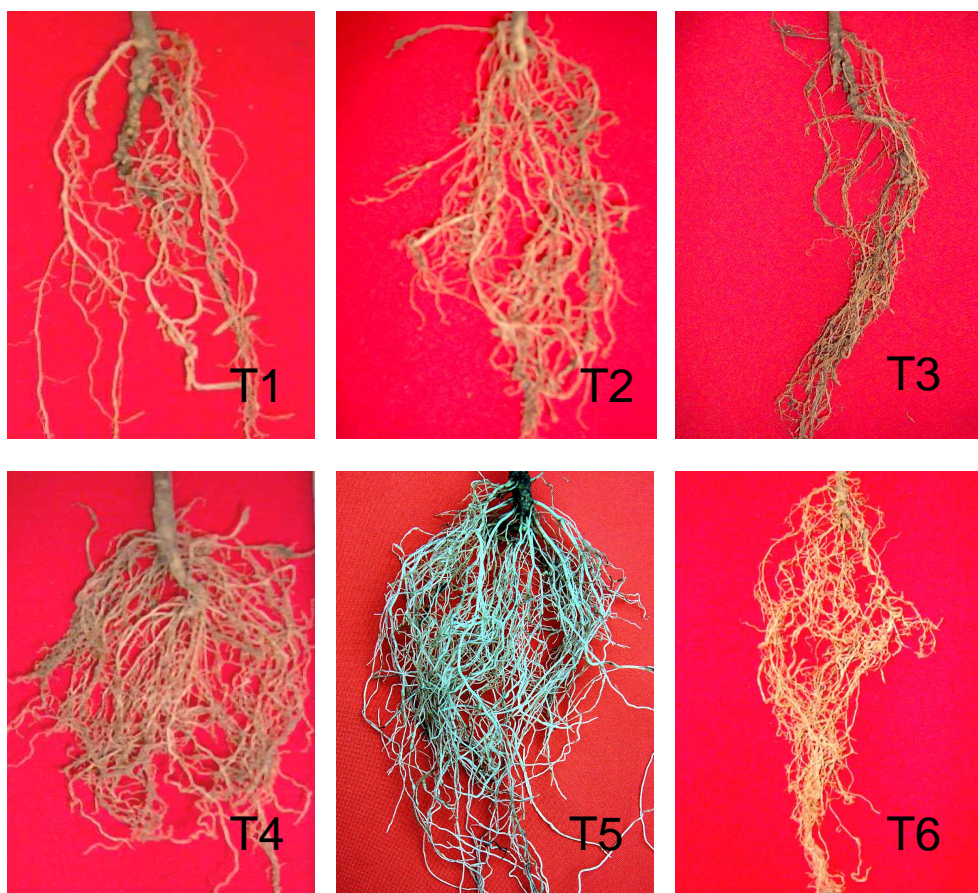


Figura 18. Raíces testigo de tomate de árbol después la inoculación de *Meloidogyne* spp.



Así mismo se encontró que el menor porcentaje de raíces de tomate de árbol infectadas se obtuvo con la utilización de *M. anisopliae* aplicado antes de la inoculación del nematodo (Tabla 6 del anexo) con un promedio de 18.23%, presentando diferencias estadísticas al nivel del 95% con respecto al testigo, a *B. bassiana* aplicado después y del 99% a *P. lilacinus* aplicado antes de la inoculación. Figura 19.

Figura 19. Raíces de tomate de árbol después de aplicado el tratamiento *M. anisopliae* inoculado diez días antes de *Meloidogyne* spp.



Sin embargo *B. bassiana* aplicado diez días antes de la inoculación de *Meloidogyne* spp. con un porcentaje de infección radical igual a 23.70%, también presentó diferencias estadísticas a nivel de 99% con respecto al testigo y a *B. bassiana* aplicado diez días después de la inoculación del nematodo, los cuales obtuvieron porcentajes de infección radical de 48.31 y 36.17%, respectivamente (tabla 6 del anexo). En esta parte de la investigación se destaca la ventaja de la aplicación del hongo *B. bassiana* diez días antes de inocularse el nematodo.

Con respecto a estos resultados, Leguizamón y Padilla (2001)¹¹⁶, obtuvieron porcentajes de mortalidad de 64.28% y 52.24% con *B. bassiana* y *M. anisopliae*, respectivamente, aplicando 2 gramos de los hongos cultivados en arroz por 150 gramos de suelo estéril. En esta investigación con la metodología descrita en el anterior capítulo, se obtuvieron para *M. anisopliae* y *B. bassiana* aplicado diez días antes de inocularse *Meloidogyne* spp. una reducción de la enfermedad del 62.25% y 50.93%, respectivamente, comparado con el testigo.

Según Narváez (1996), citado por Leguizamón y Padilla (2001)¹¹⁷, el ecosistema del suelo puede proveer muchas condiciones favorables para que sobrevivan los hongos, entre ellas, la protección a la radiación solar y los nutrimentos presentes en los exudados de las raíces, suelo y superficie de los hospedantes. El antagonismo de *B. bassiana* y *M. anisopliae* sobre insectos plagas del suelo puede servir de referencia por su supervivencia en este ambiente para ser utilizados con otros patógenos del suelo como es *Meloidogyne* spp.; parasitismo que se comprobó en esta investigación.

Con respecto al tratamiento donde se utilizó *P. lilacinus* aplicado antes que el nematodo, se esperaba obtener mejores resultados, ya que este hongo ha sido registrado por muchos autores (Molina, 1989¹¹⁸; Erazo, 1987¹¹⁹; Cárdenas y Benavides, 1996¹²⁰) como un excelente parásito de *Meloidogyne* spp., posiblemente este resultado se deba a la especificidad del hongo sobre *Meloidogyne incognita* registrada por los autores anteriormente mencionados y a

¹¹⁶ LEGUIZAMON Y PADILLA, Op. cit., p. 29 – 41.

¹¹⁷ LEGUIZAMON Y PADILLA, Op. cit., p. 29 – 41.

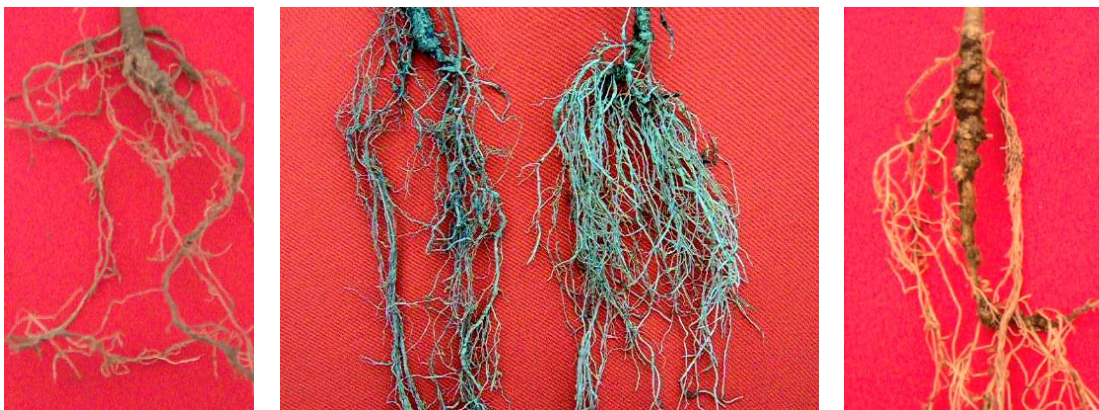
¹¹⁸ MOLINA, Op. cit., p. 53.

¹¹⁹ ERAZO, Op. cit., p. 84.

¹²⁰ CARDENAS Y BENAVIDES, Op. cit., p. 109.

que cada hongo requiere condiciones específicas para su establecimiento y desarrollo¹²¹. Figura 20.

Figura 20. Raíces de tomate de árbol con el tratamiento *P. lilacinus*. aplicado diez días antes de inoculado *Meloidogyne* spp.



Al respecto, Rodríguez y Kábana, (1984), citados por Fernández y García (1996)¹²², observaron diferencias en la virulencia de aislados de *P. lilacinus* en huevos de nematodos y concluyen que dentro de una especie de hongo ocurren variaciones en lo que se refiere a la capacidad parasitaria y que, diferencias entre razas o biotipos pueden ser decisivas en este aspecto. Esto podría ser una razón más para entender la baja eficiencia de *P. lilacinus* como controlador de la enfermedad del nudo radical.

Por otra parte García y Obando (2005)¹²³, identificaron diferentes especies de *Meloidogyne* afectando tomate de árbol y lulo en Nariño, situación que requiere, posiblemente estrategias de control diferentes para cada caso o la integración de varias medidas para ampliar las posibilidades del éxito.

¹²¹ STIRILING, Op. cit., p. 227.

¹²² FERNANDEZ Y GARCIA, Op.cit., p. 67.

¹²³ GARCIA Y OBANDO, Op. cit., p.57.

Steriling (1991)¹²⁴, explica que *P. lilacinus* puede realizar su acción parasítica sobre huevos de *Meloidogyne* spp. gracias a complejos procesos bioquímicos de reconocimiento y síntesis de enzimas, que le permiten degradar la pared de los huevos y producir su colonización. Al respecto, la expresividad del parasitismo no siempre se da. Según estudios realizados por Tirano M. *et al.*, (1995) citado por Giraldo y Leguizamón (1997)¹²⁵ donde fueron evaluados 14 aislamientos de *P. lilacinus.*, a pesar de la homogeneidad observada entre estos, solo uno mostró un alto parasitismo sobre huevos de *M. javanica*.

Otros procesos como mutación o adaptación del hongo son señalados como causas de resultados contradictorios, además de la influencia que tiene el suelo y el tipo de planta sobre el control final del nematodo, ya que el hongo puede no colonizar el suelo donde fue inoculado a pesar de sobrevivir en él, durante varios años¹²⁶.

La aplicación de *M. anisopliae* diez días después de inoculado *Meloidogyne* spp. también presentó diferencias estadísticas a nivel de 99% con respecto a los tratamientos *B. bassiana* inoculado después del nematodo y al testigo. En esta parte de la investigación, *M. anisopliae*, resultó efectivo antes y después del nematodo con promedios de 18.23% y de 29.63% respectivamente. Figura 21.

Figura 21. Raíces de tomate de árbol con el tratamiento *M. anisopliae* aplicado diez días después de inoculado *Meloidogyne* spp.



¹²⁴ STIRILING, Op. cit., p. 227.

¹²⁵ GIRALDO Y LEGUIZAMON, Op. cit., p. 104 -117.

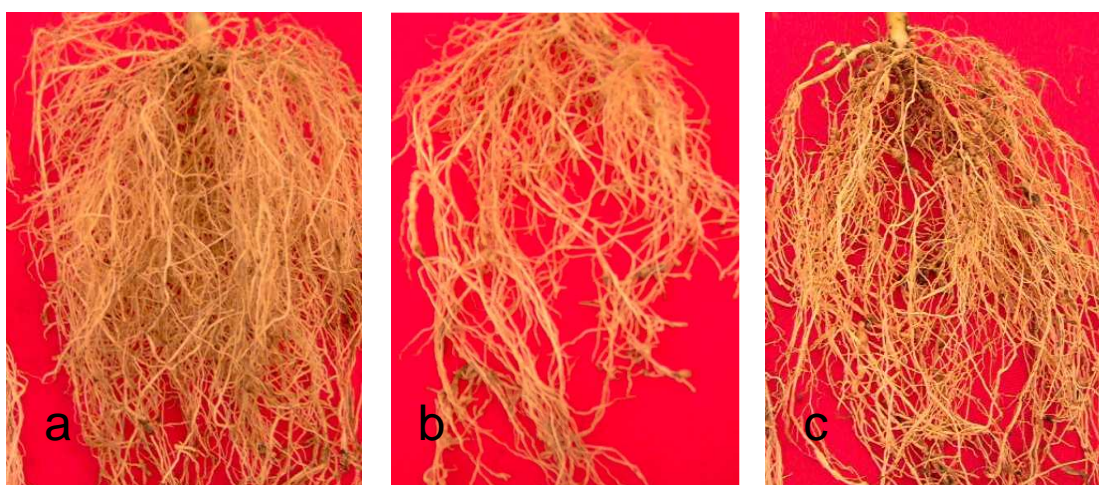
¹²⁶ STIRILING, Op. cit., p. 227.

3.2.1.1.2 Lulo: El análisis de variancia (Tabla 7 del anexo) muestra diferencias significativas entre tratamientos, estos resultados fueron comparados mediante la prueba de Tukey (Tabla 8 del anexo), la cual indica que todos los tratamientos excepto el tratamiento donde se utilizó *B. bassiana* diez días después de inoculado *Meloidogyne* spp. presentaron a nivel del 95% de probabilidad estadística mayor control de *Meloidogyne* spp. contrastado con el testigo, quien obtuvo un porcentaje de infección igual a 35.96%.

Sin embargo, el menor porcentaje de raíces de lulo infectadas se obtuvo con la utilización de *P. lilacinus* aplicado diez días antes de la inoculación del nematodo con un promedio de 5.13 % de infección radical, presentando diferencias estadísticas al nivel del 99% con respecto al testigo, a *B. bassiana* y a *M. anisopliae* aplicado diez días después de la inoculación de *Meloidogyne* spp. (Tabla 8 del anexo).

Los tratamientos en los que se utilizaron los hongos *P. lilacinus*, *M. anisopliae* y *B. bassiana* diez días antes de la inoculación de *Meloidogyne* spp. (Tabla 8 del anexo), presentaron los promedios mas bajos de infección de raíces con promedios de 5.12, 10.4 y 15.7% respectivamente, resultando diferentes al nivel del 99% de probabilidad estadística con respecto a *M. anisopliae* y *B. bassiana* aplicados después del nematodo. Figura 22.

Figura 22. Raíces de lulo con el efecto de tres tratamientos: (a) *P. lilacinus*, (b) *M. anisopliae* y (c) *B. bassiana* aplicados diez días antes de la inoculación de *Meloidogyne* spp.



El hecho de obtenerse menor infección de la enfermedad con la aplicación de los tratamientos *P. lilacinus*, *M. anisopliae* y *B. bassiana* antes de la inoculación del nematodo, es debido probablemente a que el hongo tiene la oportunidad de establecerse en el medio para posteriormente hacer evidente el parasitismo, lo anterior indica la ventaja del control preventivo.

Los mismos tratamientos (*B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. lilacinus* antes de la inoculación de *Meloidogyne* spp.), redujeron la enfermedad en porcentajes de 56.22, 70.96 y 85.76%, respectivamente, resultados superados a los obtenidos por Giraldo y Leguizamón, (1997)¹²⁷ quienes encontraron reducción de la población de *Meloidogyne* spp., entre un 32 y 49%. con la aplicación de *P. lilacinus*.

Los resultados de este trabajo son comparados con los obtenidos por Molina (1989)¹²⁸ quien encontró que la aplicación de *P. lilacinus*, 15 días antes del trasplante, permite mejores resultados de control de *Meloidogyne incognita*.

De acuerdo a lo anterior Jiménez (1999)¹²⁹, demuestra en el cultivo de banano que *P. lilacinus* es efectivo contra *M. incognita*, principalmente cuando se utiliza como agente preventivo, antes del trasplante y en el momento de la siembra.

Igualmente, Cárdenas y Benavides (1996)¹³⁰ encontraron en cultivos de melón y sandía, eficiente la aplicación de *P. lilacinus* en el control de *Meloidogyne* spp. con porcentajes de infestación radical del 13%, resultados comparables con los obtenidos en esta investigación al aplicar los tratamientos *M. anisopliae*, *P. lilacinus* y *B. bassiana* antes de la inoculación de *Meloidogyne* spp. los cuales presentaron porcentajes menores de infección radical iguales a 10.45, 5.13, 15.74% respectivamente y también *P. lilacinus* después de inoculado *Meloidogyne* spp. presentó un 15.75% de infección radical (Tabla 8 del anexo).

Así mismo, Giraldo y Leguizamón, (1997)¹³¹ demostraron en almácigos de café variedad Caturra que *Paecilomyces lilacinus* a una dosis de 50 gramos/bolsa,

¹²⁷ GIRALDO Y LEGUIZAMON, Op. cit., p. 104 -117.

¹²⁸ MOLINA, Op. cit., p. 53

¹²⁹ JIMÉNEZ, Op. cit., <http://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/BANA-BIO>.

¹³⁰ CARDENAS Y BENAVIDES, Op. cit., p. 109

¹³¹ Ibit p. 104 -117.

redujo significativamente el daño radical causado por *Meloidogyne* spp., presentando un grado de infección igual a 3.94%. Estos resultados coinciden con los obtenidos, en los cuales la aplicación del mismo hongo antes de ser inoculado el nematodo, presentó porcentajes de infección iguales al 5.13 %.

Jiménez y Gallo (1986) citados por Fernández y García(1996)¹³², realizaron trabajos sobre la efectividad de *P. lilacinus* en el manejo de *M. icognita*, obteniendo grados de eficacia de 79.75 y 65.95 % con dosis de 0.75 y 1 gramos de arroz estéril con crecimiento del hongo respectivamente, resultados comparables con los obtenidos en este trabajo no solo con la aplicación de *P. lilacinus* antes del nematodo; sino también con la aplicación del hongo *M. anisopliae* con porcentajes de control de 85.76 y 70.96% respectivamente.

Sin embargo *P. lilacinus* aún aplicado diez días después de la inoculación del nematodo presentó un promedio de 15.74% de infección radical, similar estadísticamente al nivel de 99% de probabilidad a los tratamientos en los cuales se aplicaron los hongos *M. anisopliae* y *B. bassiana* antes del nematodo. (tabla 8 del anexo). Figura 23.

Lo anterior indica que *P. lilacinus* no pierde su eficiencia aplicado antes o después del nematodo.

Por el contrario, al no tener el tiempo necesario para establecerse *M. anisopliae* y *B. bassiana*, aplicados después de la inoculación del nematodo, no llegaron a manifestar el parasitismo ideal como control. Figura 24 y 25.

¹³² FERNANDEZ Y GARCIA, Op.cit., p. 67.

Figura 23. Raíces de lulo con un porcentaje de infección radical igual al 15% después de aplicado el tratamiento *P. lilacinus* después de la inoculación de *Meloidogyne* spp.



Figura 24. Raíces de lulo con porcentajes de infección radical de 30 y 35% después de aplicado el tratamiento *B. bassiana* después de la inoculación de *Meloidogyne* spp.

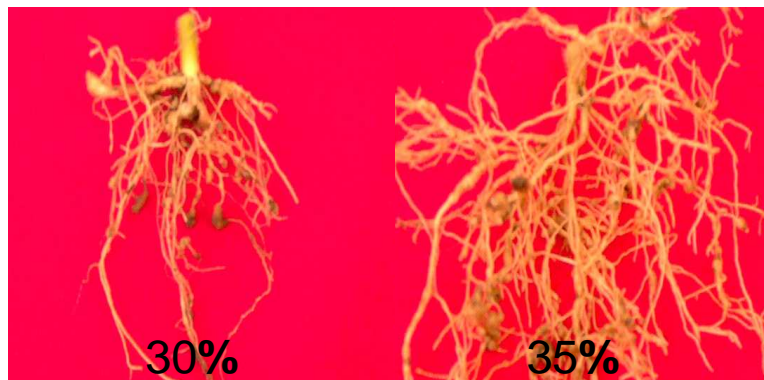


Figura 25. Raíces de lulo con porcentajes de infección radicales de 15, 20 y 25%, después de aplicado el tratamiento *M. anisopliae* después de la inoculación de *Meloidogyne* spp.



El tratamiento *B. bassiana* aplicado después de inoculado el nematodo no presentó ningún control sobre *Meloidogyne* spp. contrastado con el testigo ya que tuvieron porcentajes de 33.42 y 35.95 % respectivamente. Este resultado nos indica que el hongo *Beauveria bassiana* no debe ser usado como control curativo de la enfermedad.

4. CONCLUSIONES

- En condiciones de laboratorio *M. anisopliae*, *B. basssiana* y *P. lilacinus*, mostraron gran capacidad de parasitismo sobre hembras de *Meloidogyne* spp., la cual disminuyó bajo condiciones de invernadero.
- En tomate de árbol y lulo todos los tratamientos, excepto el tratamiento en el que se usó *B. bassiana* después de inoculado *Meloidogyne* spp., presentaron control sobre el nematodo.
- En tomate de árbol, la aplicación de *M. anisopliae* diez días antes de inocularse *Meloidogyne* spp., presentó la mas baja infección de raíces, considerándose a este como el mejor tratamiento.
- *M. anisopliae*, en tomate de árbol es eficiente en el control de *Meloidogyne* spp., si se aplica antes o si se aplica después del nematodo.
- En lulo, la aplicación de *P. lilacinus* diez días antes de inocularse *Meloidogyne* spp., presentó la mas baja infección de raíces, considerándose a este como el mejor tratamiento en esta especie.
- *P. lilacinus*, en lulo es eficiente en el control de *Meloidogyne* spp., si se aplica antes o si se aplica después de la inoculación del nematodo.

RECOMENDACIONES

- Teniendo en cuenta que el control biológico nunca ha sido utilizado como un único procedimiento para el control de nematodos, los bajos porcentajes de infección radical causados por la aplicación de *Meloidogyne* spp., encontrados en la evaluación de raíces en invernadero en tomate de árbol y lulo con los hongos *M. anisopliae*, *B. bassiana* y *P. lilacinus*, podrían sumarse como un complemento de manejo integrado en estos cultivos.
- Es importante continuar con estudios relacionados a evaluar diferentes combinaciones entre tratamientos y permitir que el potencial de estos, sea aprovechado al máximo; así mismo, el mayor conocimiento sobre la ecología y el comportamiento biocontrolador bajo condiciones de suelo permitirá la introducción de estos hongos en un programa de manejo integrado de *Meloidogyne* spp. en cultivos de tomate de árbol y lulo.
- Continuar estudios relacionados con esta investigación, ampliando especies de hospedantes que tengan importancia económica en la región.
- La realización de estudios sobre diferentes dosis de aplicación de *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. lilacinus*, tanto en invernadero como en campo y la persistencia de estos a través del tiempo, serían de gran ayuda a fin de contribuir en el manejo de esta enfermedad.

BIBLIOGRAFIA

ADESIYAN, S. Comparison of methods and rates of application of some short residual toxicants for the control of *Meloidogyne incognita* attacking some vegetable crops. In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne spp.* University of Ibadan. Nigeria. 1981. 157 – 160 pp.

AMOSU, J. Control of root – knot nematode by cultural practices. In Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne spp.* University of Ife Ile- Ife, Nigeria, 1981. 259 – 262 pp.

BABATOLA, J. Root – knot nematode problems of horticultural crops in Nigeria. In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne spp.* National Horticultural Research Institute, Nigeria, 1981 135 – 139 pp.

BARNETT, H.L. and HUNTER, B. Illustrated general of imperfect fungi. Burgess pub., 1972. 241 p.

BAUER, M. Fitopatología. Limusa. 1^{era} ed, México, 1987. 377

CAMPOS, V., SIVAPALAN, P., GNAPRAGASAM, N.C. Nematodes parasites of coffee, cocoa and tea. In: Luc, M, SIKORA, R. AND BRIDGE, S. Eds. Plant parasitic Nematodes in subtropical and tropical agriculture. St. Albans. C.A.B. Internatinal. Institute of Parasitology. 1990. P 387-401.

CARDENAS, D. Y BENAVIDES, F. Efecto del hongo *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson sobre el nematodo de agalla *Meloidogyne incognita* Chitwood del melón (*Cucumis melo linn.*) y la sandía (*Citrollus vulgaris schrad.*) en una zona del municipio de Taminango, Nariño. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Agrícolas, Pasto, 1996. 109 p.

CARDONA, N Y LEGUIZAMON, J. Aislamiento y patogenicidad de hongos y bacterias al nematodo del nudo radical del café *Meloidogyne* spp. In. Fitopatología Colombiana, 21 (1). 1997. 39 – 52 pp.

CASTILLO, J. Micología general. Limusa, México, 1987. 208p.

CEPEDA, M. Nematología agrícola. México: Trillas, 1996. 305p.

CIANCIO, A., CARBONELLI, E., CROZZOLI, R. Ecología y biodiversidad de *Pasteuria* spp., antagonistas naturales de nematodos fitoparásitos. Fitopatología Venezolana, 11(1). 1998. 1 – 9 pp.

COLOMBIA. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Gobernación de Nariño, Secretaria de Agricultura y Medio Ambiente. Consolidado Agropecuario. Nariño, 2003. 71p.

CROZZOLI, R. Y MAZZANI, R. Control biológico de nematodos fitoparásitos. Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, 0 (46). 1994. 3 – 27 pp.

CHRISTIE, J. Nematodos de los vegetales: su ecología y control. Limusa, México 1985. 275p

DUBE, B. and SMART, C.J. Biological control of *Meloidogyne incongnita* by *Paecilomyces lilacinus* a fungus that parasites nematode eggs. Nematology circular No 203, 1987. 12 p.

EGUIGUREN R. Avances de investigación sobre el género de *Meloidogyne* en Ecuador. In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne* spp. Centro internacional de la papa. Perú. 1982. 77 – 92 pp.

ESPAÑA, A. y ORTIZ, F. Efecto de algunas plantas de la familia *Compositae* en la población del nematodo de las agallas radicales *Meloidogyne incógnita* Chitwood en lulo ácido *Solanum quitoense* Lam. bajo condiciones de invernadero. Universidad de Nariño, Facultad de ciencias agrícolas, Pasto. 1990. 37 p.

ERAZO, M. Efecto de cuatro tratamientos en el control del nematodo del nudo de la raíz (*Meloidogyne incognita* Chitwood), en lulo ácido (*Solanum quitoense* lam.), en una zona del departamento de Nariño. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias agrícolas, Pasto, 1987. 84 p.

FAWOLE. B. Lipid – antioxidant control of root – knot nematodes. In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne spp.* University of Ibadan. Nigeria. 1981. 168 – 171 pp.

FERNANDEZ, J. Y GARCIA, A. Identificación de hongos patógenos del nematodo *Meloidogyne incognita chitwood* en el departamento de Nariño. Tesis ingeniero Agrónomo, Universidad de Nariño, Pasto, 1996. 67p.

GARCIA, F Y OBANDO, J. Reconocimiento de especies de *Meloidogyne* en tomate de árbol y lulo en la zona norte del departamento de Nariño. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias agrícolas, Pasto, 2005. 57 p.

GAVIRIA, W. Y BURBANO, L. Etiología de los problemas radicales en lulo (*Solanum quitoense*) en la zona Norte del Departamento de Nariño. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias agrícolas, Pasto, 2005.

GIRALDO, M. A., LEGUIZAMON, T. Evaluación de *Paecilomyces lilacinus* para el control de *Meloidogyne spp.* en almácigos de café var. Caturra. In: Fitopatología Colombiana, 21(2), 1997. 104 – 117 pp.

HINCAPIE, D., LEGUIZAMON, J. Efecto de *Verticillium chlamidosporium* en el control de *Meloidogyne spp.* en almácigo de café, var. Caturra. Cenicafé, 50 (4), 1999. 286 – 298 pp.

LEGUIZAMON, J. Efecto de *Meloidogyne spp.* en plantaciones establecidas de café var. Caturra. In: Informe anual de actividades, disciplina fitopatología. Chinchiná (Colombia), Cenicafé. 1994. 248 – 252 pp.

LEGUIZAMON, J. Y PADILLA, B. Efecto de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en el control del nematodo del nudo radical en café. In: Cenicafé, 52 (1), 2001. 29 – 41 pp.

MAÑUZCA, A., VARON, F. Identificación y evaluación de organismos fungosos como posibles agentes biocontroladores de *Meloidogyne spp.* Fitopatología colombiana. 25 (1), 2001. 33 – 38 pp.

MOLINA, B. Manejo de *Meloidogyne incognita chitwood* el lulo de castilla (*Solanum quitoense lam*) el municipio de San Lorenzo departamento de Nariño. Tesis ingeniero agrónomo, Universidad de Nariño, Facultad de ciencias agrícolas, Pasto. 1989. 53 p.

MOSQUERA, E. Y MURCIA, A. Efecto de extractos vegetales y hongos patógenos en la población de nematodos en Guayaba. Revista Fitopatología Colombiana , 20 (1), 1996, 25 – 29 pp.

NWAUSOR, E AND FAWOLW, B. Root - knot nematodes on yams in Eastern Nigeria. In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne spp.* University of Ibadan. Nigeria. 1981. 161 – 167 pp.

PADILLA, B., LEGUIZAMON, T., VELAZQUEZ, E. Evaluación de formulaciones de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* par el control de *Meloidogyne spp.* Cenicafé, 52 (4), 2001, 249-269 pp.

RAYMUNDO, S. Efectos de sistemas de cultivo en el control del nematodo del nudo de la raíz. In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne spp.* Centro Internacional de la Papa. Perú. 1982. 173 – 190 pp.

REVELO, J., GOWEN, S. Y ORELLANA, H. Influencia de dos niveles de riego, fertilización y combate químico sobre la dinámica poblacional de *Meloidogyne incognita* en tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum*). In: Proceedings of the third research & planning conference on root-knot nematode, *Meloidogyne spp.* Centro Internacional de la Papa. Perú. 1982. 91 – 92 pp.

SAÑUDO, B., ARTEAGA, M., VALLEJO, W., AREVALO, R. Y BURBANO, E. Fundamentos de micología agrícola. Universidad de Nariño, Pasto, 2001. 201 p.

SAÑUDO, B., SALAZAR, C. Y BETANCOURTH, C. Principios de nematología agrícola. Pasto, Colombia, Universidad de Nariño. 2003. 120 p.

STIRILING, G. Biological control of plant parasitic nematodes. Wallingford (Inglaterra). C.A.B International. 1991. 227 P.

TAYLOR, A. y SASSER, J. Biología, identificación y control de nemátodos del nudo de la raíz (especies de Meloidogyne) C.I.P USA. Artes gráficas de la universidad del estado de Carolina del Norte, 1983. 111p.

VOLCY, C. Nematodos. Tomo 2. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, 1998. 182p.

ALTIERI, M., GONZALES, M. Investigación y ciencia en agricultura alternativa. En: CLADES (centro latinoamericano de desarrollo sustentable). Chile, 2004. [Citado Febrero de 2005] Disponible en: www.clades.cl/hacemos/4/rev4art2.htm.

CRESPO, M. El control biológico de los fitonematodos: una alternativa al uso de nematicidas y cultivos transgénicos. En: Informe anual CENIAP 2001. Venezuela. 2001. [Citado Septiembre de 2004] Disponible en internet: www.ceniap.gov.ve/bdigital/congresos/fitopato.

CROZZOLI, R., REINA, Y., GRECO, N. Actividad nematicida del extracto acuoso de hojas de *Calotropis procera* en el nematodo agallador *Meloidogyne exigua*. En: XVII Congreso Venezolano de Fitopatología. Venezuela. 2000. [Citado Septiembre de 2004]. Disponible en Internet: <http://www.ceniap.gov.ve/bdigital/congresos/fitopato/texto/resumennemato.htm>

JIMÉNEZ, J. El control biológico de plagas de banano. En: El control biológico de plagas de banano. Cuba. 1999. [Citado Febrero de 2005]. Disponible en Internet: <http://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/produce/BANA-BIO>.

La Cadena de los Frutales de Exportación en Colombia: una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2004. En: Frutales de exportación. Colombia, 2005. [Citado 10 de Marzo de 2006]. Disponible en Internet: http://www.agrocadenas.gov.co/frutales/frutales_descripcion.htm.

Producción Nacional de Frutas y Hortalizas. En: Frutas y Hortalizas de Colombia para el mundo. Colombia, 2003. [Citado 10 de Marzo de 2006]. Disponible en Internet: http://www.frutasyhortalizas.com.co/portal/Business/product_search.php?type=1.

ANEXOS

Tabla 2. Porcentaje de parasitismo de *M. anisopliae*, *P. lilacinus* y *B. bassiana* sobre hembras de *Meloidogyne* spp. observado a nivel de laboratorio.

Tratamientos	Rep.1		Rep.2		Rep.3		Rep.4		Promedio	
	T	R	T	R	T	R	T	R	T	R
<i>Metarhizium anisopliae</i>	90	100	90	100	90	100	59,31	100	82,32	93,75
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	90	100	59,31	75	90	100	53,13	100	73,11	85
<i>Beauveria bassiana</i>	90	100	90	100	59,31	75	59,31	75	74,65	87,5
Testigo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

T: Datos transformados con la formula $Y = \arcseno \sqrt{x}$
 R: Datos reales

Tabla 3. Análisis de variancia del porcentaje de parasitismo de los hongos *M. anisopliae*, *P. lilacinus* y *B. bassiana* sobre hembras de *Meloidogyne* spp. a nivel de laboratorio.

F. de V.	G.L	S.C	C.M	Fc	Ft(0,05)	Ft (0,01)
Tratamientos	3	17842,47	5947	19,06	3,86	6,99
Error	9	2808,47	312,1			
Total	15	20650,94				

Coefficiente de variación= 30.70

Tabla 4. Comparación de promedios de parasitismo de los hongos *M. anisopliae*, *P. lilacinus* y *B. bassiana* mediante la prueba de Tukey a nivel de laboratorio.

Tratamientos	% Parasitismo	Significancia
<i>M. anisopliae</i>	82.32	A
<i>B. bassiana</i>	74,65	A
<i>P. lilacinus</i>	73,11	A
Testigo	0	B

Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales
 Valor Comparador de Tukey 0.05: 30.11*
 Valor Comparador de Tukey 0.01: 44.07**

Tabla 5. Análisis de variancia de los porcentajes de infección radical presentados en raíces de tomate de árbol después de aplicados los tratamientos *M. anisopliae*, *P. lilacinus* y *B. bassiana* diez días antes y diez días después de inoculado *Meloidogyne* spp.

F. de V.	G.L	S.C	C.M	Fc	Ft(0,05)
Tratamientos	6	2187.04	364,50	11.06	2,57
Error	21	391.84	32.94		Ft (0.01)
Total	27	2878.89			3.81

Coefficiente de variación = 18.47

Tabla 6. Comparación de promedios de los porcentajes de infección radical presentados en raíces de tomate de árbol después de aplicados los tratamientos *M. anisopliae*, *P. lilacinus* y *B. bassiana* diez días antes y diez días después de inoculado *Meloidogyne* spp. mediante la prueba de Tukey.

Tratamientos	% Infección	Significancia		
<i>M. anisopliae</i> aplicado diez días antes de <i>Meloidogyne</i> spp.	18,235	A		
<i>B. bassiana</i> aplicado diez días antes de <i>Meloidogyne</i> spp.	23,7075	A	B	
<i>M. anisopliae</i> aplicado diez días después de <i>Meloidogyne</i> spp.	29,635	A	B	
<i>P. lilacinus</i> aplicado diez días después de <i>Meloidogyne</i> spp.	29,645	A	B	
<i>P. lilacinus</i> aplicado diez días antes de <i>Meloidogyne</i> spp.	31,7775	A	B	
<i>B. bassiana</i> aplicado diez días después de <i>Meloidogyne</i> spp.	36,17		B	C
Testigo	48,31			C

Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales

Valor Comparador de Tukey 0.05: 13.20

Valor Comparador de Tukey 0.01: 16.27

Tabla 7. Análisis de variancia de los porcentajes de infección radical presentados en raíces de lulo después de aplicados los tratamientos *M. anisopliae*, *P. lilacinus* y *B. bassiana* diez días antes y diez días después de inoculado *Meloidogyne* spp.

F. de V.	G.L	S.C	C.M	Fc	Ft(0,05)
Tratamientos	6	3136.85	522.81	16.96	2,57
Error	21	647.315	30.825		Ft (0.01)
Total	27	3784.17			3.81

Coefficiente de variación = 28.25

Tabla 8. Comparación de promedios de los porcentajes de infección radical presentados en raíces de lulo después de aplicados los tratamientos *M. anisopliae*, *P. lilacinus* y *B. bassiana* diez días antes y diez días después de inoculado *Meloidogyne* spp. mediante la prueba de Tukey.

Tratamientos	% Infección	Significancia			
<i>P. lilacinus</i> aplicado diez días antes de <i>Meloidogyne</i> spp.	5,13	A			
<i>M. anisopliae</i> aplicado diez días antes de <i>Meloidogyne</i> spp.	10,45	A	B		
<i>P. lilacinus</i> aplicado diez días después de <i>Meloidogyne</i> spp.	15,74	A	B		
<i>B. bassiana</i> aplicado diez días antes de <i>Meloidogyne</i> spp.	15,75	A	B	C	
<i>M. anisopliae</i> aplicado diez días después de <i>Meloidogyne</i> spp.	21,16		B	C	
<i>B. bassiana</i> aplicado diez días después de <i>Meloidogyne</i> spp.	33,43			C	D
Testigo	35,96				D

Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales

Valor Comparador de Tukey 0.05: 12.66

Valor Comparador de Tukey 0.01: 15.60