

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA



**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
AGRÓNOMO**

**“Eficiencia de cinco especies de hongos nematófagos sobre el control de
Meloidogyne spp. en pimiento del piquillo (*Capsicum annuum* L.) bajo condiciones
de casa malla”**

Área de Investigación:

Control biológico de enfermedades

Autor:

Br. Silva Zegarra, Juan Andrés

Jurado Evaluador:

Presidente: Ing. Dr. Cabrera La Rosa, Juan Carlos

Secretario: Ing. Msc. Holguín Del Río, José Luis

Vocal: Ing. Msc. San Martín Loyaga, María Isabel

Asesor:

Ing. Dr. Delgado Junchaya, Martín Augusto

Código Orcid: 0000-0001-9323-6327

TRUJILLO – PERÚ

2021

Fecha de sustentación: 2021/10/12

La presentación ha sido revisada y aprobada por el siguiente Jurado:



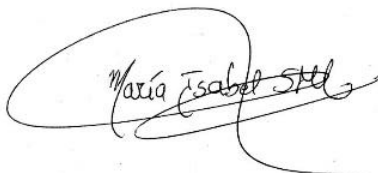
Ing. Dr. Juan Carlos Cabrera La Rosa

PRESIDENTE



Ing. Msc. José Luis Holguín Del Río

SECRETARIO



Ing. Msc. María Isabel San Martín Loyaga

VOCAL



Ing. Dr. Martín Augusto Delgado Junchaya

ASESOR

DEDICATORIAS:

A Dios, por guiarme durante este largo camino dándome fortaleza para superar cada uno de los obstáculos que se me presentaron. A mi madre Edith, por colocar siempre mis necesidades por delante de las suyas, apoyándome en todo momento pese a las dificultades, inculcándome valores que me formaron como una persona de bien. A mi padre Juan, por aconsejarme y educarme desde del primer día convirtiéndose en mi soporte e impulso para lograr mis metas haciéndome creer que todo es posible. A mis abuelos Julio, Santos y Juana, por su apoyo, bendiciones y consejos a lo largo de toda mi vida. A mi abuelo Ricardo, mi ángel, que desde el cielo me protegió, iluminó y me dio la fortaleza para poder superar las adversidades que se me presentaron durante esta etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTO:

Al Dr. Martín Augusto Delgado Junchaya, por su asesoramiento y guía no solo en el periodo de elaboración de la investigación sino también durante toda la carrera universitaria.

Al Ing. Manuel Roberto Ñique Rosales, por su ayuda y participación activa en el desarrollo de la investigación.

A los docentes de la facultad de ingeniería agrónoma de esta casa de estudios por brindarnos sus enseñanzas y experiencias, las cuales contribuyeron en nuestra formación profesional inculcándonos valores éticos y morales.

A mis padres y hermana, por confiar en mí e impulsarme ser mejor cada día siendo mi apoyo y fuente de inspiración durante toda mi vida.

A mis amigos Luis, Érica y Karla, por apoyarme desinteresadamente durante toda la vida universitaria, siendo de gran importancia durante el desarrollo y culminación de mi trabajo de tesis.

ÍNDICE GENERAL

	Página
CARÁTULA.....	i
APROBACIÓN POR EL JURADO DE TESIS.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
ÍNDICE GENERAL.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Problema de investigación	2
1.2. Objetivos.....	3
1.3. Justificación	4
II. MARCO DE REFERENCIA.....	4
2.1. Antecedentes.....	4
2.2. Marco teórico/Marco conceptual.....	8
2.2.1. Cultivo de pimiento del piquillo.....	8
2.2.2. Aspectos relacionados con Meloidogyne.....	15

2.2.3. Descripción de los hongos nematófagos.....	18
2.3. Hipótesis.....	20
2.4. Variables o indicadores.....	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1. Lugar de ejecución.....	21
3.2. Material biológico.....	21
3.3. Tratamientos.....	21
3.4. Material de Invernadero (Insumos).....	22
3.5. Material de Laboratorio	22
3.6. Material de gabinete	23
3.7. Equipo de laboratorio	23
3.8. Metodología.....	23
3.8.1. Obtención del sustrato	23
3.8.2. Obtención de plantines de pimiento del piquillo.....	23
3.8.3. Obtención de raíces con nódulos.....	24
3.8.4. Preparación de plantas.....	24
3.8.5. Preparación de hongos antagonistas	24
3.8.6. Preparación de Inoculo (Huevos de <i>Meloidogyne</i>)	24
3.8.7 Obtención de esporas de hongos antagonistas.....	24
3.8.8. Enfrentamiento de Hongos nematófagos y nematodos.....	25
3.8.9. Evaluación.....	25
a) Parámetros de crecimiento de la planta	25
b) Parámetros de respuestas de los tratamientos	25
3.8.10. Análisis de datos	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	29
4.1. Grado de nodulación en raíces.....	29

4.2. Número de huevos / 5 g de raíces	30
4.3. Numero de juveniles / 5 g de raíces.....	31
4.4. Peso Fresco de raíces.....	33
4.5. Peso seco de raíces.....	35
4.6. Altura de planta.....	37
4.7. Número de frutos por planta	38
V. CONCLUSIONES	40
VI. RECOMENDACIONES	41
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
VIII. ANEXOS	47

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 01: Especies de hongos utilizados en el control de <i>Meloidogyne</i>	21
Tabla 02: Tratamientos y concentraciones de hongos.....	22
Tabla 03: Grado de nodulación en raíces	29
Tabla 04: Número de huevos en 5 gramos de raíces (Duncan).....	30
Tabla 05: Numero de juveniles en 5 gramos de raíces (Duncan).....	32
Tabla 06: Peso Fresco de raíces (Duncan).....	34
Tabla 07: Peso seco de raíces (Duncan)	36
Tabla 08: Altura de planta (Duncan)	38
Tabla 09: Numero de frutos por planta (Duncan).....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 01: Escala de Bridge y Page para evaluar nódulos en raíces.....	26
Figura 02: Masa radicular en plantas de pimiento del piquillo.....	35
Figura 03: Siembra de hongos antagonistas en placas de Petri.....	53
Figura 04: Crecimiento de hongos antagonistas en placas de Petri.....	53
Figura 05: Esterilización del sustrato en autoclave a 121° por dos horas....	54
Figura 06: Trasplante de plantines en bolsas plásticas.....	54
Figura 07: Riego y fertilización semanal de las plantas.....	55
Figura 08: Extracción de nódulos de raíces infestadas.....	55
Figura 09: Nódulos de raíces infestadas en una solución de Hipoclorito de Sodio al 0.5%.....	56
Figura 10: Tamizado de raíces.....	56
Figura 11: Conteo de huevos de <i>Meloidogyne spp.</i> en el microscopio.....	57
Figura 12: Extracción de conidias de hongos nematófagos.....	57
Figura 13: Muestra con conidias extraídas en un hematocimetro.....	58
Figura 14: Conteo de conidias de hongos nematófagos en el microscopio....	58
Figura 15: Enfrentamiento, de 1 ml de solución de conidias contadas del hongo antagonista en 100 ml de agua utilizada para el riego.....	59
Figura 16: Enfrentamiento, 1 ml de la solución extraída de huevos <i>Meloidogyne spp.</i> en 100 ml de agua utilizada para el riego.....	59
Figura 17: Inoculación de solución con 100 ml de agua en cada bolsa	60
Figura 18: Evaluación de altura de planta y N° de frutos.....	60
Figura 19: Apertura de bolsa	61
Figura 20: Lavado de Raíces.....	61
Figura 21: Extracción de la raíz mediante un corte en el cuello de la planta....	62
Figura 22: Pesado de raíces frescas.....	62
Figura 23: Raíces extraídas de cada tratamiento en la estufa.....	63

Figura 24: Peso seco de raíces.....	63
Figura 25: Extracción y pesado de 5 g de raíz.....	64
Figura 26: Conteo de huevos y juveniles.....	64
Figura 27: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 1 (<i>Purpureocillium lilacinus</i>)	65
Figura 28: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 2 (<i>Pochonia chlamydosporia</i>)	65
Figura 29: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 3 (<i>Trichoderma harzianum</i>)	66
Figura 30: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 4 (<i>Trichoderma virens T1</i>)	66
Figura 31: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 5 (<i>Trichoderma virens T2</i>)	67
Figura 32: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 6 (Vydate)...	67
Figura 33: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 7 (Testigo solo <i>Meloidogyne spp.</i>)	68
Figura 34: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 8 (Testigo solo agua)	68

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 01: N° de huevos de <i>Meloidogyne spp.</i> en 5 g de raíz de pimiento piquillo Trujillo – 2020.....	30
Gráfico 02: N° Promedio de juveniles (J2) de <i>Meloidogyne spp.</i> en 5 g de raíz de pimiento piquillo Trujillo – 2020.....	32
Gráfico 03: Peso Fresco (g) de raíces de pimiento piquillo Trujillo – 2020.....	34
Gráfico 04: Peso Seco (g) de raíces de pimiento piquillo Trujillo – 2020.....	36
Gráfico 05: Altura de Planta (cm) de pimiento piquillo Trujillo – 2020.....	38
Gráfico 06: N° Promedio de frutos por planta.....	39

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Tabla 10: Promedio del N° de huevos / 5 g. de raíces.....	47
Tabla 11: ANVA del N° de huevos de <i>Meloidogyne</i> spp.....	47
Tabla 12: Promedio de juveniles en 5 g. de raíces	48
Tabla 13 ANVA del promedio de juveniles en 5 g. de raíces	48
Tabla 14 Promedio del peso fresco de raíces	49
Tabla 15: ANVA del Promedio del peso fresco de raíces.....	49
Tabla 16: Promedio del peso seco de raíces	50
Tabla 17: ANVA del Promedio del peso seco de raíces.....	50
Tabla 18: Promedio de altura de planta	51
Tabla 19: ANVA del Promedio de altura de planta.....	51
Tabla 20: Promedio del número de frutos por planta	52
Tabla 21. ANVA del Promedio del número de frutos por planta	52
Tabla 22: Datos de Temperatura (°C), Humedad Relativa (%),	52

de los meses de Julio 2019 a Febrero 2020. Estación Laredo.

RESUMEN

Meloidogyne spp. (Nematodo del nódulo de la raíz) es uno de los principales problemas fitosanitarios del cultivo de pimiento del piquillo. El uso de nematicidas en los cultivos es una práctica extendida dentro del manejo integrado de *Meloidogyne* y otros nematodos fitoparásitos; sin embargo, esta práctica debe ser restringida por la alta toxicidad de los productos y su repercusión sobre el ambiente y las personas que los aplican. Como una alternativa ecológicamente sostenible, se ha demostrado que diferentes tipos de microorganismos tienen el potencial de inhibir la infección de los nematodos a la raíz y, a la vez, promover el crecimiento vegetativo de la planta. En este trabajo se evaluó el impacto de hongos nematófagos sobre el desarrollo y reproducción de *Meloidogyne* spp. inoculado en plántulas de pimiento del piquillo bajo condiciones de casa malla. Se utilizaron cepas de *Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia*, *Trichoderma harzianum* y *T. viridae*, se incluyó un tratamiento químico (Vydate®), un testigo absoluto y un testigo inoculado con nematodos. Los resultados, medidos en función al grado de nodulación en raíces de pimiento, mostraron que todos los hongos fueron eficaces, sin embargo, la eficacia del tratamiento químico fue superior. La mayoría de los hongos en estudio generaron una reducción significativa de huevos y juveniles de *Meloidogyne* por 5 g. de raíz, con respecto al testigo inoculado con este nematodo. Asimismo, todos los hongos nematófagos mostraron un efecto promotor sobre el desarrollo radicular, altura de planta y número de frutos por planta que, en algunos casos, fue mayor que el testigo químico. Los resultados de este estudio evidencian que *Purpureocillium lilacinum*, *Pochonia chlamydosporia*, *Trichoderma harzianum* y *T. viridae*, además de ejercer un eficaz control de *Meloidogyne* spp, promueven el desarrollo radicular y, por ende, un mayor desarrollo de la planta, así como mayor número de frutos a la planta.

Palabras clave: *Meloidogyne*, hongos nematófagos, Pimiento del piquillo, casa malla.

ABSTRACT

Meloidogyne spp. (Root knot nematode) is one of the main phytosanitary problems of Piquillo pepper crop. The use of nematicides in crops is a widespread practice as a component of the integrated management of *Meloidogyne* and other phytoparasitic nematodes; However, this practice must be restricted due to the high toxicity of the products and their repercussions on the environment and the people who apply them. As an ecologically sustainable alternative, different types of microorganisms have been shown to have the potential to inhibit root nematode infection as well as promoting vegetative plant growth. In this work, the impact of nematophagous fungi on the reproduction of *Meloidogyne spp* inoculated in piquillo pepper seedlings under mesh house conditions was evaluated. Strains of *Purpureocillium lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia*, *Trichoderma harzianum* and *T. viridae* were used. A chemical treatment (Vydate®), an absolute control and a control inoculated with nematodes were included. The results, measured as a function of the degree of nodulation in pepper roots, showed that all the fungi were effective, however the efficacy of the chemical treatment was higher. Most of the nematophagous generated a significant reduction of *Meloidogyne* eggs and juveniles by 5 g. root, with respect to the control inoculated with this nematode. Likewise, all nematophagous showed a promoting effect on root development, plant height and number of fruits per plant, which, in some cases, was greater than the chemical control. The results of this study show that *Purpureocillium lilacinus*, *Pochonia chlamydosporia*, *Trichoderma harzianum* and *T. viridae*, in addition to exercising effective control of *Meloidogyne spp*, promote root development and, therefore, a greater development of the plant as well as a greater number of fruits to the plant.

Keywords: *Meloidogyne*, nematophagous fungi, piquillo pepper, mesh house.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos 15 años el pimiento del Piquillo se ha convertido en una de las hortalizas más consumidas por la población alrededor del mundo, estableciéndose como uno de los productos bandera en las exportaciones peruanas, siendo uno de los ejes de crecimiento del sector agrícola principalmente en zona norte del Perú, en las regiones de Piura, Lambayeque y La Libertad.

Como en todo cultivo, uno de los factores negativos en la producción es la presencia de plagas y enfermedades, que reducen significativamente los rendimientos perjudicando económicamente a los productores. Dentro de las plagas se encuentran los nematodos fitopatógenos que son organismos principalmente del suelo y ocasionan daños severos al cultivo si no se manejan oportunamente, pues una vez establecidos en el suelo su control se hace muy difícil. Durante muchos años los productores han usado productos nematocidas químicos sintéticos que han producido daños al ambiente, trastornos en la salud de las personas y la aparición de plagas y enfermedades resistentes o más agresivas. Ante estos efectos secundarios las estrategias de control se han enfocado en un manejo integrado del fitopatógeno, donde se combinan varias estrategias o procedimientos con la finalidad de salvaguardar el ambiente dentro de una producción agrícola sostenible.

Por lo antes expuesto, en el Perú algunos productos nematocidas han sido retirados del mercado debido a su alta toxicidad, lo cual ha generado un clima favorable para intensificar los estudios relacionados con el control biológico y el uso de productos orgánicos ambientalmente amigables, haciendo que la industria de plaguicidas se dirija a la fabricación de productos a base de extractos vegetales o de microorganismos que tengan la capacidad de reprimir o controlar el desarrollo de las plagas en general.

En este sentido el presente trabajo de investigación busca evaluar la eficiencia de cinco especies de hongos nematófagos sobre el control del “nematodo del nudo” *Meloidogyne spp.*, en pimiento del Piquillo (*Capsicum annuum L.*) bajo condiciones controladas en casa malla.

1.1. Problema de la investigación.

a) Realidad problemática:

Entre de los factores limitantes de la producción en los cultivos, en general se encuentran los nematodos fitoparásitos, entre los cuales las especies del género *Meloidogyne* conocido como el “nematodo formador de agallas radicales” o “nematodo del nudo de la raíz” representan un serio problema para los cultivos. Estos fitoparásitos se localizan a lo largo del planeta, pero en mayor población en las regiones de climas tropicales con muy pocos meses de invierno riguroso. Tienen un gran número de hospederos, siendo el pimiento uno de los cultivos más susceptibles, afectando las raíces en las que producen nódulos o agallas que las deforman impidiendo el tránsito del agua y los nutrientes esenciales para el desarrollo de las plantas trayendo como consecuencia una disminución considerable de la producción y calidad del producto. El ataque de *Meloidogyne* se puede presentar durante todo el desarrollo del cultivo, siendo el período crítico cuando el cultivo se encuentra en fase de plántula, en la cual existe el riesgo de perder toda la plantación; sin embargo, cuando se presenta en plantas adultas, se logra obtener algo de producción con un porcentaje menor de la misma (Agrios 1998). *Meloidogyne* puede estar presente en todo tipo de suelo, aunque se observan mayores poblaciones en suelos arenosos, sueltos con buena aireación y sin una excesiva humedad, parecidos a los que tenemos en nuestra costa norte (Christie, 1974).

b) Formulación del problema:

El pimiento piquillo es una de las especies de *Capsicum* más exportadas por el Perú, alcanzando un total de 4 104 346 kilogramos lo que representó un total de US \$ 8 588 420 en el periodo de enero a junio del 2021, teniendo como destino en primer lugar a España con un total de US \$ 3 592 610 lo que significa un 42 % del valor total exportado, seguido de Estados Unidos con un total de US \$ 3 503 675, Rusia con US \$ 450 989, Argentina con US \$ 308 147, Alemania con US \$ 144 494, Francia

con US \$ 91 400, Países Bajos con US \$ 82 388 y otros países con un total de US \$ 414 717 (Agrodata, 2021).

Con todos estos avances agroexportadores una de las principales amenazas fitosanitarias sigue siendo el nematodo *Meloidogyne* spp. (“nematodo del nudo de la raíz”), con más de 100 especies descritas en todo el mundo (Karszen et al., 2013) afectando a más de 2000 especies de plantas. No se han encontrado cifras confiables sobre el impacto económico que este fitoparásito causa en el pimiento del Piquillo en la Libertad.

Para reducir sus daños es necesario realizar un adecuado manejo integrado donde se deben articular técnicamente procedimientos preventivos, como buenas prácticas culturales; uso de variedades resistentes; uso de controladores biológicos y finalmente un adecuado manejo con productos químicos. El uso de nematicidas agrícolas ha sido drásticamente restringido en los últimos años.

Como un componente del manejo integrado se encuentran microorganismos de diferente naturaleza que cumplan un papel importante en la disminución de las poblaciones de nematodos.

La presente investigación está precisamente orientada hacia la evaluación del impacto que ciertas especies de hongos pueden originar sobre el ciclo de vida del nematodo *Meloidogyne* spp.

1.2. Objetivo:

Evaluar la eficiencia de cinco especies de hongos nematófagos sobre el control de *Meloidogyne* spp., en pimiento del Piquillo (*Capsicum annuum* L.) bajo condiciones controladas.

1.3. Justificación:

Debido a la importancia que representa este nematodo en el cultivo de pimiento en la Región La libertad, es necesario buscar alternativas eficientes de manejo que garanticen la reducción de las poblaciones y los consecuentes daños ocasionados por estos organismos parásitos, además de reducir el uso de agroquímicos propiciando un agroecosistema ambientalmente amigable hacia una producción agrícola sostenible y más segura con productos libres de residuos químicos y sin contaminación ambiental.

Tal es el argumento que justifica el presente trabajo de investigación al evaluar hongos capaces de reducir el impacto negativo sobre el cultivo de pimiento del Piquillo (*Capsicum annuum* L.) y que representen una alternativa al uso de agroquímicos.

II. MARCO DE REFERENCIA

2.1. Antecedentes del estudio.

Guardia y Delgado (2016), evaluaron la habilidad parasítica de tres concentraciones de la cepa Ag. Chira de *Purpureocillium lilacinum* (10^4 , 10^5 , y 10^6 ufc/mL), contra huevos de *Meloidogyne spp.*, aislados directamente de raíces de apio severamente afectadas. Para los enfrentamientos utilizaron placas de Petri con agar-agua, placas de Petri con agar/agua enmendada con 100 ppm de ampicilina, de cloramphenicol, de captan y de pentacloronitrobenceno. También utilizaron terrinas con 100 mL de tierra agrícola autoclavada. Como inóculo, aplicaron una concentración de 50 y 1000 huevos para cada placa y terrina respectivamente. Los autores no encontraron diferencias significativas *in vitro*, pero si cuando *Purpureocillium lilacinum* se aplicó en terrinas, por lo que concluyeron que en ninguno de los medios con agar hubo parasitismo de *Purpureocillium lilacinum* sobre huevos de

Meloidogyne, sin embargo, en la prueba con suelo agrícola estéril se obtuvo un nivel de parasitismo que varía del 47.05 al 80.39 %.

Gonzales y col., (2002), determinaron la eficacia de los hongos antagónicos sobre el control de la moniliasis del cacao (*Moniliophthora roreri*), compararon el desarrollo de las especies *Trichoderma lignorum*, *T. harzianum*, *T. viride*, *T. virens*, *Trichoderma sp. (TR6)*, *Trichoderma sp. (TR4)* y *Clonostachys rosea*, utilizando placas precolonizadas con el hongo *M. roreri*. Cuando las placas estuvieron completamente desarrolladas, se procedió a colocar trozos del hongo antagónico de 5 mm x 25 mm en un extremo de la placa, observándose el crecimiento diario de la acción antagónica sobre *M. roreri*. Las especies que colonizaron a *M. roreri* en menor tiempo fueron *T. virens* y *T. harzianum*, en las cuales se obtuvo un crecimiento promedio de 6,25 mm/día y 5,96 mm/día respectivamente. La especie *T. lignorum* presentó menor crecimiento con 0,33 mm/día.

Guardia y col. (2017), evaluaron el efecto de los nematódicos orgánicos Nemaquil 1.5 L/200L, Nemathor 1.5 L/200L y Hunter 400 mL/200L sobre *Meloidogyne arenaria* en ají escabeche utilizando dos testigos, uno sin producto y otro con Vydate (Oxamylo) 1 L/200L, para lo cual, infestaron el sustrato con 2000 huevos de *Meloidogyne arenaria*. Los parámetros de evaluación que tomaron los autores fueron: a) índice de nodulación, b) huevos /5g de raíces y c) J-2 en 100 mL de suelo. Los resultados evidenciaron que todos los nematódicos orgánicos presentaron un grado de nodulación de 5, Vydate de 1 y en el testigo absoluto sin producto 0. Nemathor 1.5 L/200L fue el producto que presentó el menor número de huevos en 5g de raíces y de J2 en 100 mL de suelo, pero, no logró superar el impacto producido por Vydate 1 L/200L.

López y Arévalo (2016), evaluaron la capacidad del producto BIONEMAT (*Bacillus cereus*, *Bacillus thuringensis* y *Bacillus subtilis*), para controlar nemátodos en *Solanum lycopersicum*, comparando su efectividad y costo contra el tratamiento comercial convencional de los productores de la zona. Obteniendo una disminución del 75 % de la presencia de nemátodos en la raíz de las plantas en comparación con el testigo y una reducción de 35 % en el costo de aplicaciones a comparación con el método convencional del control de nemátodos, además de la disminución del daño ecológico que conlleva el uso de productos químicos y desinfectantes de suelo como Metansodio utilizado en la parcela demostrativa.

Parra (2016), evaluó la capacidad endófitica en plantas de tomate de seis aislamientos entomopatógenos nativos de las especies de *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Clonostachys*, *Fusarium*, *Beauveria*, *Metarhizium* y también la capacidad de producir patogenicidad sobre *Meloidogyne sp.* Las plantas de tomate fueron cultivadas en un sustrato con esporas de cada aislamiento y dentro de tubos de ensayo bajo condiciones controladas de luz, humedad y temperatura. A los 60 días después de la siembra las plantas fueron cosechadas, lavadas y desinfectadas. Luego secciones de la planta se colocaron en medios de cultivos selectivos e incubados a 25° C por 10 días. Al día 7 observó, el crecimiento de micelio desde el interior del tejido vegetal. Cuatro de las seis cepas que evaluaron, presentaron capacidad de colonización endófitica, además de patogenicidad frente a *Meloidogyne sp.* Por lo tanto, concluye que existen aislamientos nativos de hongos nematófagos capaces de ingresar a la planta y ejercer efectos negativos sobre los estados inmaduros de *Meloidogyne sp.*

Borges y col. (2013), evaluaron la capacidad de *Trichoderma spp.* para controlar a *Lasiodiplodia theobromae* "in vitro", utilizando un medio de cultivo dual a base de Papa-Dextrosa-Agar (PDA). El enfrentamiento se realizó en placas de Petri, colocando un pequeño disco de 5 mm con el

micelio de *Lasiodiplodia theobromae* y el controlador biológico en las orillas a 25°C expuesto a luz por un periodo de 12 horas al día. Se evaluó utilizando una escala del 1 al 5, cuando los antagonistas habían colonizado toda la placa. Las cepas de *Trichoderma* que tuvieron los mejores resultados fueron, CEN 162 y CEN 1153, ya que, impidieron totalmente el desarrollo del patógeno.

Llontop y Bances (2013), determinaron si *Paecilomyces lilacinus* y *Trichoderma viride* están presentes en la rizosfera de espárrago extrayendo, de 64 plantas en etapa de floración, muestras de suelo a 0, 10, 20 y 30 cm de profundidad antes y después de la aplicación, además de una muestra de agua por gotero tomando un total de 16. Se realizaron 4 aplicaciones por año de manera independiente resultando una dosis de 16 kg/ha. Teniendo que antes de la segunda aplicación *Paecilomyces. lilacinus*, no apareció en el suelo en las muestras tomadas a distintas profundidades. Además, de encontrarse en el 100% de los goteros 4 días después de la aplicación. Concluyeron, que *Paecilomyces lilacinus*, a comparación de *Trichoderma viride*, no logra establecerse totalmente cerca de las raíces del espárrago ni sobrevivir durante su paso por el sistema de riego.

Cayotopa y col. (2013), hicieron pruebas de parasitismo y antibiosis de 10 cepas de *Trichoderma* endófito (TE) de cacao sobre huevos de *Meloidogyne incognita*, evaluando en laboratorio el porcentaje de eclosión de los mismos y en vivero la cantidad de nódulos radiculares e índice de agallamiento (GI) y altura de plantas. Los autores obtuvieron los mayores porcentajes de parasitismo a huevos de *Meloidogyne exigua* con TE-91 (53.05) y TE-68 (51.09%). Se usaron concentraciones de 96.15%, 50.00% y 25.00%, para realizar la prueba de metabolitos secundarios, a las cuales se le sumergieron huevos de *Meloidogyne incognita*. Después de 16 días se obtuvo que en gran parte de los tratamientos el porcentaje de eclosión de los huevos fue de 18%, resultando TE-72 como el mejor en el que se obtuvo

solo un 5.43%. Luego de evaluar los plantones después de 38 y 66 días de la inoculación, se obtuvo que TE-91 tuvo la mayor altura (25.64 cm) en la primera evaluación, sin embargo, en la segunda TE-72 superó al anterior en altura con 28.9 cm.

Guardia y Cedano (2013), evaluaron el efecto nematológico de productos orgánicos como Nemaquil, Nemathor y Hunter; los dos primeros a una dosis de 1.5 L/200L y el último a 400ml/200L sobre juveniles *Meloidogyne spp.*, desarrollados a partir de huevos sacados de raíces de apio severamente afectadas, con un 23.32% de emergencia natural de los juveniles (J2). Los productos fueron colocados en placas de Petri junto a 50 huevos o 50 J2, previamente tratados con agua estéril y agar. Obteniendo que el mejor producto fue el Nemathor inhibiendo por completo la emergencia y matando el 100% de J2, ya sea en agua estéril o en agar, siguiéndole el Nemaquil y Hunter los que permitieron una emergencia de 15.39% y 34.36% y mortalidad de 0 y 6.23%.

2.2. Marco Conceptual

2.2.1. Cultivo de pimiento (*Capsicum*).

a) Origen:

Este cultivo tiene su origen en el continente americano, específicamente entre Perú y Bolivia, a partir de donde se extendió por todo el continente. Es una planta muy antigua llevada a España por Colón en 1493, expandiéndose desde allí hacia el resto del continente europeo, luego al asiático y por último al africano. Era usada por los nativos con fines gastronómicos (Maroto J., 2002).

b) Importancia económica:

En nuestro país se obtiene una producción de 164,000 toneladas al año, ya que cuenta con la mayoría de las variedades de ajíes que existen en el mundo. Las regiones del Perú con mayor producción de

Capsicum, son: Lambayeque, Lima, Pasco, Tacna y La libertad. Siendo Lambayeque la que más resalta dentro de ellas, con un total de 2175 hectáreas sembradas, de las cuales el pimiento del Piquillo es una de las especies con mayor extensión (Agraria.pe, 2018).

c) Características botánicas y taxonómicas:

Según Valadez (1998), el pimiento puede ser anual o perenne dependiendo de la zona donde se cultive (templadas o tropicales). Su tallo es verde oscuro, erecto, herbáceo y con ramificaciones llegando hasta unos 60 cm de altura según la variedad. La mayor cantidad de raíces se encuentra a partir de los 5 a 40 cm de profundidad, pero el sistema radicular se extiende hasta los 70 cm a 1.20 m y horizontalmente pueden ocupar un espacio de hasta 1.20 m. Presenta hojas lisas, con una sola lámina, con forma ovoide alargada. Tiene flores de color blanco o púrpura, que contienen estambres y pistilo en una misma flor, y se forman en las axilas de las ramas. La forma del fruto varía según la variedad, puede ser como una baya-vaina o hacerse curvo al momento que se inicia la madurez, cambia de color verde a rojo o amarillo, según los pigmentos que contenga, como: caroteno, licoperisina, xantofila. El pigmento responsable del picor o pungencia se denomina capsicina. El pimiento se puede clasificar taxonómicamente de la siguiente manera:

Familia: *Solanaceae*

Género: *Capsicum*

Especie: *Capsicum annum* L.

d) Fases de desarrollo:

Según Maroto (2002), durante el desarrollo del cultivo se pueden distinguir las siguientes fases:

- Germinación

- Crecimiento vegetativo
- Floración
- Fructificación y maduración

e) Requerimientos de Clima:

Prefiere climas cálidos para su desarrollo, sin embargo, a temperaturas de 32 a 35° C se produce la polinización cruzada, ya que el pistilo adquiere un mayor tamaño que los estambres, desarrollándose antes de que estos hayan alcanzado su madurez, que da lugar a que se produzca una polinización cruzada; además se puede producir caída de flores como también de frutos a climas mayores que los mencionados anteriormente. A temperaturas bajas menores a 10 °C se produce un aborto de flores y la planta deja de crecer a temperaturas menor de 15 °C (Valadez, 1998).

f) Requerimientos de Suelo:

Se adapta fácilmente a distintos tipos de suelo, pero requiere que estos tengan buen drenaje para evitar el ataque de *Fusarium* y *Verticillium*, a los que es susceptible. Puede tolerar moderadamente la salinidad, y requiere de un pH de 5.5 a 6.5 para obtener buenos rendimientos. Es fundamental que los suelos donde se cultive esta planta tengan cantidades de elementos esenciales que le permitan desarrollarse sin ningún problema luego del trasplante, evitando adelantamientos de la floración y fructificación, que a la larga limitan los rendimientos (Vigliola y col., 1991).

g) Nutrición:

Las dos terceras partes del nitrógeno se aplica al inicio de la floración y formación de los frutos, el exceso de nitrógeno genera un retraso en la maduración de los frutos (Raymond A., 1989).

Se puede utilizar 100 UF de nitrógeno, 90 a 150 UF de P₂O₅, 200 a 300 UF de K₂O y 30 a 40 toneladas de estiércol por hectárea en una

fertilización de fondo. El contenido de capsaicina se ve influenciado por la cantidad de Nitrógeno y Potasio aplicado (Maroto, 2002).

Pese a que la fertilización varía según diversos factores como los análisis de suelo, es recomendable aplicar al inicio 150 kg/ha de fosfato diamónico. Después del trasplante se podría aplicar un fertilizante potásico si se observa falta de potasio según los análisis correspondientes. Luego se aplican 25 a 50 unidades de N/ha, utilizando un fertilizante nitrogenado de rápida asimilación, el cual se aplica en una o dos ocasiones procurando que coincida la primera con el inicio de la floración (Vigliola y col., 1991).

h) Riego:

La planta necesita más o menos unos 3000 m³ de agua durante todo su desarrollo, los que se le suministran habitualmente mediante riegos livianos (Valadez, 1998).

El momento más crítico en cuanto a los requerimientos hídricos coincide con la diferenciación de las yemas florales (Vigliola y col., 1991).

i) Plagas:

Alva (2015), en su investigación, menciona a las principales plagas del pimiento piquillo, las cuales se describen a continuación:

1) *Agrotis ipsylon* (Hufnagel)

Conocidos como gusanos de tierra pertenecen a la familia Noctuidae. Las larvas a partir del tercer estadio ocasionan cortaduras de plantas pequeñas y en los estadios anteriores se alimentan de las hojas del tercio inferior que se encuentran más cercanas del suelo. Esta plaga se esconde en la porción de suelo que rodea a la planta durante el día, mientras que se reproducen y dispersan durante la noche.

- 2) *Agrotis subterranea* (Fabricius)
Gusanos de tierra de la familia Noctuidae, daña al cultivo en las fases iniciales cortando la planta en el cuello durante todos sus seis estados larvales, al finalizarlos pasa a empupar en el suelo hasta los primeros 12 cm de profundidad.
- 3) *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller)
Gusano barrenador de la familia Pyralidae, daña al cultivo perforando el tallo de plantas nuevas, la magnitud de los daños varía de una campaña a otra dependiendo de las condiciones climáticas. Esta plaga oviposita en el suelo cerca al cuello de la planta, una vez que emergen se alimentan de esta zona y se camuflan construyendo un cocón de tierra con el cual se protegen.
- 4) *Heliothis virescens* (Fabricius)
Noctuidade, comúnmente conocido como gusano “bellotero” o “Gusano del capullo del Pimiento”, cuyas larvas ocasionan daños importantes en el cultivo alimentándose de las hojas y masticando los brotes destruyéndolos a tal punto de defoliar completamente la planta en ataques severos.
- 5) *Lineodes integra* (Zéller)
Las larvas pegan los brotes y perforan los frutos, ingresando por un pequeño orificio, el cual es imperceptible por los evaluadores. El control de esta plaga está orientado a evitar el daño en los frutos, ya que, los hace perder su valor comercial haciendo imposible su exportación.
- 6) *Pseudoplusia includens* (Walk)
El daño principal de esta plaga lo realizan las larvas, las cuales se alimentan de las hojas. Es una plaga que tiene muchos hospederos.

a) Enfermedades:**1) Marchitez Bacteriana (*Ralstonia solanacearum*)**

La bacteria se aloja y multiplica en el xilema trayendo como síntomas el decaimiento y marchitez generalizada de la planta. La bacteria se trasmite por semilla y también puede ingresar por las raíces a través de heridas. La enfermedad se puede prevenir utilizando semilla o plantín libre de la enfermedad, desinfección de herramientas, tratamiento del agua de riego con una solución de cobre y rotación de cultivos con no solanáceas (Cedepas 2003).

2) Chupadera Fungosa (*Rhizoctonia solani*)

La enfermedad es producida por el hongo *Rhizoctonia solani* que ataca a nivel de plántulas. Este ataque puede ser pre – emergente, cuando el daño es antes que la planta emerja a la superficie. En este caso el hongo pudre la semilla, el hipocótilo o la radícula; y post – emergente cuando la plántula emerge y el hongo produce lesiones necróticas a la altura del cuello dando como resultado una plántula débil que en muchos casos muere. La enfermedad se previene haciendo una buena desinfección de semillas con fungicidas o con tratamientos biológicos como el uso de *Trichoderma*. (Cedepas 2003).

3) Oidiosis (*Leveillula taurica*).

Es una enfermedad explosiva, si tiene las condiciones a su favor. Se observa como una pelusilla blanquecina sobre el envés de las hojas debido a la esporulación del hongo y en el haz aparecen manchas cloróticas. Si esta enfermedad no se controla a tiempo puede producir la caída de hojas, flores y frutos, originando grandes pérdidas económicas al cultivo. La enfermedad se puede prevenir con aplicaciones de fungicidas combinadas con buenas prácticas culturales y uso de controladores biológicos como bacterias (*Bacillus* spp) y hongos (*Trichoderma* spp.). (Cedepas 2003).

4) **Marchitez o tristeza del pimiento** (*Phytophthora capsici*)

Producida por un Oomycete (Chromista) que está ampliamente distribuido en el mundo afectando a todo tipo de pimientos y ajíes. Quizás sea la enfermedad más importante que afecte al cultivo. Se ve favorecida por una alta humedad del suelo, suelos inundados y el patógeno afecta a nivel de cuello y raíces de la planta ocasionando una pudrición de la corteza. En casos severos mata a la planta y el daño puede generalizarse en surcos enteros. La enfermedad se previene haciendo camellones o surcos altos para evitar el contacto con el agua de riego, también mediante agroquímicos los cuales son altamente específicos (Cedepas 2003).

5) **Mancha Negra** (*Alternaria* sp.)

El hongo afecta hojas y frutos, produciendo manchas necróticas en anillos sobre las hojas y lesiones necróticas circulares en frutos, le favorece el clima de invierno y la sobrepoblación de plantas. La enfermedad se previene evitando excesiva humedad del suelo, altas densidades de plantas, eliminar flores y frutos caídos en el campo y uso de fungicidas (Cedepas 2003).

6) **Botrytis “Moho gris”** (*Botrytis cinerea*)

Es una enfermedad muy importante de climas fríos de invierno y alta humedad del ambiente. El agente causal afecta flores y frutos pequeños, los cuales se cubren de una pelusilla gris hasta llegar a podrirlos, luego estos órganos se caen al suelo posibilitando la sobrevivencia del hongo y constituyéndose en importantes fuentes de inóculo. La enfermedad se previene eliminando flores y frutos caídos en el campo, evitar altas densidades de plantas, así como el exceso de humedad, también se pueden usar agroquímicos. (Cedepas, 2003).

7) **Enfermedades producidas por virus**

El cultivo de los pimientos se ve afectado por varios virus fitopatógenos entre los más importantes tenemos

- Mosaico del tomate (ToMV)
- Moteado suave del Pimiento (PMMoV)
- Virus peruano del Tomate (PTV)
- Virus de la mancha bronceada del tomate (TSWV) (Cedepas, 2003).

2.2.2. Aspectos relacionados con el nemátodo del género *Meloidogyne*:

a) Descripción morfológica:

Estos organismos fitopatógenos son de diámetro pequeño de 300 a 1000 μm , existiendo unos mayores a 4 μm de largo por 15 a 35 μm de ancho, por esta razón solo se pueden observar fácilmente utilizando el microscopio. Su cuerpo es liso con forma de anguila, sin divisiones, patas ni otros miembros. Pero, cuando alcanzan la madurez las hembras de determinadas especies de hinchan tomando una forma redonda como una pera. Su cuerpo está rodeado por una cutícula incolora, que los hace más o menos transparentes. Esta cutícula va cambiando cada vez que los nematodos pasan por todos sus estadios larvales, es elaborada por la hipodermis que está compuesta por células vivas y se extiende a modo de 4 cordones que dividen 4 bandas de músculos longitudinales, las cuales, posibilitan la movilidad del nemátodo. Aparte de estos músculos, a lo largo de su cuerpo presenta otros que les permite realizar todas sus actividades fisiológicas (Agrios, G., 1998).

b) Ciclo de Vida:

Empieza en el huevo, luego juvenil 1 (J1), juvenil 2 (J2), juvenil 3 (J3), juvenil (J4) y por último estado adulto. El "J1", se forma dentro del huevo, el cual se convierte en "J2" o segundo estadio tras pasar por

un proceso de muda En este estadio “J2”, el nemátodo ya puede infectar a la planta penetrando los tejidos de la raíz, los cuales busca para poder sobrevivir, ya que, solo cuenta con alimento para un mes. Una vez que encuentra la raíz se introduce dentro de ella y se mueve entre las células hasta fijar un punto de alimentación permanente dentro del xilema, donde se forman las “agallas” o “nódulos”, como resultado de una alteración en el tamaño y la división de las células, producida por las secreciones inyectadas por el estilete a las células de la raíz cada vez que el nemátodo se alimenta del citoplasma. Esto impide el paso de los nutrientes y agua de la raíz hacia los demás órganos de la planta quedando retenidos a disposición del nemátodo. Luego se forma un tercer y cuarto estadio “J3” y “J4” donde se produce la diferenciación sexual, el macho toma una forma de gusano, sale de la raíz y vive libre en el suelo hasta que muere. Sin embargo, la hembra se hincha tomando forma de pera e inicia la ovogénesis para después colocar sus huevos en una masa gelatinosa cerca de la superficie de la raíz. La duración del ciclo varía según el hospedero, el clima, la especie, en climas cálidos puede ser de 3 a 4 semanas (Marín, 2012).

c) Sintomatología:

El nemátodo, al parasitar la raíz de la planta, altera el metabolismo hormonal provocando la aparición de nódulos que pueden ser de 1 mm a 2.5 cm, que se observan en todo el sistema radicular. Las lesiones dejadas por el nemátodo al momento del parasitismo, facilitan el ingreso de otros patógenos como hongos y bacterias, que terminan por podrir la raíz causando finalmente la muerte de la planta. Además, se observa una disminución del tamaño de la planta, hojas y clorosis que finaliza con una marchitez generalizada, también pueden ocasionar deformaciones en hojas, flores, tallos y semillas (Roncal, 2004).

e) Diseminación:

Para que los nemátodos se muevan necesitan el apoyo de pequeñas láminas de agua y una apropiada porosidad del suelo, también se dispersan por medio de instrumentos de labranza, semillas, y plantas de vivero (Roncal M., 2004).

Según Christie (1974), las labores culturales son las principales vías de diseminación de los nódulos radiculares. Así, por ejemplo: si para siembra se utilizan tubérculos, rizomas, bulbos, etc. que están infestados, es muy difícil que, mediante un tratamiento especial, se puedan eliminar las masas de huevos, pues éstos se impregnan profundamente en órganos infestados. En las plantas de vivero con raíces infestadas y son usadas para el trasplante en el campo definitivo.

Cuando se realizan las labores de labranza en suelo infestado, éste se transporta en los instrumentos usados para dichas labores, también el nematodo puede ser trasladado en las patas de los animales y otros medios.

La diseminación de *Meloidogyne* también puede ocurrir si el sistema de riego está diseñado para que el agua de riego circule de un turno a otro o que vuelva de los campos infestados a los canales principales.

2.2.3. Descripción de los hongos nematófagos

a) *Pochonia chlamydosporia*:

Es un hongo parásito facultativo, se encuentra en varios tipos de suelos y agroecosistemas del mundo como saprótrofo, es usado como biocontrolador ya que parasita quistes y huevos de distintas especies de nemátodos, como *Heterodera spp.*, *Globodera spp.* y *Meloidogyne spp* (Gams y Zare, 2001).

Necesita de un pH 4.0 a 7.0 y de una temperatura de 25 °C para su desarrollo, mientras que para parasitar los huevos de *Meloidogyne* a unos 12 °C (Kerry, 1987). El Modo de acción de *Pochonia chlamydosporia*, penetra los huevos, por medio de apresorios formados al final de las hifas, desarrolladas dentro del micelio que está en contacto con ellos. En estos apresorios se forman tubos de penetración que se ensanchan una vez dentro de la cutícula de los huevos. Para este proceso de infección es muy importante la actividad enzimática que le permiten al hongo degradar la capa externa de los huevos, mediante la acción de las proteasas y quitinasas (Segers, 1996). El micelio de este hongo cuando está cerca al huevo forma unos órganos llamados apresorios, que se desarrollan a partir de las hifas que colonizan la parte externa del mismo, provocando una ruptura y dilución de las capas que forman la pared del huevo (vitelina, quitinolítica, lipídica) impidiendo que estos eclosionen (Ramírez y col., 2014).

b) *Purpureocillium lilacinum*:

Las especies de este género presentan colores muy llamativos, hifas transparentes, segmentadas, quienes en la parte final poseen una estructura en forma de botella de las que nacen las conidias. *Paecilomyces lilacinum* es un hongo que se encuentra con frecuencia en numerosos tipos de suelo y se desarrolla preferentemente en

medios de cultivo comunes como papa dextrosa agar (PDA) y puede desarrollarse en forma masiva mediante la inoculación directa de un soporte sólido como cascarilla de arroz y también por vía fermentativa. Sus temperaturas óptimas son de 25°C a 30°C (Gallegos y col., 2003). Su Modo de acción: El hongo primero coloniza la masa de huevos de *Meloidogyne* y luego desarrolla su micelio que envuelve los huevos de nematodo, la penetración de los huevos se completa con la formación de apresorios formados en las hifas, que ingresan a través de pequeños poros ubicados en la capa llamada vitelina. Tras la penetración, el hongo crece y prolifera en los huevos en el desarrollo embrionario temprano. Después de agotar todos los nutrientes en los huevos, el micelio puede penetrar y romper las cáscaras de los huevos y luego emerger para infectar otros huevos en las cercanías. También puede colonizar a los juveniles dentro de las cáscaras de huevo, y las etapas 3 y 4 de los juveniles sobre agar de agua (Mukhtar y col., 2013). *Purpureocillium lilacinus* parasita los huevos y hembras de los nemátodos, causando deformaciones, destrucción de ovarios e inhibición de la eclosión. En condiciones de pH ligeramente ácido produce toxinas que afectan el sistema nervioso de los nemátodos (Gallegos y col., 2003).

c) *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma virens*:

Las especies del género *Trichoderma* se están presentes en todo el mundo, donde cumplen la función de descomponedores de la materia orgánica. Presentan un rápido desarrollo, una asimilación de muchos sustratos y una elaboración de varios antibióticos. Debido a la elaboración de distintas enzimas como quitinasas, celulasas, etc., que degradan la pared celular y producen micoparasitismo o hiperparasitismo son consideradas como controladores biológicos de distintos organismos, así como *Meloidogyne spp* (Vinale y col., 2006). Crecen a un pH del suelo entre 5.5 a 8.5, prefiriendo un rango de pH

ligeramente ácido comprendido de 5.5 a 6.5. Además, para desarrollarse en el suelo necesita que éste se encuentre con una humedad de 60% de su capacidad de retención, a valores cercanos a niveles de saturación, la falta de oxígeno disponible reduce su crecimiento y permanencia. Asimismo, puede crecer bajo temperaturas que oscilan de 25°C y 30°C, sin embargo, la temperatura ideal para su crecimiento es de 20°C (Martínez y col., 2013). Su modo de acción: parasita a los patógenos envolviendo su cuerpo con sus apresorios, los que ayudados por la acción de las enzimas quitinasas y gluconasas, además de otros compuestos volátiles y no volátiles, pueden penetrar y parasitar fácilmente los huevos de los nemátodos destruyéndolos y disminuyendo su población, ya que, en este caso las quitinasas son las que se encargan de degradar la cutícula de los huevos que están compuestos por quitina (Mendoza y col., 2013). *Trichoderma* controla el desarrollo de los diferentes patógenos mediante varias formas como; la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis (Infante y col., 2009).

2.3. Hipótesis:

- 1) Ho: Ninguna de las especies de hongos nematófagos en estudio son eficientes en el control de *Meloidogyne spp.*, en el cultivo de pimiento del piquillo (*Capsicum annuum L.*) bajo condiciones controladas.
- 2) Ha: Por lo menos una de las cinco especies de hongos nematófagos en estudio es eficiente sobre el control de *Meloidogyne spp.*, en el cultivo de pimiento del piquillo (*Capsicum annuum L.*) bajo condiciones controladas.

2.4. Variables e indicadores:

2.4.1. **Variable independiente:** Hongos nematófagos.

2.4.2. **Variable dependiente:** Población de nematodos, Altura de planta, número de frutos, peso fresco de raíces, peso seco de raíces.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de Ejecución:

La presente investigación se realizó en las instalaciones del área de Fitopatología de la Universidad Privada Antenor Orrego de la ciudad de Trujillo, provincia de Trujillo, región La Libertad.

3.2. Material biológico:

- Hongos nematófagos se describen en tabla 01:

Tabla 01: Especies de hongos nematófagos utilizados en el control de *Meloidogyne*. Trujillo La libertad 2020

N°	Nombre científico	Procedencia	Concentración
1	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	SENASA	10 ⁵ ufc/ml.
2	<i>Pochonia chlamydosporia</i>	SENASA	10 ⁵ ufc/ml.
3	<i>Trichoderma harzianum</i>	Cepa 327 UPAO	10 ⁵ ufc/ml.
4	<i>Trichoderma virens</i> (T1)	UNT	10 ⁵ ufc/ml.
5	<i>Trichoderma virens</i> (T2)	UNT	10 ⁵ ufc/ml.

- Plantines de Pimiento del Piquillo procedentes del vivero Agrogénesis
- Tierra agrícola extraída del sector Barraza distrito de Laredo, provincia de Trujillo, Departamento La Libertad, Perú
- Arena Fina extraída del fundo agroindustrial de la UPAO
- Raíces de Pimiento del piquillo afectada con nódulos de *Meloidogyne spp.*

3.3. Tratamientos

En la tabla 02 se describen los tratamientos establecidos en el presente trabajo de investigación

Tabla 02: Tratamientos y concentraciones de hongos entomopatógenos para el control de *Meloidogyne spp.* en pimiento piquillo (*Capsicum annum L.*).

Numero	Tratamiento	Concentración
T-1	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	10 ⁵ conidias / mL
T-2	<i>Pochonia chlamydosporia</i>	10 ⁵ conidias / mL
T-3	<i>Trichoderma harzianum</i>	10 ⁵ conidias / mL
T-4	<i>Trichoderma virens</i> (T1)	10 ⁵ conidias / mL
T-5	<i>Trichoderma virens</i> (T2)	10 ⁵ conidias / mL
T-6	Vydate	1000mL/200L
T-7	Testigo: Solo <i>Meloidogyne</i>	3600 huevos/100 mL
T-8	Testigo: Sin Nematodo	0.0

3.4. Insumos:

- **Fertilizantes:** Fetrilon combi, Fosfato mono amónico, Nitrato de potasio.
- **Productos Químicos:** Nematicida sistémico Vydate® 24 SL.

3.5. Materiales de Laboratorio:

- Placas de Petri
- Pipetas y micropipeta Graduadas
- Perilla de succión
- Probeta
- Mechero bunsen
- Ansa de Kolle
- Bisturí
- Láminas porta y cubre objetos

3.6. Materiales de gabinete:

- Regla graduada
- Papel A4
- Lápiz y Lapiceros
- Borrador
- Corrector
- Libreta de apuntes
- Jarras plásticas
- Pistola de alta Presión GS 1450
- Bomba WORK 2HP.

3.7. Equipo de Laboratorio.

- Microscopio Estereoscopio.
- Microscopio Compuesto.
- Balanza analítica.
- Autoclave

3.8. Metodología:**3.8.1. Obtención de sustratos:**

Se utilizó tierra agrícola extraída del sector Barraza distrito de Laredo, provincia de Trujillo, Departamento La Libertad, Perú. Y la arena fina se extrajo del fundo agroindustrial de la UPAO. Ambos sustratos fueron esterilizados en autoclave a 121° por dos horas. Luego de la esterilización se hizo el llenado del sustrato en bolsas negras de polietileno, en una proporción de 1:1 (50% de arena fina y 50% de Tierra de valle).

3.8.2. Obtención de plantines

Los plantines se obtuvieron del vivero Agrogénesis – Trujillo

3.8.3. Obtención de raíces de pimiento con nódulos

Las raíces afectadas con nódulos fueron colectadas de una plantación de pimiento del piquillo de la empresa ECOSAC AGRÍCOLA SAC.

3.8.4. Preparación de plantines para el ensayo

Los plantines fueron trasplantados en bolsas plásticas de color negro con el sustrato preparado, los riegos y fertilización fueron semanales utilizando una dosis de Nitrato de potasio de 10 g/l, Fosfato Monoamónico de 5 g/l, y fetrilon combi 1 g/l.

3.8.5. Preparación de hongos antagonistas

Los antagonistas en cultivo puro fueron sembrados en placas de Petri acondicionadas con un medio PDA-E (Papa – Dextrosa – Agar), más una enmienda compuesta por Ampicilina más Cloranphenicol, para evitar el crecimiento de bacterias.

3.8.6. Preparación del inóculo (huevos de *Meloidogyne*)

Se utilizaron raíces de plantas de pimiento del piquillo con presencia de nódulos, las cuales fueron lavadas con abundante agua de caño para dejarlas libres de las partículas de suelo, posteriormente fueron pesadas, picadas con un bisturí y puestas en una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% y agitadas por 3 minutos, luego se enjuagaron en agua corriente de caño para eliminar el exceso de hipoclorito de sodio, finalmente fueron tamizadas en una pila de tamices de 180 μ (0.18 mm) y 38 μ (0.038 mm), los huevos fueron recuperados en el tamiz de 38 μ , luego fueron contados en el microscopio.

3.8.7. Obtención de esporas de hongos antagonistas

A cada placa que contenían los hongos antagonistas en estudio se le agrego 10 ml de agua estéril y unas gotas de Tween 20 para uniformizar la mezcla del agua con las esporas, luego el contenido de las placas fue

pasado por un filtro de algodón y fue llevado a un vaso de precipitación y se procedió al conteo de esporas con ayuda de un hematocimetro en el microscopio.

3.8.8. Enfrentamiento de los hongos nematófagos y los nemátodos

Se realizó colocando 1 ml de la solución extraída de huevos de *Meloidogyne* y 1 ml de la solución de conidias contadas del hongo antagonista en 100 ml de agua utilizada para el riego. Los cuales fueron depositados en cada bolsa. Primera inoculación: 26/08/19, Segunda inoculación: 02/09/19, Tercera inoculación: 09/09/19, Inoculación de raíces picadas: 18/11/19, Cuarta Inoculación de huevos: 21/11/19, Cuarta inoculación de hongos: 22/11/19, Quinta inoculación de hongos: 20/12/19.

3.8.9. Evaluación:

a) Parámetros de crecimiento de las plantas

Altura de planta (cm), número de frutos por planta, y peso fresco y seco de raíces (gramos)

b) Parámetros de respuesta a los tratamientos

b.1. Evaluación del Grado de nodulación en las raíces

Según la escala de Bridge y Page, la que atribuye valores del 0 al 10, según el número de nódulos presentes en la muestra extraída de raíces las raíces (Volcy, Charles 1998).

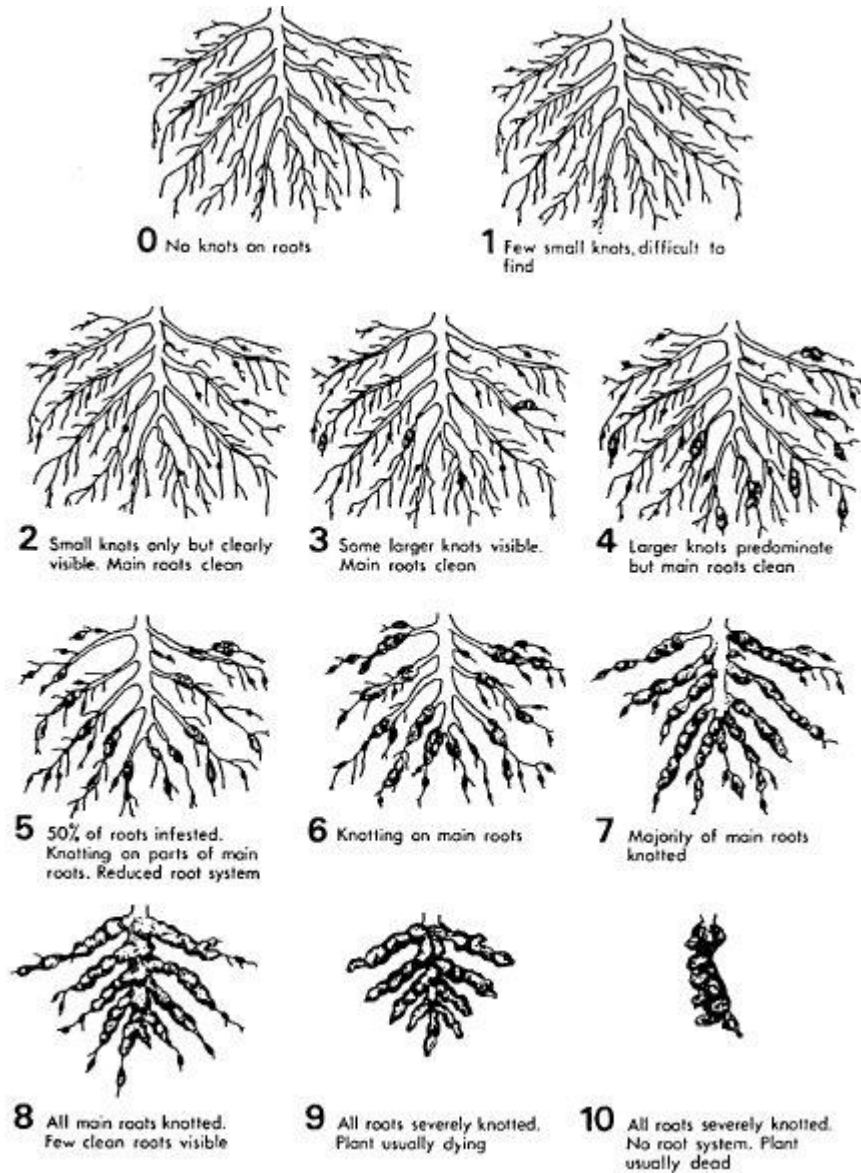


Figura 01: Escala de Bridge y Page para evaluar la nodulación de raíces

Donde:

0 = Raíces totalmente sanas, sin presencia de nódulos.

1 = Poca nodulación presencia de nódulos muy pequeños difíciles de encontrar.

2 = Presencia de pequeños nódulos, pero, con las raíces principales visiblemente limpias.

3 = Presencia de algunos nódulos muy grandes, pero, con raíces principales limpias.

4 = Presencia de nódulos más grandes con muchos nódulos pequeños, pero con raíces principales limpias.

5 = 25 % de las raíces infestadas observándose nódulos en las raíces principales, con un sistema radicular reducido.

6 = 50% de las raíces infestadas observándose gran cantidad de nódulos en las raíces principales.

7 = 75% de las raíces infestadas observándose presencia de nódulos en la mayoría de las raíces principales

8 = Todas las raíces afectadas incluyendo las principales con gran cantidad de nódulos.

9 = Todas las raíces afectas severamente incluyendo las principales con gran cantidad de nódulos generalmente moribunda.

10 = Todas las raíces afectadas severamente, ya no existe sistema radicular sano, la planta en este grado se encuentra usualmente muerta.

b.2. Número de J2 y huevos por 5 gramos de raíz

Se realizó el procedimiento descrito para la preparación del inóculo (página 24), extrayendo 50 ml de la solución tamizada, de la cual, utilizando una micropipeta se tomaron 3 gotas de 20 μ l para colocarla en una placa de Petri y proceder al conteo de huevos y juveniles presentes en 5 gramos de raíces.

3.8.10. Análisis de datos

Diseño de Contrastación.

Para este trabajo se utilizará un Diseño de Bloques Completos al Azar, con 8 tratamientos y 4 repeticiones.

Si los datos originales del número de huevos de *Meloidogyne spp.* en 5 gramos de raíces, peso fresco de raíces, peso seco de raíces, altura de planta, número de frutos no siguen una distribución normal, se realizará una transformación estadística de la raíz cuadrada del valor original más la unidad.

Para los datos de la evaluación del número de huevos de *Meloidogyne spp.* en 5 gramos de raíces, peso fresco de raíces, peso seco de raíces, altura de planta, número de frutos, se realizará un análisis de varianza para determinar el impacto de los tratamientos sobre la dinámica poblacional de *Meloidogyne spp.* en plantas de pimiento del piquillo bajo condiciones de casa malla. Si se obtuvieran diferencias estadísticas significativas, se realizará la prueba de comparación Duncan.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Grado de nodulación de raíces:

Tabla 3: Grado de nodulación de las raíces de pimiento piquillo (*Capsicum annum* L.) bajo condiciones de casa malla

TRATAMIENTOS	REPETICIONES			
	I	II	III	IV
T-1	2	1	2	2
T-2	3	2	2	2
T-3	3	2	2	3
T-4	3	3	2	2
T-5	4	4	2	3
T-6	1	1	1	1
T-7	6	4	3	4
T-8	0	0	0	0

En la tabla 3, Según la escala de Bridge y Page, se puede observar que los tratamientos con mayor grado de nodulación fueron T-7 (Testigo solo con nematodos) que obtuvo un grado promedio de 4 que significa presencia de nódulos grandes en raíces secundarias mas no en raíces principales, seguido del T-5 (*Trichoderma virens* T2) que registró un grado promedio de 3 que significa presencia de algunos nódulos visibles en raíces secundarias, los tratamientos con menor grado de nodulación fueron T-8 (Testigo solo agua) que no registró nódulos y el T-6 (Vydate) que registró un grado de 1 (Poca nodulación presencia de nódulos muy pequeños difíciles de encontrar.). Estos resultados coinciden con algunos autores como Saire Quispe (2017) que Oxamilo (Vydate) a una concentración de 4 L/ha bajo condiciones de invernadero registró 1.4 grados de agallamiento y que manifiesta que alcanzó un grado moderado de eficacia ya que otros productos como las abamectinas no dejaron que se produzcan nódulos en las raíces. Por otro lado, Requena A.M. (2013) en un estudio realizado con controladores biológicos registro que *P. lilacinum* aplicado solo no controló eficientemente el ataque de *Meloidogyne incógnita*, ya que registró índices de agallamiento que van desde 6 hasta 2 cuando se aplicó 1 vez, grado 5 hasta 1 cuando se hicieron 2 aplicaciones,

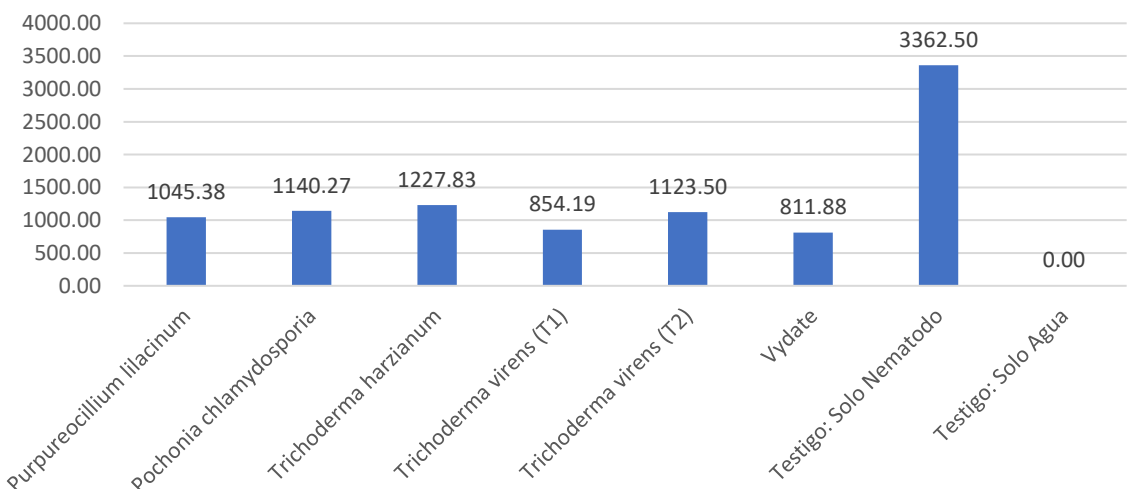
comparando con nuestro trabajo donde se registró un índice de agallamiento igual a 2. Según Requena A. M. (2013), *P lilacinum* actúa mejor cuando se incorpora con algún sustrato orgánico o con otro hongo como por ejemplo *Trichoderma* sp.

4.2. Número de huevos de *Meloidogyne* en 5 gramos de raíces:

Tabla 4: Prueba Duncan (0.05%) del número promedio de huevos de *Meloidogyne spp.* en 5 gramos de raíces de cada uno de los tratamientos en estudio.

N	TRATAMIENTOS	Subconjunto			
		1(a)	2 (b)	3 (c)	4 (d)
8	Testigo Solo Agua	1.0000			
6	Vydate		811.8750		
4	<i>Trichoderma virens</i> T1		854.1875		
1	<i>Purpureocillium lilacinum</i>		1045.3750	1045.3750	
5	<i>Trichoderma virens</i> T2		1123.5000	1123.5000	
2	<i>Pochonia Chlamydosporia</i>		1140.2675	1140.2675	
3	<i>Trichoderma harzianum</i>			1227.8250	
7	Testigo Solo Nemátodo				3362.5000

Grafico 01 : Número de huevos de *Meloidogyne* spp. por 5 g de raíz de pimiento piquillo. Trujillo, La Libertad, 2020.



Los resultados de la prueba Duncan al 0.05% se observan en la tabla 4 y en el gráfico 1, donde existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos diferenciándose cuatro grupos diferentes, en el primer grupo o subconjunto que se diferencia del resto encontramos al T8 (testigo solo agua) donde no se encontraron huevos de *Meloidogyne* en raíces, en un segundo grupo o subconjunto se observan 5 tratamientos estadísticamente iguales que resultaron ser los más eficaces en el control de huevos, donde destacan el T6 correspondiente al tratamiento químico (Vydate) y T4 (*Trichoderma virens* T1) con un promedio de 811.88 y 854.19 huevos/5 gr. de raíz respectivamente, también comparten este segundo lugar los tratamientos T1 (*Purpureocillium lilacinum*) con 1,045.38, T5 (*Trichoderma virens* T2) con 1,123.5 y T2 (*Pochonia Chlamydosporia*) con 1,140.27 huevos/5 gr. de raíz. Un tercer grupo o subconjunto donde los tratamientos T1, T5 y T2 estadísticamente iguales a T6 y T4 (del segundo grupo), comparten el tercer lugar y son estadísticamente iguales al T3 (*Trichoderma harzianum*) que registró 1,227.83 huevos/5 gr. de raíz. El Cuarto grupo o subconjunto lo ocupa el tratamiento con mayor número de huevos de *Meloidogyne spp.* el T-7 (Testigo solo Nematodos) con 3,362.50, huevos / 5 gr de raíz.

4.3. Número de juveniles de *Meloidogyne spp.* en 5 gr. de raíces:

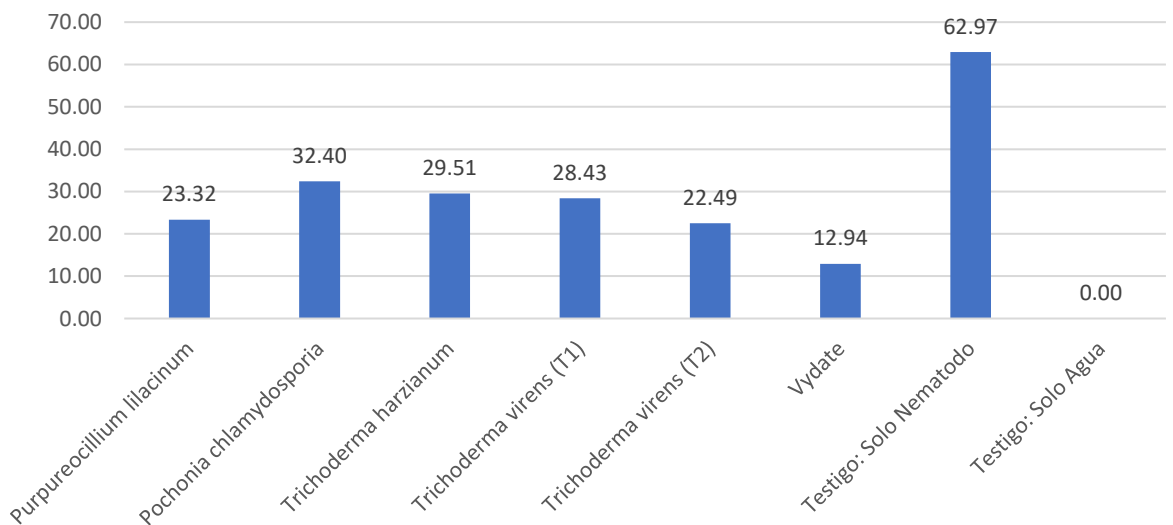
En la tabla 5 y gráfico 02, se puede observar que los resultados de la prueba Duncan al 0,05% para el número de juveniles existen diferencias significativas entre los tratamientos, el tratamiento solo con agua (T8) donde no se encontraron juveniles difiere del resto de los tratamientos, en un segundo grupo o subconjunto se encuentran los tratamientos que tuvieron una mayor eficacia en el control de juveniles de *Meloidogyne spp.*; así tenemos al tratamiento químico (T6 Vydate) con 12.94 juveniles, seguido del T5 (*T. virens* T2) y el T1 (*P. lilacinum*) con 22.49 y 23.31 juveniles respectivamente. El tercer grupo o subconjunto también lo comparten los tratamientos T5 y T1 con los tratamientos T4 (*T. virens* T1), T3 (*T harzianum*) y T2 (*Pochonia chlamydosporia*) con 28.43, 29.50 y 32.40 juveniles respectivamente con mayor cantidad de juveniles de

Meloidogyne spp. en 5 gramos de raíces y difiere estadísticamente del resto de tratamientos fue el T-7 (Testigo solo nematodo) con un promedio de 62.97 juveniles por 5 g. de raíz.

Tabla 5: Prueba Duncan del número de juveniles de *Meloidogyne spp.* en 5 gramos de raíces de cada uno de los tratamientos en estudio.

N	TRATAMIENTOS	Subconjunto			
		1	2	3	4
8	Testigo solo Agua	1.0000			
6	Vydate		12.9400		
5	<i>Trichoderma virens</i> T2		22.4925	22.4925	
1	<i>Purpureocillium lilacinum</i>		23.3150	23.3150	
4	<i>Trichoderma virens</i> T1			28.4300	
3	<i>Trichoderma harzianum</i>			29.5050	
2	<i>Pochonia chlamydosporia</i>			32.4025	
7	Testigo Solo Nematodo				62.9700

Grafico 02 : Número de juveniles (J2) de *Meloidogyne spp.* por 5 g de raíz de pimiento piquillo. Trujillo, La Libertad, 2020



4.4. Peso fresco de raíces:

En la tabla 06, gráfico 03 y figura 02, se observan los resultados de la prueba Duncan al 0.05% para el peso fresco de las raíces de plántulas de pimiento, en los diferentes tratamientos existen diferencias estadísticas significativas entre ellos, en un primer grupo o subconjunto se encuentran los tratamientos que registraron un menor peso de raíces aquí tenemos el T7 (testigo solo nematodos) con 100.75 gr., el T5 (*T. virens* T2), T1 (*P. lilacinum*) y el T2 (*Pochonia chlamydosporia*) con 124.75, 136.75 y 139.25 gr. respectivamente. En el segundo grupo que también lo comparten el T5, T1 y T2 destaca el T3 (*Trichoderma harzianum*) con 148.75 gr., el T6 (Vydate) con 151.75 gr., el T4 (*Trichoderma Virens T1*) con 163.50 y el Testigo solo agua con 168.25 gr. Al parecer todos los tratamientos tienen un efecto positivo sobre el peso de las raíces y tienen una relación directa con el control de huevos y juveniles de *Meloidogyne*, así tenemos que el T7 (testigo solo nematodo) presenta los índices más altos de agallamiento, número mayor de huevos y juveniles lo que se evidencia en el menor peso de raíces. Estos resultados se debieron a que, a pesar de que aún no se sabe con seguridad cuales son los mecanismos que utilizan estos hongos para promover el crecimiento vegetal, hace poco se encontró que en maíz, una cepa de *Trichoderma* estimula el crecimiento del sistema radicular haciéndolos más resistentes a la sequía, además, de promover un aumento del 60% de peso en plantas de frejol, ya que, estimula el crecimiento y la germinación, lo mismo ocurre en plantas de arroz cuando se le aplica *Trichoderma viridae* (Páez, 2006).

Tabla 06: Prueba Duncan del Peso Fresco de raíces para cada uno de los tratamientos en estudio.

N	Tratamiento	Subconjunto	
		1	2
7	Testigo Solo Nemátodo	100.7500	
5	<i>Trichoderma virens T2</i>	124.7500	124.7500
1	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	136.7500	136.7500
2	<i>Pochonia chlamydosporia</i>	139.2500	139.2500
3	<i>Trichoderma harzianum</i>		148.7500
6	Vydate		151.7500
4	<i>Trichoderma virens T1</i>		163.5000
8	Testigo solo Agua		168.2500

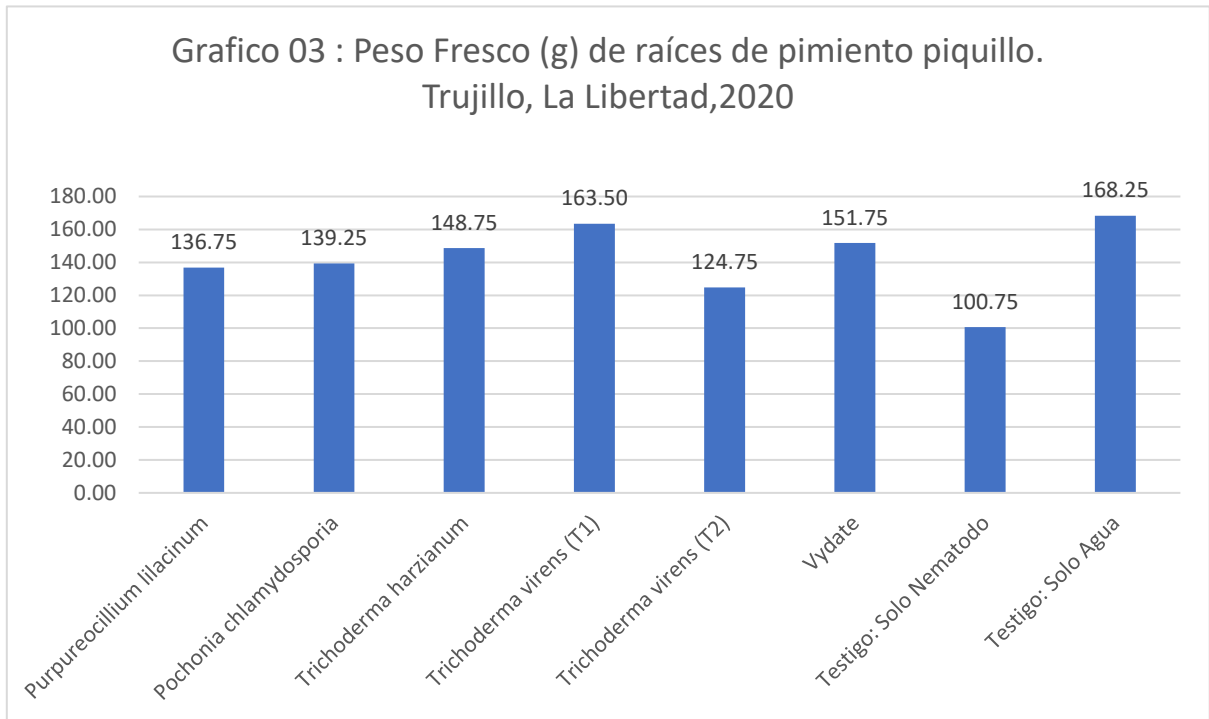




Figura 2: Masa radicular de plantas de pimiento del piquillo obtenidas de los diferentes tratamientos, observe el tratamiento T7 (Plantas inoculadas con *Meloidogyne spp.*) presentan menor masa radicular por lo consiguiente menor peso en las raíces comparando con el T8 (agua) y T6 testigo químico (Vydate) quienes obtuvieron mayor masa radicular, también destaca el T4 (*Trichoderma virens* T1) que estadísticamente son similares al tratamiento químico.

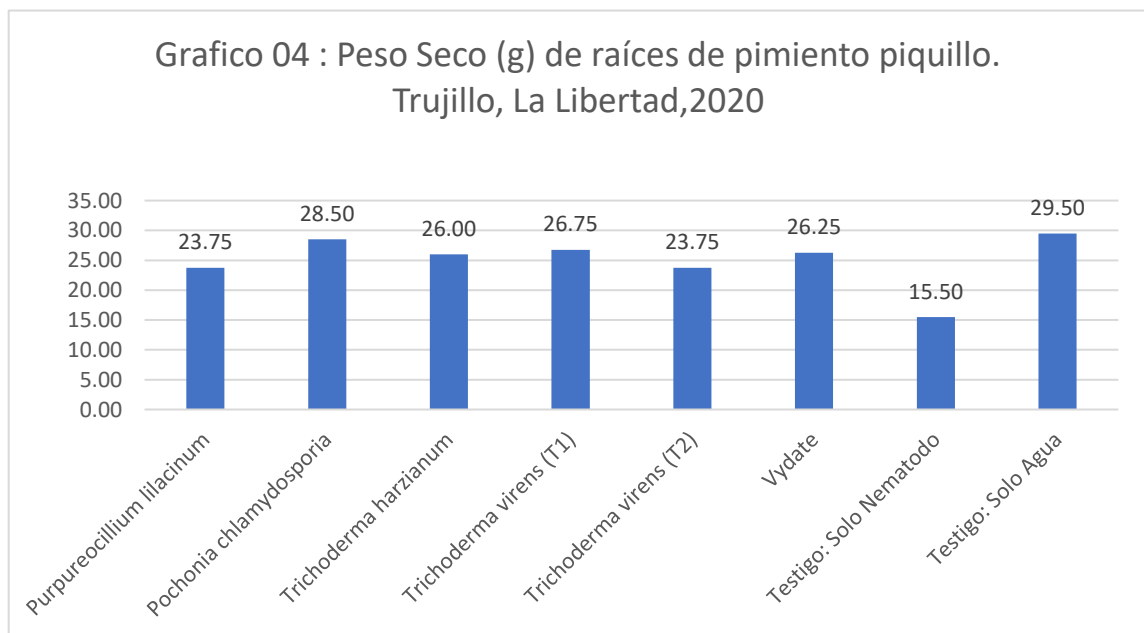
4.5. PESO SECO DE RAÍCES:

En la tabla 07, y gráfico 04, se puede observar los resultados de la prueba Duncan (0.05%) donde no existen diferencias significativas entre los tratamientos solamente diferencias numéricas, donde, se destaca el T 8 (Testigo solo agua) que registró en promedio el mayor peso seco de las raíces con 29.500 g., seguido del T2 (*Pochonia chlamydosporia*) con un promedio de 28.50 gramos, y de T-4 (*Trichoderma virens* T1) con 26.75 gramos., también este grupo lo comparten los tratamientos T6, T3, T5 y T1 aunque numéricamente son diferentes, el segundo grupo o subconjunto se puede apreciar que los tratamientos con menor peso fresco de raíces fueron, T-5 (*Trichoderma virens* T2) y T-1 (*Purpureocillium lilacinum*) con 23.75 gramos cada uno, por ultimo T-7 (Testigo solo nematodo) con un promedio de 15.50 gramos.

Estos resultados nos indican por una parte que el peso seco de raíces está directamente relacionado con el ataque de *Meloidogyne spp.*, esto se evidencia cuando el testigo inoculado con nematodos presenta un menor peso seco cuando se compara del resto de tratamientos, mientras que el testigo no inoculado registra el mayor peso seco. *Pochonia chlamydosporia* (T2) y la cepa T1 de *Trichoderma virens* (T4) fueron los hongos nematófagos además de controlar al nemátodo permitieron mayor peso seco de raíces.

Tabla 07: Prueba Duncan al 0.05% del Peso Seco de raíces para cada uno de los tratamientos.

N	TRATAMIENTOS	Subconjunto	
		1	2
7	Testigo Solo Nemátodo	15.5000	
1	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	23.7500	23.7500
5	<i>Trichoderma virens T2</i>	23.7500	23.7500
3	<i>Trichoderma harzianum</i>	26.0000	26.0000
6	Vydate	26.2500	26.2500
4	<i>Trichoderma virens T1</i>	26.7500	26.7500
2	<i>Pochonia chlamydosporia</i>		28.5000
8	Testigo solo Agua		29.5000



4.6. ALTURA DE PLANTA:

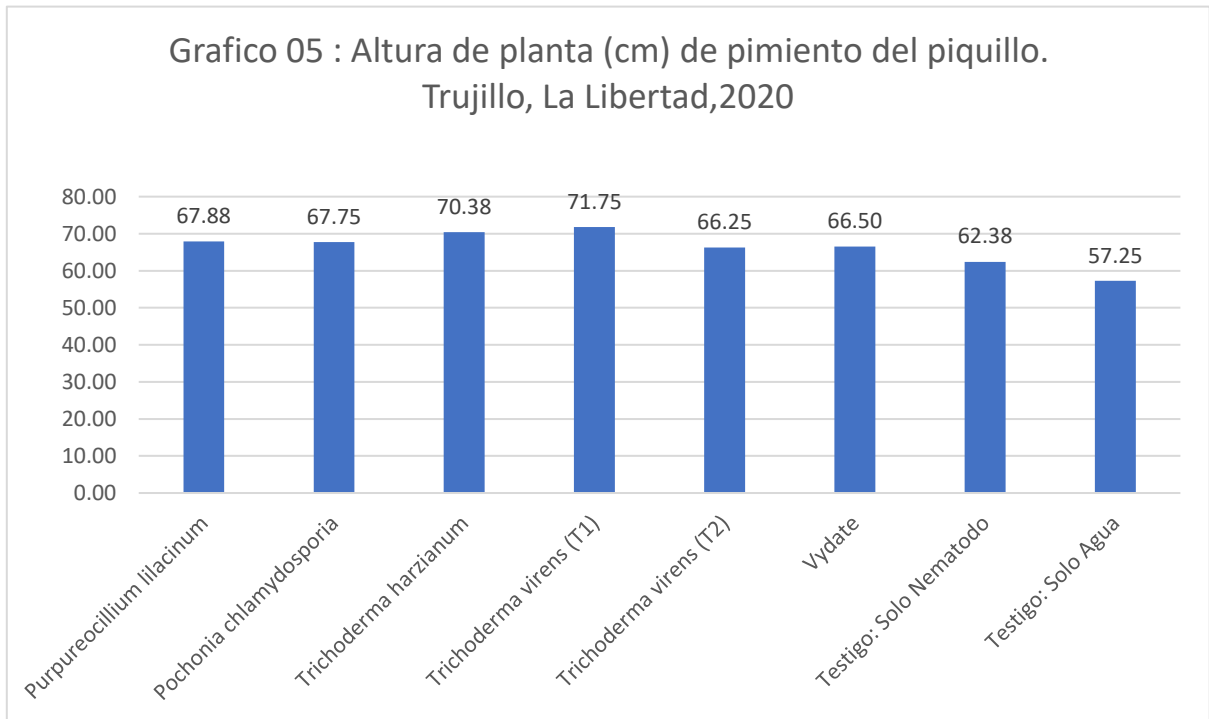
En tabla 08 y gráfico 05, observamos los resultados de la prueba Duncan al 0,05% en donde no existen diferencias significativas solamente diferencias numéricas entre los tratamientos, para el efecto de altura de planta encontramos dos grupos o subconjuntos en donde destacan en el grupo con mayor altura los tratamientos T4 (*Trichoderma viride* T1), T3 (*Trichoderma harzianum*) con 71.75 y 70.375 cm respectivamente, también en este grupo encontramos a los tratamientos T1, T2, T6. T5 y T7 quienes también comparten estadísticamente el primer grupo o subconjunto con el testigo solo agua quien registró la menor altura de planta con 57.25 cm.

Estos resultados nos indican que el T4 (*Trichoderma viridae* T1) y T3 (*Trichoderma harzianum*), además del efecto represor contra *Meloidogyne incógnita*, promueve el crecimiento y desarrollo de las plantas, debido a que, *Trichoderma spp.*, promueve la presencia de ácido indolacético y ácidos orgánicos que regulan el crecimiento de la planta y mejoran la retención de nutrimentos, ya que, modifican el pH de la rizosfera facilitando que las raíces los puedan absorber fácilmente (Harman, 2004).

Las cepas de *Trichoderma* como *Trichoderma virens* y *Trichoderma Harzianum* son antagonistas de juveniles (J2) de *Meloidogyne incognita*, ya que, después de 48 a 72 horas de haberlos aplicado sobre los nemátodos reprimieron en un 65 a 93.75% la movilidad de ellos (Candelero y col., 2015).

Tabla 08: Prueba Duncan de la altura de planta de cada uno de los tratamientos en estudio.

N	TRATAMIENTOS	Subconjunto	
		1	2
8	Testigo solo Agua	57.2500	
7	Testigo Solo Nemátodo	62.3750	62.3750
5	<i>Trichoderma viride T2</i>	66.2500	66.2500
6	<i>Vydate</i>	66.5000	66.5000
2	<i>Pochonia chlamyosporia</i>	67.7500	67.7500
1	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	67.8750	67.8750
3	<i>Trichoderma harzianum</i>		70.3750
4	<i>Trichoderma viride T1</i>		71.7500



4.7. NUMERO DE FRUTOS:

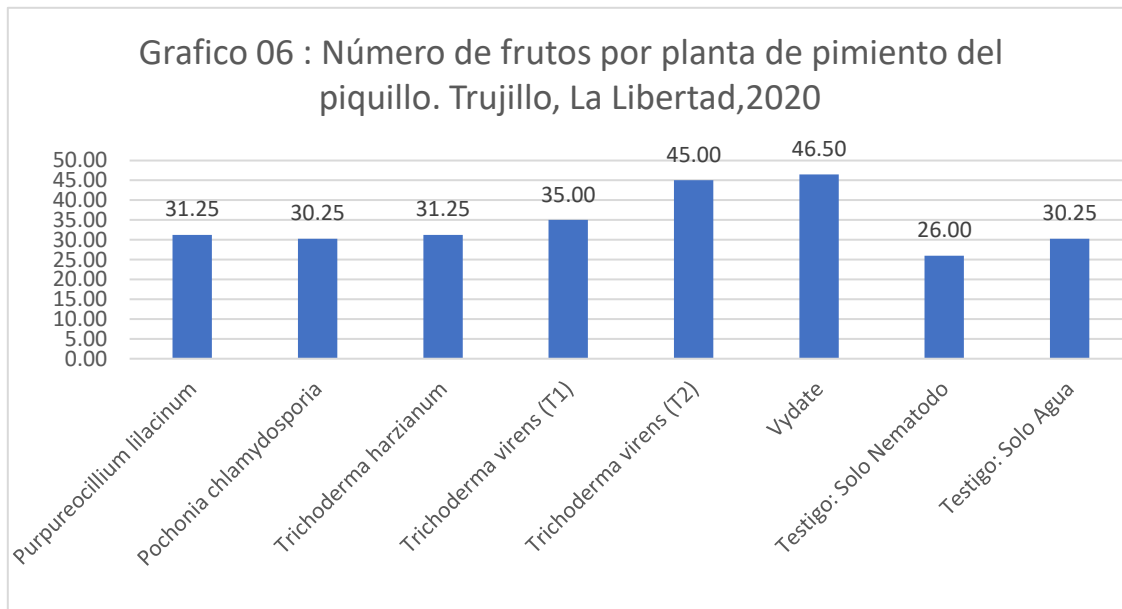
En la tabla 09 y gráfico 06, los tratamientos muestran diferencias significativas entre ellos, en la prueba Duncan al 0,05% diferencia dos grupos o subconjuntos, donde destacan por presentar mayor número de frutos y comparten el primer grupo o subconjunto, los tratamientos T6 (*Vydate*) y T5 (*Trichoderma virens T2*) con una media

de 56.5 y 45 frutos por planta respectivamente. El segundo grupo lo comparten el T5 (*Trichoderma virens* T1) con una media de 35 frutos por planta al igual que los tratamientos T3, T2, T8 y T1 y en el tercer grupo o subconjunto el tratamiento con menor frutos por planta fue el T7 (testigo solo con nematodo) con solo 23.5 frutos en promedio, también comparte este grupo estadísticamente con los tratamientos T1, T8, T4, T2 y T3.

Hay que indicar que la colección de frutos por planta fue escalonada y se realizó durante el tiempo que duro el experimento (entre tres a cuatro cortes).

Tabla 09: Prueba Duncan del número de frutos para cada uno de los tratamientos en estudio.

N	TRATAMIENTOS	Subconjunto		
		1(a)	2(b)	3(c)
6	Vydate	46.5		
5	<i>Trichoderma virens</i> T2	45.0		
4	<i>Trichoderma virens</i> T1		35.0	
3	<i>Trichoderma harzianum</i>		31.25	31.25
2	<i>Pochonia chlamyosporia</i>		30.25	30.25
8	Testigo solo Agua		30.25	30.25
1	<i>Purpureocillium lilacinum</i>		28.75	28.75
7	Testigo Solo Nemátodo			23.5



IV. CONCLUSIONES

- En el Índice de Agallamiento el tratamiento más eficaz fue Vydate (testigo químico) frente al resto.
- Los tratamientos *Trichoderma virens* cepas T1 y T2, *Pochonia chlamydosporia* y *Purpureocillium lilacinum* reportaron menor cantidad de huevos y fueron estadísticamente iguales al testigo químico (Vydate).
- *Trichoderma virens* T2 y *Purpureocillium lilacinum* mostraron un eficaz control contra los juveniles de *Meloidogyne spp.* igualando estadísticamente al testigo químico (Vydate).
- La mayoría de los hongos en estudio tuvieron un efecto promotor sobre el desarrollo de plantas, incrementando la masa radicular y mayor altura de plantas superando al testigo sin nematodo.
- La Cepa de *Trichoderma virens* T2 tuvo mayor eficacia en todos los parámetros evaluados.

V. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de estas cepas de hongos nematófagos en el control de otros nematodos fitoparásitos en otros cultivos de importancia económica.
- Investigar el comportamiento de estos nematófagos a nivel de campo a través de inoculaciones al suelo y a diferentes concentraciones y sustratos.
- Efectuar estudios de sobrevivencia de estos hongos en el suelo.
- Incorporar estos hongos nematófagos en un manejo integrado de nematodos.
- Realizar un análisis de caracterización del suelo usado para el sustrato antes de hacer las inoculaciones.
- Realizar una prueba de identificación para validar que el nemátodo inoculado es del género *Meloidogyne*.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agraria.pe. 2018. (25 de junio de 2019). Área de Capsicum en Lambayeque aumentó 45% entre el 2015 y 2017. <http://agraria.pe/noticias/area-de-capsicum-en-lambayeque-aumento-45-entre-el-2015-y-20-17281>.
- Agrios, G. 1998. Fitopatología. Editorial Limusa. Segunda edición. México DF. 838 pp.
- Agrios, G.N. (2005). Plant Pathology 5^o edición. Ed. Elsevier, Academic Press, San Diego, California, USA.
- Agrodata Peru. (25 de julio de 2021). Pimientos Conservas Perú Exportación 2021 junio. <https://www.agrodataperu.com/2021/07/pimientos-conservas-peru-exportacion-2021-junio.html>.
- Alva Díaz, A. R. (2015). Manejo integrado de lepidópteros en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum*) tipo piquillo en Chavimochic. Trabajo Profesional para Optar el Título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina, Facultad de Agronomía. 52 pp.
- Borges, R., Macedo, M., Reis, M., Dias, L., Martins, I., y Mello, S. 2013. Eficiencia *IN VITRO* de aislados *Trichoderma spp.* en el control de *Lasiodiplodia theobromae* en *Tectona grandis*. XXII Congreso Peruano y XVII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Lambayeque, Perú, p. 17. (Resumen).
- Bridge, J., & Page, S. L. J. (1980). Estimation of root-knot nematode infestation levels on roots using a rating chart. Tropical Pest Management. 26: 296-298.
- Candelero D., Cristobal A., Reyes R., Tun S., Gamboa A., Ruiz S., 2015. *Trichoderma spp.* promotoras de crecimiento en plántulas de *Capsicum*

- *chinense* Jacp. y antagónicas contra *Meloidogyne incognita*. Revista Internacional de Botánica experimental, (84), 113-119.
- Cayotopa, J., Arévalo, E., León, B., Olivera, D. y Trigos, E. 2013. Biocontrol de *Meloidogyne incognita* patógeno de *Theobroma cacao* con cepas de *Trichoderma* endófito. XXII Congreso Peruano y XVII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Lambayeque, Perú, p. 70. (Resumen).
- Christie, J. 1974. Nemátodos de los vegetales: su ecología y control. Editorial Limusa. Primera edición. México DF. 275 pp.
- Gallegos, M., Cepeda S., y Olaya P. 2003. Entomopatógenos. Editorial Trillas. Primera Edición. México DF. 148 pp.
- Guardia, E. y Cedano, C. 2013. Efecto de nematotoxicos orgánicos sobre la emergencia y viabilidad de juveniles de *Meloidogyne spp.* en condiciones de laboratorio. XXII Congreso Peruano y XVII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Lambayeque, Perú, p. 70-71. (Resumen).
- Guardia, H. y Delgado, M. 2016. Patogenicidad de *Purpureocillium lilacinum* en *Meloidogyne spp.* Bajo condiciones de Laboratorio. XXIV Congreso Peruano de Fitopatología. Cusco, Perú, p. 67. (Resumen).
- Guardia, H., Cedano, C. y Delgado, M. 2017. Efecto de nematotoxicos orgánicos sobre *Meloidogyne arenaria* en *Capsicum baccatum* var. *pendulum* en La Libertad, Perú. XXV Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Termas de Chillán, Chile, p. 229. (Resumen).
- Harman G., Howell C., Viterbo A., Chet I., Lorito M., 2004. Especies de *Trichoderma*: simbioses de plantas avirulentas y oportunistas. *Nature Review Microbiology*, (2), 43-56.

- Infante, D., Martínez, B., González, N., y Reyes, Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de protección vegetal*, 24(1), 14-21.
- Kerry, B.R. (1987). Biological Control. In: Principles and Practice of Nematodes Control in Crops (R. H. Brown y B. R. Kerry, Eds.): 233-257. Academic Press, Sydney
- López, J. y Arévalo, C. 2016. Control Biológico de nemátodos (*Meloidogyne spp.*) en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*) en invernaderos de Culiacán-Sinaloa, México. 3^{er} Simposio Chileno de Control Biológico. Chillán Viejo, Chile, p. 18. (Resumen).
- Llontop, J. y Bances, G. 2013. Establecimiento de *Paecilomyces lilacinus* y de *Trichoderma viride* en la rizosfera de espárrago en riego por goteo, en Chavimochic, Perú. XXII Congreso peruano y XVII Congreso latinoamericano de fitopatología. Lambayeque, Perú, p. 40-41. (Resumen).
- Marín M. 2012. Evaluación de la eficacia de diferentes productos en el control de *Meloidogyne* en el cultivo de tomate, Universidad de Almería, Escuela Superior de Ingeniería, Departamento de producción Vegetal, Proyecto de fin de carrera. 124 pp.
- Maroto, J. 2002. Horticultura Herbácea Especial. Ediciones Mundi-Prensa. Quinta edición. Madrid – España. 702 pp.
- Martínez, B., Infante, D., y Reyes, Y. 2013. *Trichoderma spp.* y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1), 1-11.
- Mendoza, G., Wilson, H, y Colina C. 2013. Efecto de *Trichoderma atroviride*, *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* sobre huevos de *Meloidogyne sp.* en condiciones de laboratorio. *Revista REBIOLEST*, 1(2), 65-71.

- Mukhtar, T., Arshad Hussain, M., y Zameer Kayani, M. 2013. Biocontrol potencial de *Pasteuria penetrans*, *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus* y *Trichoderma harzianum* contra *Meloidogyne incognita* en okra. *Phytopathologia Mediterranea*, 52(1), 66-76.
- Parra, K. 2016. Endófitos nematógenos nativos para el control de *Meloidogyne* en tomate. Tercer Simposio Chileno de Control Biológico. Chillán Viejo, Chile, p. 103. (Resumen).
- Páez O. Uso agrícola de *Trichoderma*. 2006. Disponible en: <http://www.soil-fertility.com/trichoderma/espagnol/index.shtml> [Consultado: 10 de enero de 2021].
- Raymond, A. 1989. Producción de semillas de plantas Hortícolas. Ediciones Mundi-Prensa. Primera edición. Madrid – España. 330 pp.
- Ramírez, G., Granja, Z., Del Aguila, T., y Cantoral, M. T. (2014). Manual de producción y uso de hongos entomopatógenos. Perú: *Servicio Nacional de Sanidad Agraria*. 37 pp.
- Requena A.M. 2013. Control Biológico de *Meloidogyne incognita* en Pimiento (*Capsicum annuum* L.) Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Cartagena – Colombia. 151 pp.
- Roncal, M. 2004. Principios de Fitopatología Andina. Editorial Gráfica Bracamonte. Primera edición. Lima – Perú. 420 pp.
- Saire Quispe L. 2017. Productos químicos alternativos e ingredientes activos para el control de *Meloidogyne incognita* en tomate de invernadero. Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo. Universidad Nacional Agraria La Molina –Lima. 121 pp.

- Segers R. 1996 The nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium*: Aspects of pathogenicity. Tesis postdoctoral. Universidad de Nottingham, UK. 252 pp.
- Valadez, L. 1998. Producción de hortalizas. Editorial Limusa Grupo Noriega Editores. Séptima reimpresión. México DF. 298 pp.
- Vigliola, M., Kramarovsky, E., Limongelli, J., Mundt, C., Chiesa, A., Reingeisen J., Fernández, J., Vallejo, H., de Sancho, H., Barón, C., y Souto S., Daorden, M. 1991. Editorial Hemisferio Sur. Segunda Edición. Buenos Aires – Argentina. 235 pp.
- Vinale, F., Marra, R., Scala, F., Ghisalberti, E.L., Lorito, M., Sivasithamparam, K., 2006. Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma strains* active against different phytopathogens. Letters in Applied Microbiology 43, 143–148.
- Volcy. Charles.1998. Nematodos: Diversidad y parasitismo en plantas. Tomo 2. Editorial Montoya. Medellin Colombia.

ANEXOS

Tabla 10: Promedio del Número de huevos de *Meloidogyne spp.* en 5 g de raíces de Pimiento del Piquillo. Trujillo – 2020.

TRATAMIENTO	REPETICIÓN				TOTAL	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
1	720.00	1379.00	950.00	1132.50	4181.50	1045.38
2	875.00	1598.85	1187.22	900.00	4561.07	1140.27
3	618.80	1375.00	1142.50	1775.00	4911.30	1227.83
4	553.75	1237.26	810.74	815.00	3416.75	854.19
5	1074.50	1299.50	920.00	1200.00	4494.00	1123.50
6	965.00	750.00	882.50	650.00	3247.50	811.88
7	3200.00	3475.00	3325.00	3450.00	13450.00	3362.50
8	1.00	1.00	1.00	1.00	4.00	1.00

Tabla 11: Análisis de varianza del número de huevos de *Meloidogyne spp.* en 5 gramos de raíces de Pimiento Piquillo. Trujillo 2020.

Origen	G.L	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Sig.
BLOQUES	3	634592.655	211530.885	4.164	0.018
TRATAMIENTO	7	25672791.454	3667541.63	72.197	0.000
Error	21	1066783.829	50799.230		
Total	31	27374167.938			
CV	18.85%				

Tabla 12: Número de Juveniles (J₂) de *Meloidogyne spp.* en 5 g de raíz de Pimiento Piquillo. Trujillo 2020.

TRATAM	REPETICIÓN				TOTAL	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
1	13.00	21.25	23.30	35.71	93.26	23.32
2	19.60	30.00	36.42	43.59	129.61	32.40
3	10.00	16.00	33.85	58.17	118.02	29.51
4	10.00	28.57	35.15	40.00	113.72	28.43
5	12.48	16.60	25.48	35.41	89.97	22.49
6	3.30	20.00	18.46	10.00	51.76	12.94
7	46.38	61.39	65.46	78.65	251.88	62.97
8	1.00	1.00	1.00	1.00	4.00	1.00

Tabla 13: Análisis de varianza del número de juveniles (J₂) de *Meloidogyne spp.* en 5 gramos de raíces de Pimiento Piquillo. Trujillo 2020.

Origen	G.L	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Sig.
BLOQUES	3	2311	770.182	13.375	0.000
TRATAMIENTO	7	8951	1278.768	22.207	0.000
Error	21	1209	57.584		
Total	31	12471			
CV	28.50%				

Tabla 14: Peso fresco de raíces (gramos) de cada uno de los tratamientos en estudio.

TRATAMIENTO	REPETICIÓN				TOTAL	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
1	124.00	113.00	148.00	162.00	547.00	136.75
2	140.00	157.00	118.00	142.00	557.00	139.25
3	138.00	143.00	150.00	164.00	595.00	148.75
4	209.00	125.00	180.00	140.00	654.00	163.50
5	121.00	86.00	138.00	154.00	499.00	124.75
6	166.00	179.00	139.00	123.00	607.00	151.75
7	80.00	100.00	126.00	97.00	403.00	100.75
8	213.00	121.00	176.00	163.00	673.00	168.25

Tabla 15: Análisis de varianza de peso fresco de raíces para cada uno de los tratamientos en estudio.

Origen	G.L	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Sig.
BLOQUES	3	2143.844	714.615	1.016	0.405
TRATAMIENTOS	7	13302.219	1900.317	2.702	0.037
Error	21	14768.406	703.257		
Total	31	30214.469			
CV	18.71%				

Tabla 16: Peso seco de raíces (gramos) de cada uno de los tratamientos en estudio.

TRATAMIENTO	REPETICIÓN				TOTAL	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
1	18.00	21.00	25.00	31.00	95.00	23.75
2	28.00	37.00	22.00	27.00	114.00	28.50
3	21.00	21.00	31.00	31.00	104.00	26.00
4	29.00	25.00	33.00	20.00	107.00	26.75
5	29.00	15.00	20.00	31.00	95.00	23.75
6	36.00	32.00	19.00	18.00	105.00	26.25
7	15.00	14.00	20.00	13.00	62.00	15.50
8	42.00	23.00	31.00	22.00	118.00	29.50

Tabla 17: Análisis de varianza de peso seco de raíces de cada uno de los tratamientos en estudio.

Origen	G.L	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Sig.
BLOQUES	3	64.750	21.583	0.434	0.731
TRATAMIENTOS	7	526.000	75.143	1.510	0.218
Error	21	1045.250	49.774		
Total	31	1636.000			
CV	28.22%				

Tabla 18: Altura de planta (centímetros) de cada uno de los tratamientos en estudio

TRATAMIENTO	REPETICIÓN				TOTAL	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
1	53.00	76.00	74.50	68.00	271.50	67.88
2	69.00	58.00	66.00	78.00	271.00	67.75
3	66.00	75.00	56.00	84.50	281.50	70.38
4	71.00	72.00	63.00	81.00	287.00	71.75
5	65.00	53.00	63.00	84.00	265.00	66.25
6	65.00	71.00	61.00	69.00	266.00	66.50
7	65.00	55.00	63.50	66.00	249.50	62.38
8	60.00	55.00	57.00	57.00	229.00	57.25

Tabla 19: Análisis de varianza de la altura de planta de cada uno de los tratamientos en estudio.

Origen	G.L	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Sig.
BLOQUES	3	557.898	185.966	3.155	0.046
TRATAMIENTOS	7	592.930	84.704	1.437	0.243
Error	21	1237.664	58.936		
Total	31	2388.492			
CV	11.59%				

Tabla 20: Numero de frutos de cada uno de los tratamientos en estudio.

TRATAMIENTO	REPETICIÓN				TOTAL	PROMEDIO
	I	II	III	IV		
1	32	33	26	34	125	31.25
2	26	31	27	37	121	30.25
3	35	33	38	19	125	31.25
4	46	29	22	43	140	35.00
5	44	47	53	36	180	45.00
6	48	52	43	43	186	46.50
7	22	22	28	32	104	26.00
8	26	28	34	33	121	30.25

Tabla 21: Análisis de varianza del número de frutos de cada uno de los tratamientos en estudio.

Origen	G.L	Suma de cuadrados	Media Cuadrática	F	Sig.
BLOQUES	3	4375	1458	0.030	0.993
TRATAMIENTOS	7	1035625	257.982142	4.449	0.004
Error	21	1035.625	49.315		
Total	31	2575.875			
CV	20.39%				

Tabla 22: Datos de Temperatura (°C), Humedad Relativa (%), de los meses de Julio 2019 a Febrero 2020. Estación Laredo.

MES	TEMPERATURA MÁXIMA PROMEDIO	TEMPERATURA MÍNIMA PROMEDIO	HUMEDAD PROMEDIO
Jul-19	20.6	15.2	88.4
Ago-19	20.3	14.3	87.5
Set-19	20.9	15.0	90.4
Oct-19	21.7	15.1	84.9
Nov-19	23.1	16.8	86.4
Dic-19	25.1	18.4	86.7
Ene-20	27.9	19.1	86.9
Feb-20	28.2	20.1	93.5

Fuente: SENAMHI – LA LIBERTAD



Figura 3: Siembra de hongos antagonistas en placas de Petri acondicionadas con un medio PDA-E (Papa – Dextrosa – Agar), más una enmienda compuesta por Ampicilina más Cloranphenicol, para evitar el crecimiento de bacterias.



Figura 4: Crecimiento de hongos antagonistas en placas de Petri acondicionadas con un medio PDA-E (Papa – Dextrosa – Agar), más una enmienda compuesta por Ampicilina más Cloranphenicol, para evitar el crecimiento de bacterias.



Figura 5: Esterilización del sustrato en autoclave a 121° por dos horas. Luego de la esterilización se hizo el llenado del sustrato en bolsas negras de polietileno, en una proporción de 1:1 (50% de arena fina y 50% de Tierra de valle).



Figura 6: Trasplante de plantines en bolsas plásticas de color negro con el sustrato preparado.



Figura 7: Riego y fertilización semanal de las plantas, utilizando una dosis de Nitrato de potasio de 10 g/l, Fosfato Monoamónico de 5 g/l, y fertilon combi 1 g/l.



Figura 8: Extracción de nódulos de raíces infestadas.

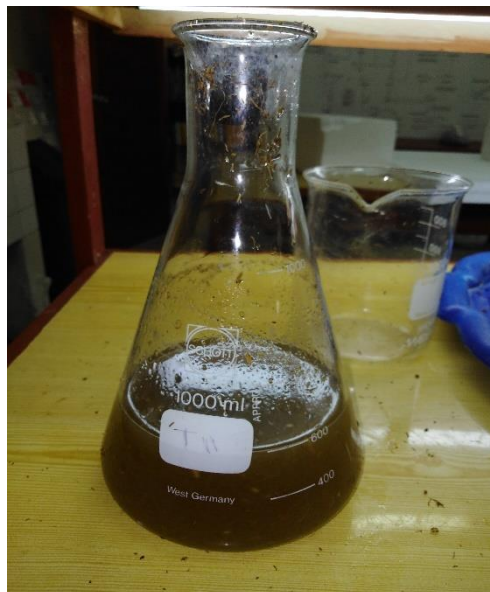


Figura 9: Nódulos de raíces infestadas en una solución de Hipoclorito de Sodio al 0.5%.



Figura 10: Tamizado de raíces utilizando tamices de 140 mesh (0.106 mm) y 400 mesh (0.038 mm), los huevos fueron recuperados en el tamiz de 400 mesh,



Figura 11: Conteo de huevos de *Meloidogyne spp.* en el microscopio.



Figura 12: Extracción de conidias de hongos nematófagos, utilizando el Ansa de Kofler para raspar la placa cerca del mechero de alcohol y así evitar su contaminación.



Figura 13: Colocación de una muestra con la mezcla de conidias extraídas en un hematómetro para su posterior conteo en el microscopio.



Figura 14: Conteo de conidias de hongos nematófagos en el microscopio.



Figura 15: Enfrentamiento, de 1 ml de solución de conidias contadas del hongo antagonista en 100 ml de agua utilizada para el riego.

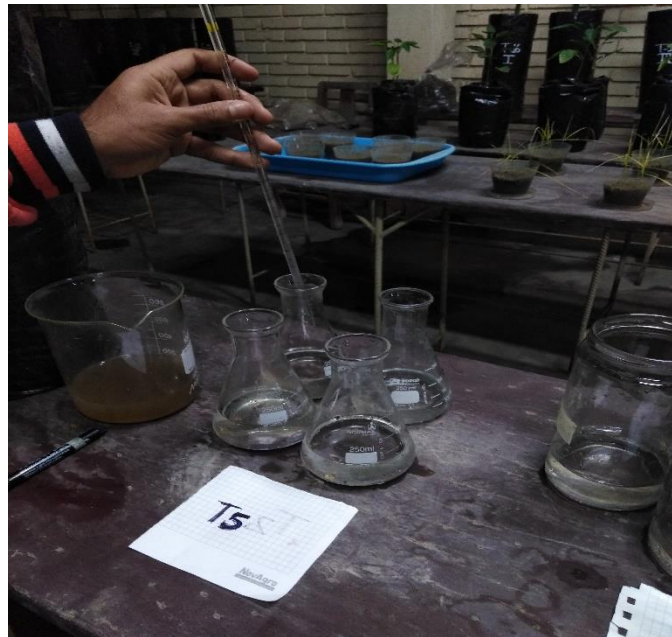


Figura 16: Enfrentamiento, 1 ml de la solución extraída de huevos *Meloidogyne spp* en 100 ml de agua utilizada para el riego.



Figura 17: Inoculación de solución con 100 ml de agua, conteniendo 1 ml de solución extraída de huevos *Meloidogyne spp.* más 1 ml de la solución de conidias contadas del hongo antagonista, en cada bolsa.



Figura 18: Evaluación de altura de planta y N° de frutos.



Figura 19: Apertura de bolsa



Figura 20: Lavado de Raíces



Figura 21: Extracción de la raíz mediante un corte en el cuello de la planta.



Figura 22: Pesado de raíces frescas.



Figura 23: Sobre con raíces extraídas de cada tratamiento en la estufa para el cálculo de peso seco.



Figura 24: Peso seco de raíces.



Figura 25: Extracción y pesado de 5 g de raíz para análisis de huevos y juveniles.

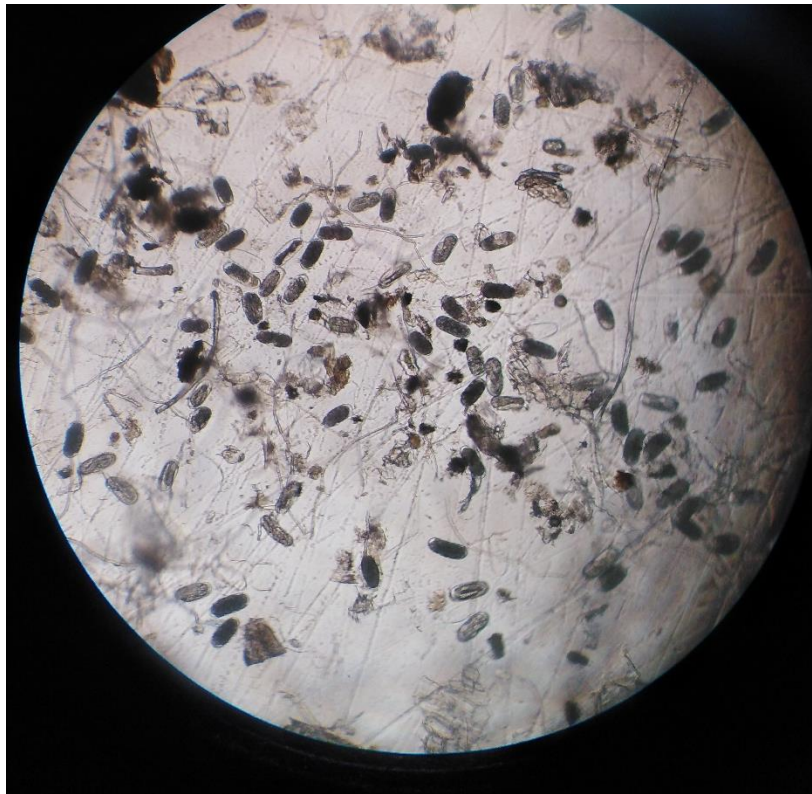


Figura 26: Conteo de huevos y juveniles en los 5 g de muestra extraída de raíz.



Figura 27: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 1 (*Purpureocillium lilacinus*).



Figura 28: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 2 (*Pochonia chlamydosporia*).



Figura 29: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 3 (*Trichoderma harzianum*).



Figura 30: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 4 (*Trichoderma virens* T1).



Figura 31: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 5 (*Trichoderma virens* T2).



Figura 32: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 6 (Vydate).



Figura 33: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 7 (Testigo solo *Meloidogyne spp.*).



Figura 34: Sintomatología presentada en la parte aérea de tratamiento 8 (Testigo solo agua).

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized letters that appear to be 'MADJ'.

Ing. Dr. Martín Augusto Delgado Junchaya
Profesor Asesor.