



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES

MAESTRÍA EN PROTECCIÓN VEGETAL

Tesis presentada para optar al título de Magister Scientiae de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata.

**SINERGISMO ENTRE HONGOS MICORRÍDICOS Y
TRICHODERMA HARZIANUM EN EL CONTROL DEL
NEMATODO *NACOBBUS ABERRANS* EN PLANTAS DE TOMATE
(*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.)**

Ing. Agr. Hugo Fabián Betancourt Tituaña.

DIRECTOR:

Dra. Ing. Ftal. Marcela Ruscitti

CO-DIRECTOR:

MSc. Ing. Agr. Cecilia Arango

Dra. Cecilia Mónaco

COMITÉ EVALUADOR

Dr. Andres Nico.

Dra. Marta Cabello.

Dr. Guillermo Cap.

La Plata – Argentina

2020

DEDICATORIA

La presente se la dedico al forjador de mi camino, a mi Dios al que me acompaña y siempre me levanta de mis continuos tropiezos.

A mis apreciados Padres Víctor Hugo y Fanny, por haberme dado su apoyo incondicional, mucho de mis logros se lo debo a ustedes en que se incluye este, Gracias Papá y Mamá por ser ese motor de vida, y por el apoyo incondicional que siempre me brindaron en mis estudios.

A mi querido hijo Jair Nicolás, por el cual me nace la motivación de seguir adelante, eres la razón que me levante y esforzarme en mis estudios de postgrado y en el presente trabajo.

A mis queridos hermanos Pablo, Gabriel, Jackson y Jhon.

A mis sobrinos Pablito y Javier.

AGRADECIMIENTO

Por el presente trabajo de tesis me gustaría agradecerle primeramente a Dios por bendecirme y permitirme llegar hasta donde he llegado.

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a todas las autoridades la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP), por permitirme realizar mi formación de postgrado, al Instituto de Fisiología Vegetal, (CONICET-UNLP) y al Centro de Fitopatología (CIDEFI-UNLP) por abrirme sus puertas y permitirme realizar de manera placentera todo mi proceso investigativo y facilitarme las instalaciones para el desarrollo del mismo.

Agradezco de manera personal a mi directora de tesis Dra. Marcela Rusciti que en conjunto con mis coodirectoras MSc. Cecilia Arango y Dra. Cecilia Mónaco, me permitieron realizar de manera satisfactoria el proceso investigativo, agradezco por confiar en mí y ser mi guía a lo largo de este camino.

A mis queridos Padres y hermanos por sus ánimos y haberme brindado su ayuda incondicional.

A la Directora de Maestría Dra María Rosa y Julieta, que en el área administrativa brindaron todo su apoyo en todas las jornadas cursadas.

Al comité evaluador por sus comentarios y sugerencias en la revisión de esta tesis.

A Juan, Sebastian, Valeria y Laura, amigos quienes de alguna u otra manera me ayudaron en mi trabajo, tanto en actividades de laboratorio como en campo.

A amigos y amigas de Ecuador, que con un mensaje brindaron todo su apoyo y me alentaron para concluir mis estudios.

PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

- Participación en el séptimo congreso REDU, llevado a cabo del 11 al 15 de noviembre de 2019, en el Campus de la Universidad de Investigación de Tecnología Experimental Yachay, en calidad de autor del póster “Sinergismo entre Hongos Micorrícicos y *Trichoderma harzianum* en el control del nematodo *Nacobbus aberrans* en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.)”.

ÍNDICE GENERAL

TITULO	Pág.
PORTADA.	
DEDICATORIA.	iii
AGRADECIMIENTO.	iv
PUBLICACIONES	v
INDICE GENERAL.	vi
INDICE DE FIGURAS.	viii
INDICE DE TABLAS.	x
ABREVIATURAS.	xi
RESUMEN.	xii
SUMMARY.	xiii
CAPÍTULO I. Introducción.	1
Problemática y Justificación.	2
Antecedentes	3
Cultivo de tomate. Generalidades.	4
Características botánicas del tomate.	6
<i>Nacobbus aberrans</i> (Thorne & Allen).	7
Importancia económica.	7
Distribución geográfica.	7
<i>N. aberrans</i> en la Argentina.	8
Clasificación taxonómica.	9
Ciclo de vida.	9
Supervivencia.	11
Diseminación.	11
Síntomas y daños.	12
Métodos de control de <i>Nacobbus aberrans</i> .	13
Micorrizas.	15
Taxonomía de micorrizas.	15
Importancia de las micorrizas.	16
Tipos de micorrizas.	16
Hongos micorrizicos arbusculares (HMA).	17
Ciclo de las micorrizas arbusculares en la planta y en el suelo.	18
Mecanismo de biocontrol por HMA.	20
<i>Trichoderma spp.</i>	23
Efectos positivos de la inoculación de plantas con <i>Trichoderma</i> .	23
Taxonomía del género <i>Trichoderma spp.</i>	24
Mecanismos de acción de <i>Trichoderma spp.</i>	24
Especies del género <i>Trichoderma</i> reconocidas como biocontroladores de nematodos agalladores.	28
Hipótesis.	29
Objetivo general. Objetivos particulares.	29
CAPÍTULO II. Materiales y Métodos.	30
Localización.	31

Preparación del inóculo micorrícico arbuscular.	31
Preparación del inóculo de <i>Trichoderma harzianum</i> .	31
Preparación del inóculo del nematodo.	32
Condiciones de cultivo.	32
Tratamientos.	33
Variables medidas.	33
Evaluación de variables morfológicas y fisiológicas.	34
Evaluación de variables bioquímicas.	37
Evaluación de la presencia de los hongos benéficos inoculados.	38
Evaluación de la multiplicación de <i>Nacobbus aberrans</i> .	40
Diseño experimental.	41
CAPÍTULO III. Resultados.	42
Evaluación de variables morfológicas y fisiológicas.	43
Evaluación de variables bioquímicas.	58
Evaluación de los tratamientos sobre la multiplicación de <i>Nacobbus aberrans</i> .	75
CAPÍTULO IV. Discusión.	76
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES.	88
CAPÍTULO VI. Recomendaciones.	90
Bibliografía.	92
ANEXOS.	114

ÍNDICE DE FIGURAS

TITULO	Pág.
Figura 1. Vista microscópica de J2 de <i>Nacobbus aberrans</i> .	8
Figura 2. Vista microscópica de estadios iniciales.	10
Figura 3. Ciclo de vida <i>N. aberrans</i> .	11
Figura 4. Agallas producidos por <i>N. aberrans</i> en raíz de tomate (<i>S. lycopersicum</i> L.).	12
Figura 5. Raíces de plantas de tomate (<i>S. lycopersicum</i> L) de diferentes tratamientos afectadas por la inoculación de <i>N. aberrans</i> .	13
Figura 6. Vista microscópica de estructuras de HMA.	15
Figura 7. Morfología de micorrizas.	19
Figura 8. Ciclo de las micorrizas arbusculares en la planta y en el suelo.	20
Figura 9. Colonias de <i>T. harzianum</i> en medio de cultivo.	23
Figura 10. Efectos benéficos de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPM) y agentes de control biológico (BCA) sobre las plantas.	28
Figura 11. SPAD -502 minolta.	34
Figura 12. Porómetro Decagon SC-1.	35
Figura 13. Analizador de gases infrarrojos portátil (IRGA).	35
Figura 14. Altura de plantas de tomate en distintos tratamientos. Ausencia del nematodo.	43
Figura 15. Altura de plantas de tomate en distintos tratamientos. Presencia del nematodo.	44
Figura 16. Índice de verdor. Ausencia del nematodo.	45
Figura 17. Índice de verdor. Presencia del nematodo.	46
Figura 18. Conductancia estomática.	47
Figura 19. Fotosíntesis neta.	49
Figura 20. Transpiración.	51
Figura 21. Eficiencia de uso de agua (EUA).	53
Figura 22. Conductividad relativa en hojas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.).	54
Figura 23. Conductividad relativa en raíces de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.).	56
Figura 24. Contenido de clorofila en plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.).	58
Figura 25. Contenido de carotenoides en plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.).	60
Figura 26. Contenido de prolina en hojas.	62
Figura 27. Contenido de prolina en raíces.	63
Figura 28. Contenido de MDA en hojas.	66
Figura 29. Contenido de MDA en raíz.	68
Figura 30. Contenido de proteína en hojas	71
Figura 31. Contenido de proteína en raíces	72
Figura 32. Análisis de suelo para determinar presencia de <i>Trichoderma</i> en suelo	74

ÍNDICE DE TABLAS

TITULO	Pág.
Tabla 1. Taxonomía del tomate.	4
Tabla 2. Clasificación taxonómica de <i>Naccobbus aberrans</i> .	9
Tabla 3. Clasificación de los hongos micorrícicos.	17
Tabla 4. Tratamientos realizados en el ensayo con plantas de tomate	33
Tabla 5. Análisis de varianza para conductividad estomática.	47
Tabla 6. Interacción doble: nematodo / <i>T. harzianum</i> para conductancia estomática.	47
Tabla 7. Interacción doble: nematodo/micorrización para conductividad estomática.	48
Tabla 8. Análisis de varianza para fotosíntesis neta.	49
Tabla 9. Interacción doble significativa: nematodo/micorrización para fotosíntesis.	49
Tabla 10. Interacción doble significativa: <i>T. harzianum</i> /micorrización para fotosíntesis.	50
Tabla 11. Análisis de varianza para transpiración.	51
Tabla 12. Interacción triple: micorrización en distintas combinatorias para transpiración.	51
Tabla 13. Interacción triple: nematodo en distintas combinatorias para transpiración.	52
Tabla 14. Interacción triple: <i>T. harzianum</i> en distintas combinatorias para transpiración.	52
Tabla 15. Análisis de varianza para CR hojas.	54
Tabla 16. Interacción triple: nematodo en distintas combinatorias para CR hojas.	54
Tabla 17. Interacción triple: micorrización en distintas combinatorias para CR hojas.	55
Tabla 18. Interacción triple: <i>T. harzianum</i> en distintas combinatorias para CR hojas.	56
Tabla 19. Análisis de varianza para CR raíz.	57
Tabla 20. Efecto por nematodo para CR raíz.	57
Tabla 21. Efecto por <i>T. harzianum</i> para CR raíz.	57
Tabla 22. Análisis de varianza para clorofila - Suma de Cuadrados Tipo III.	58
Tabla 23. Diferencias significativas en efecto de <i>T. harzianum</i> para clorofila.	59
Tabla 24. Diferencias significativas en efecto de micorrización para clorofila.	59
Tabla 25. Análisis de varianza para carotenoides.	60
Tabla 26. Diferencias significativas en efecto de <i>T. harzianum</i> para carotenoides.	60
Tabla 27. Diferencias significativas en efecto de micorrización para carotenoides.	60
Tabla 28. Interacción doble significativa: nematodo / <i>T. harzianum</i> para carotenoides.	61
Tabla 29. Análisis de varianza para prolina hojas - Suma de Cuadrados Tipo III.	62
Tabla 30. Interacción doble significativa: nematodo / <i>T. harzianum</i> para prolina hojas.	62
Tabla 31. Análisis de varianza para prolina raíz- Suma de Cuadrados Tipo III.	64
Tabla 32. Interacción doble significativa: nematodo / <i>T. harzianum</i> para prolina raíz.	64
Tabla 33. Interacción doble significativa: nematodo/ micorrización para prolina en raíz.	64
Tabla 34. Interacción doble significativa: micorrización/ <i>T. harzianum</i> para prolina raíz.	65
Tabla 35. Análisis de varianza para MDA hojas - Suma de Cuadrados Tipo III.	66
Tabla 36. Interacción triple: nematodo en distintas combinatorias para MDA hojas.	66
Tabla 37. Interacción triple: micorrización en distintas combinatorias para MDA hoja.	67
Tabla 38. Interacción triple: <i>T. harzianum</i> en distintas combinatorias para MDA hojas.	67
Tabla 39. Análisis de varianza para MDA raíz - Suma de Cuadrados Tipo III	68
Tabla 40. Interacción triple: nematodo en distintas combinatorias para MDA raíz.	69

Tabla 41. Interacción triple: micorrización en distintas combinatorias para MDA raíz.	69
Tabla 42. Interacción triple: <i>T. harzianum</i> en distintas combinatorias para MDA raíz.	70
Tabla 43. Análisis de varianza para proteína soluble hojas-Suma de Cuadrados Tipo III.	71
Tabla 44. Interacción doble: <i>T. harzianum</i> /micorrización para proteína hojas.	71
Tabla 45. Análisis de varianza para proteínas solubles raíz-Suma de Cuadrados Tipo III.	72
Tabla 46. Diferencias significativas en efecto de nematodo proteínas raíz.	73
Tabla 47. Diferencias significativas en efecto de micorrización proteínas raíz.	73
Tabla 48. Porcentaje de micorrización por tinción con azul de Tripán y viabilidad por la enzima SDH, en raíces de plantas de tomate (<i>S. lycopersicum</i> L).	75
Tabla 49. Número de huevos por raíz y números de huevos por gramo de raíz de plantas de tomate (<i>S. lycopersicum</i> L).	76
Tabla 50. Factor de reproducción de <i>N. aberrans</i> y clasificación de Oostenbrink.	76

ABREVIATURAS

ANOVA	Análisis de varianza.
CHLP	Cinturón Hortícola de La Plata.
CB	Control Biológico.
Ddt	Días después del trasplante.
HMA	Hogos micorrícicos arbusculares.
L1	Primer estadio larval.
L2	Segundo estadio larval.
L3	Tercer estadio larval.
L4	Cuartoestadio larval.
M	Tratamiento inoculado con <i>Rizophagus intraradices</i> .
M+T	Tratamiento inoculado con <i>Rizophagus intraradices</i> y <i>Trichoderma harzianum</i> .
MA	Micorrizas arbusculares.
NA	Presencia de <i>Naccobus aberrans</i> .
ONA	Ausencia de <i>Naccobus aberrans</i> .
PCR	Reacción en cadena de polimerasa.
PF	Peso fresco.
SDH	Enzima succinato deshidrogenasa
SISVAR	Programa estadístico.
TSM	Medio de cultivo selectivo para <i>Trichoderma</i> .
T	Tratamiento inoculado con <i>Trichoderma harzianum</i> .
UFC	Unidades formadoras de colonia.

RESUMEN

El nematodo *Nacobbus aberrans*, es responsable de producir importantes pérdidas en la producción de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). Se diferencia de otros nematodos del suelo por su polifagia, un elevado potencial reproductivo y una notable capacidad de adaptación. Por otra parte, se alimenta a partir de raíces de numerosas malezas, lo que le permite concretar su ciclo de vida en ausencia de cultivos susceptibles. En la actualidad se estudian métodos de control biológico para combatir los daños causados por este patógeno, mediante el uso de microorganismos rizosféricos, entre los cuales están los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y *Trichoderma harzianum*. Por lo expuesto, el objetivo de esta investigación fue comprobar el efecto de estos microorganismos rizosféricos y su sinergismo en la reducción del daño producido por el nematodo *N. aberrans* en plantas de tomate. Para ello, se evaluaron respuestas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas que se generan como consecuencia de la inoculación, la eficiencia comparativa de estos microorganismos solos o combinados, y la multiplicación *N. aberrans* en las plantas infectadas. Los datos se analizaron por ANOVA y las medias se compararon usando LSD ($p < 0,05$) mediante el programa SISVAR. Como resultado se obtuvo que las plantas infectadas con *N. aberrans* presentaron efectos negativos a nivel fisiológico y bioquímico; los tratamientos inoculados con micorrizas mostraron mejor respuesta respecto a los demás tratamientos. En el tratamiento HMA+*T. harzianum*., cuando *N. aberrans* está presente (NA), la micorrización fue mayor, no disminuyó la colonización radicular de *T. harzianum* y no afectó la cantidad de UFC/gr de suelo, en tanto, cuando hay ausencia de *N. aberrans*, la población de *T. harzianum* (UFC/g suelo) aumentó significativamente en presencia de HMA. El tratamiento que más afectó la multiplicación de *N. aberrans* fue la combinación de HMA y *T. harzianum*. La conjunción de los dos microorganismos tuvieron una acción de efecto aditivo para reducir el número de la población de *N. aberrans* observándose en los resultados que los HMA fueron los que tuvieron un mayor efecto en esta interacción.

SUMMARY.

The nematode *Nacobbus aberrans* is responsible for producing significant losses in tomato production (*Solanum lycopersicum* L.). It differs from other soil nematodes by its polyphagy, high reproductive potential, and remarkable adaptative capacity. On the other hand, it feeds on the roots of numerous weeds, which allows it to complete its life cycle in the absence of susceptible crops. Biological control methods are currently being studied to combat the damage caused by this pathogen, through the use of rhizospheric microorganisms, among which are arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and *Trichoderma harzianum*. Therefore, the objective of this research was to verify the effect of these rhizospheric microorganisms and their synergism in reducing the damage produced by the *N. aberrans* nematode in tomato plants. For this, morphological, physiological and biochemical responses generated as a consequence of inoculation, the comparative efficiency of these microorganisms alone or in combination, and the multiplication of *N. aberrans* in infected plants were evaluated. The data were analyzed by ANOVA and the means were compared using LSD ($p < 0.05$) using the SISVAR program. As a result, it was obtained that the plants infected with *N. aberrans* presented negative effects at the physiological and biochemical levels; the treatments inoculated with mycorrhizae showed a better response compared to the other treatments. In the treatment HMA+*T. harzianum*., when *N. aberrans* is present (NA), the mycorrhization was higher, it did not diminish the root colonization of *T. harzianum* and it did not affect the amount of CFU / gr of soil, whereas when there is absence of *N. aberrans*, the *T. harzianum* population (CFU / g soil) increased significantly in the presence of AMF. The treatment that most affected the multiplication of *N. aberrans* was the combination of HMA and *T. harzianum*. The conjunction of the two microorganisms had an action of additive effect to lower the number of the *N. aberrans* population, observing in the results that the AMF were those that had the greatest effect in this interaction.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Introducción

1.1. Problemática y Justificación

Una de las problemáticas más relevantes de los productores de tomate dentro del Cinturón Hortícola de La Plata es, sin dudas, el ataque de plagas y enfermedades, entre las cuales está la infestación de nematodos fitoparásitos. Los nematodos noduladores de la raíz afectan una gran diversidad de cultivos generando importantes pérdidas económicas (Lax *et al.*, 2011; Radwan *et al.*, 2012). En Argentina, los géneros de nematodos más importantes son *Meloidogyne spp.* y *Nacobbus spp.* Ambos inducen la formación de agallas en la raíz dificultando la absorción de agua y nutrientes lo que se traduce en pérdidas productivas que pueden alcanzar la totalidad del cultivo. Los nematodos suelen ser un factor limitante en la producción de tomate y pimiento y su incidencia se incrementó en los últimos años fundamentalmente en los cultivos bajo cubierta.

Hasta hace unos años atrás, el método de control utilizado extensamente por los productores para el control de nematodos era la aplicación de bromuro de metilo, un gas que se utilizó como desinfectante del suelo pero del que se comprobó que afecta la capa de ozono. De acuerdo a lo establecido en el protocolo de Montreal en 1987, ratificado por Argentina en 1990, se acordó que este producto debía ser retirado del mercado en el año 2015 (Adlercreutz *et al.*, 2007). Esto, sumado a la presión social por el acceso a alimentos más saludables (Gortari y Hours, 2016) y por el cuidado del ambiente han llevado a que Argentina esté en búsqueda de alternativas sustentables para la sustitución del bromuro de metilo, destacando así la importancia de rediseñar programas de manejo integrado.

Entre las prácticas de bajo impacto ambiental utilizadas para el manejo de nematodos endoparásitos se pueden destacar el uso de agentes biológicos como los hongos micorrícicos y otros hongos benéficos (Puertas *et al.*, 2006), la solarización (Alcoser *et al.*, 2006), la incorporación de enmiendas orgánicas biofumigantes (Bongiorno *et al.*, 2009; Figueredo *et al.*, 2011) y la aplicación de aceites esenciales (Gupta *et al.*, 2011).

Teniendo en cuenta lo anteriormente descrito, incorporar diferentes bioinsumos (micorrizas arbusculares y *Trichoderma sp.*) en los programas de control de nematodos

fitoparásitos se convierte en una alternativa sustentable para solucionar los problemas ocasionados por esta plaga en el cultivo de tomate.

1.2. Antecedentes

La horticultura en la Argentina, representa un rubro importante en el desarrollo del país, para el sector productivo, social y económico. El área hortícola cultivada tiene una extensión de 540.000 hectáreas, que equivale al 2% de la superficie agrícola nacional. El 90% de la producción obtenida se comercializa en el mercado interno, principalmente para consumo en fresco. La horticultura genera en Argentina aproximadamente 10 millones de jornales al año y permite el ingreso de 520 millones de dólares anualmente como producto de la exportación (INDEC, 2010). El Cinturón Hortícola de La Plata (CHLP), localizado en la periferia de la ciudad de La Plata, constituye casi la mitad (46,15%) de la superficie productiva del Cinturón Verde Bonaerense y la cuarta parte (25,15%) de la superficie hortícola de la Provincia de Buenos Aires, presentando una alta especialización y una elevada productividad por hectárea (INDEC, 2010).

En los últimos años, se han concentrado esfuerzos en alcanzar una producción sustentable y amigable con el medio ambiente, con el objetivo de obtener productos diferenciados. Los desafíos que enfrenta actualmente la horticultura son alcanzar una mayor productividad e inocuidad de los alimentos, la integración y asociación del sector productivo, la ampliación del período de oferta, el aumento de la mecanización, la mejora de la tecnología post cosecha, la capacitación de recursos humanos, y la mejora de la imagen e identidad del producto obtenido (Argerich, 2011). La horticultura tiene como característica principal el uso intensivo del suelo. Generalmente en este tipo de producciones, los períodos de descanso del suelo son breves o nulos y predomina el monocultivo, lo que provoca el “agotamiento” de los suelos y el incremento de las poblaciones de patógenos. Estas características reducen la rentabilidad, por la disminución del rendimiento y el incremento de los costos debido a que se hace necesaria la aplicación de tratamientos para corregir los parámetros físicos y químicos afectados, como así también para el control de plagas y enfermedades. Finalmente, si las medidas de control no fueron eficientes, el productor se ve obligado a abandonar el cultivo o trasladar su estructura productiva hacia otros suelos (Colombo *et al.*, 2009).

Una de las hortalizas más importantes en el CHLP es el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), que ocupa el segundo lugar de la superficie plantada, después de la lechuga (*Lactuca sativa* L.). El pimiento (*Capsicum annuum* L.), ocupa el tercer lugar (Del Pino, 2016). La producción de tomate se destina al mercado interno. Este cultivo se produce mayoritariamente en invernáculo aplicando un alto grado de tecnología con un alto costo de implantación.

1.3. Cultivo de tomate. Generalidades

Solanum lycopersicum L, pertenece a la familia *Solanaceae* (Tabla 1). Es una planta dicotiledónea (Cestoni *et al.*, 2006) y herbácea perenne, que se cultiva en forma anual para el consumo de sus frutos (Semillaria, 2015).

Tabla 1. Taxonomía del tomate.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>
Especie	<i>lycopersicum</i>

Fuente: Semillaria 2015.

Tiene porte arbustivo, se cultiva como anual, puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta, y su crecimiento es limitado en las variedades determinadas e ilimitado en las variedades indeterminadas (Jaramillo *et al.*, 2007). Los cultivares de tipo determinado producen una inflorescencia junto con cada hoja o cada dos hojas, suelen ser más precoces y de porte bajo, terminando el tallo en un racimo floral. Los de tipo indeterminado presentan inflorescencias más espaciadas. El tallo termina en una

yema vegetativa, lo cual determina que la planta continúe creciendo de manera indefinida (Jaramillo *et al.*, 2007).

Siempre fue una hortaliza muy importante en la dieta humana, a pesar de que antiguamente se creía que era tóxico, debido a su parentesco con otras solanáceas, cuyos frutos son venenosos (belladona, tutía, etc.). El tomate ocupa entre las hortalizas el tercer lugar, a nivel mundial, después de la papa y la batata, en la dieta del hombre. Su popularidad sigue aumentando y tiene una importancia económica relevante (Tonelli y Rothman, 2007).

El continente que mayor superficie destina para la producción de tomate es Asia (siendo China el principal productor), y Europa se destaca por la alta calidad del producto cosechado, por los altos rendimientos obtenidos y por el uso de alta tecnología. El mayor volumen de producción se evidencia en los países más cálidos como Italia y España. En España existe una gran producción de tomate en invernaderos en la Provincia de Almería. En América, se destaca la producción de Estados Unidos, que es un gran consumidor de este producto tanto en fresco como industrializado. Brasil es el principal productor en Sudamérica, y México y otros países de América Central también se destacan porque exportan su producción a Estados Unidos. En Argentina es el segundo cultivo hortícola más importante por el volumen de producción después de la papa, y ocupa un sexto de la superficie hortícola total. Se cultiva desde el NOA (Salta y Jujuy) hasta Chubut y Mar del Plata, lo que posibilita contar con producción nacional de tomate casi todo el año. Si bien es cultivado en todos los cinturones verdes, existen también zonas especializadas. Cuyo es la zona de producción de tomate para industria más importante, y con este destino también se produce en el Alto Valle de Río Negro y en el NOA (Salta y Jujuy). Para consumo en fresco, las zonas más importantes son el NOA (Salta, Jujuy, Santiago del Estero y Tucumán), el NEA (Corrientes), y Buenos Aires (La Plata, Berazategui, Florencio Varela y Mar del Plata), el Alto Valle de Río Negro y también Cuyo (Mendoza y San Juan). En Argentina se cultivan 17.000 ha de tomate (10.500 para mercado fresco y 6.500 para industria). Se producen en el país aproximadamente 1.000.000 de toneladas de las cuales 650.000 son comercializadas para tomate en fresco (Del Pino, 2019).

El momento de la cosecha del tomate para consumo en fresco, es dependiente de muchos factores. Siempre se realiza la cosecha sólo desde el estado verde maduro

(verde, pero con la base rosada) para asegurarse de que ese tomate podrá seguir madurando por su propia emisión de etileno o bien con la aplicación exógena del mismo. El punto de madurez comercial (estado de madurez que pretende recibir el comprador) será dependiente de lo que necesite el comprador (más verde o más maduro) y también dependerá de la variedad, la distancia al mercado, las temperaturas de la época de cosecha en el lugar de producción y del destino, el método de conservación del producto tanto en el establecimiento como en el transporte (refrigerado o no) y en el destino comercial, el tiempo de conservación, pero además las consideraciones comerciales tales como precios, oferta y demanda (Del Pino, 2019).

En Argentina existe un amplio rango de posibles fechas de plantación ya que es un cultivo que se implanta en muchas zonas de país, tanto a campo como en invernadero (Del Pino, 2019).

1.3.1. Características botánicas del tomate.

El tallo, es grueso, pubescente, anguloso y de color verde. Mide entre 2 y 4 cm de diámetro y es más delgado en la parte superior. En el tallo principal se forman tallos secundarios, nuevas hojas y racimos florales, y en la porción distal se ubica el meristemo apical, de donde surgen nuevos primordios florales y foliares (Monardes, 2009). Inicialmente el tallo tiene una apariencia herbácea; está compuesto de epidermis con pelos glandulares, corteza, cilindro vascular y tejido medular (Escobar y Lee, 2009).

La hoja, es pinnada y compuesta. Presenta de siete a nueve folíolos peciolados que miden entre 40 y 60 mm de largo y entre 30-40 mm de ancho, lobulados y con borde dentado, alternos, opuestos y, por lo general, de color verde, glanduloso pubescente por el haz y ceniciento por el envés. Se encuentra recubierta de pelos glandulares y dispuestos en posición alternada sobre el tallo (Monardes, 2009). La posición de las hojas en el tallo puede ser semierecta, horizontal o inclinada (IPGRI 1996).

La flor, es perfecta y regular. Los sépalos, los pétalos y los estambres se insertan en la base del ovario. El cáliz y la corola constan de cinco o más sépalos y de cinco pétalos de color amarillo, que se encuentran dispuestos de forma helicoidal. Poseen cinco o seis estambres que se alternan con los pétalos, formando los órganos reproductivos. El ovario tiene dos o más segmentos (Infoagro Systems, 2015).

El fruto, es una baya bilocular o plurilocular, subesférica globosa o alargada, que puede alcanzar un peso que oscila entre unos pocos miligramos y 600 g. El fruto está constituido por el pericarpio, el tejido placentario y las semillas. En estado inmaduro es verde y, cuando madura, es rojo (EDIFORM, 2006).

El sistema radicular, está constituido por la raíz principal y las raíces secundarias y adventicias; estas últimas son numerosas y potentes y no superan los 30 cm de profundidad (Monardes, 2009; INTA, 2014). El interior de la raíz presenta tres partes: epidermis, córtex y cilindro vascular. La epidermis contiene pelos que absorben el agua y los nutrientes, mientras que el córtex y el cilindro vascular cumplen la función de transportar los nutrientes (Infoagro Systems 2015).

1.4. *Nacobbus aberrans* (Thorne & Allen)

1.4.1. Importancia económica.

Nacobbus aberrans conocido como el “nematodo del rosario” o “nematodo del falso nudo de la raíz”, es un nematodo endoparásito sedentario. Constituye una plaga de importancia económica en Perú, Bolivia, Argentina, Chile, México y Ecuador, en América del Sur y en la India, Rusia, Estados Unidos, Inglaterra y Holanda (Jensen *et al.*, 1979). Ocasiona daños cuando su población se incrementa a niveles altos como consecuencia del monocultivo, el manejo deficiente y la aplicación de controles químicos desacertados. Según (Ramos *et al.*, 1998) indican que las pérdidas de rendimiento causadas por *N. aberrans* en cultivos alimenticios e industriales fluctúan de 33 a 88%.

1.4.2. Distribución geográfica.

Se asumió en un principio que *N. aberrans* se desarrollaba en zonas preferentemente de altura, de clima semidesértico y frío (Costilla, 1985), entre los 500-4500 metros sobre el nivel del mar (Costilla *et al.*, 1978). Sin embargo, también está presente a escasos metros sobre el nivel del mar (La Plata, Buenos Aires). La distribución actual del nematodo en la Argentina puede considerarse muy amplia. Se destaca la diversidad de zonas diferentes (tanto desde el punto de vista fitogeográfico,

climático y edáfico) en las que el patógeno puede instalarse y multiplicarse. Este hecho es para tener especialmente en cuenta puesto que una muy importante superficie del país representa un ámbito adecuado para su desarrollo y multiplicación (Doucet y Lax, 2005).

1.4.3. *Nacobbus aberrans* en la Argentina.

El nematodo fue detectado por primera vez en la República Argentina en 1977, atacando papa cultivada y algunas variedades andinas en Tañi del Valle, provincia de Tucumán (Figura 1). Simultáneamente, fue observado sobre raíces de acelga, remolacha y zapallo, así también como sobre malezas de los géneros *Amaranthus* y *Brassica* (Costilla *et al.*, 1977). Desde su hallazgo, quedó claro que se estaba en presencia de un organismo capaz de ocasionar graves daños a la agricultura; los antecedentes conocidos para otras partes del continente permitían así inferirlo. Tiempo después, fue posible asignar a este patógeno una serie de complejos problemas para numerosos cultivos (Doucet y Lax, 2005). Se encuentra distribuido en diferentes focos o microrregiones, siendo en el CHLP donde causa los problemas productivos más importantes. Sin embargo, no existen en Argentina evaluaciones que permitan estimar los daños en los rendimientos y las consecuentes pérdidas económicas (Chaves y Torres, 2001).



Figura. 1. Vista microscópica de J2 de *Nacobbus aberrans*.

El nematodo *Nacobbus aberrans* se diferencia de otros nematodos del suelo por su polifagia, un elevado potencial reproductivo y una notable capacidad de adaptación a distintas temperaturas y condiciones edáficas. Estos aspectos le aseguran poder invadir con éxito zonas muy variadas e instalarse en ellas. Por otra parte, se alimenta a partir de raíces de numerosas malezas, lo que le permite concretar su ciclo de vida en ausencia de cultivos susceptibles (Doucet y Lax, 2005).

1.4.4. Clasificación taxonómica.

La clasificación taxonómica de *Nacobbus aberrans*, según Sosa-Moss (1988) es la siguiente:

Tabla 2. Clasificación taxonómica de *Nacobbus aberrans*.

Reino:	Animal
Phylum:	Nematoda
Clase:	Secernentea
Orden:	Tylenchida
Sub orden:	Tylenchina
Super familia:	Tylenchoidea
Familia:	Pratylenchidae (Thorne, 1949)
Sub familia:	Nacobbinae (Chitwood, 1950)
Género:	<i>Nacobbus</i>
Especie:	<i>Nacobbus aberrans</i>

1.4.5. Ciclo de vida.

El ciclo de vida de *N. aberrans* dura de 25 a 59 días, variando en función de poblaciones específicas, tipo de hospedante y condiciones ambientales; comprende un estado de huevo, cuatro estados juveniles y un estado adulto, tras producirse cuatro mudas, la primera de ellas en el huevo. En el estado adulto es donde se produce un marcado dimorfismo sexual (Costilla, 1985).

El primer estadio (L1) se desarrolla en el interior del huevo. Luego de una muda, se forma una larva de segundo estadio (L2) que va a emerger al exterior (Figura 2). Esta larva se desplazará en el suelo en busca de un hospedador adecuado. Las larvas se alimentan del citoplasma de células del parénquima cortical perforando las paredes con ayuda de su estilete. A medida que el nematodo filiforme se va alimentando, muda pasando por el tercer (L3) y cuarto estadio larval (L4), dando origen a una hembra joven o a un macho. La hembra joven hasta que se torna sedentaria mantiene su aspecto filiforme. Luego de establecer el síncitio (sitio de alimentación), en el periciclo de la raíz, se torna sedentaria, pierde movilidad y comienza a engrosar su cuerpo hasta tomar una forma de saco o palo de amasar ensanchado (Figura 3). Esto da lugar a una serie de alteraciones histológicas y fisiológicas particulares en esa zona del sistema radical del hospedador, conocidas como agallas (Manzanilla-López *et al.*, 2002). Es posible observar en las raíces agallas de tamaño variable, sobre las que se pueden distinguir masas de huevos (Costilla *et al.*, 1981). La hembra madura deposita sus huevos en una masa gelatinosa llamada “matriz” (Clark, 1967; Castillo y Marbán-Méndez, 1984; Mai *et al.*, 1981).



Figura 2. Vista microscópica de estadios iniciales.

Al inicio de la infección, las agallas se encuentran separadas y en su interior, alojan una sola hembra (Manzanilla-López *et al.*, 2002), pero a medida que la infección aumenta, también lo hace el número de agallas, haciéndose más próximas entre sí y

adoptando el aspecto de cuentas de rosario que en algunos casos llegan a contener a más de una hembra (Figura 4). Debido a esto es que se le conoce también como nematodo del rosario (Costilla *et al.*, 1981).



Figura 3. Ciclo de vida *N. aberrans*.

Fuente: Manzanilla-López *et al.* (2002).

1.4.6. Supervivencia.

Las masas de huevos tienen la capacidad de soportar condiciones adversas, tales como las bajas temperaturas (hasta $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$) y la desecación por períodos prolongados de tiempo (González y Franco, 1997). Ha sido señalado que las L3 y L4 pueden permanecer viables bajo situaciones de extrema humedad, temperatura y ausencia de hospedadores susceptibles durante aproximadamente un año (Cristóbal *et al.*, 2001). En el caso de la papa, esos dos estadios pueden sobrevivir en los tubérculos almacenados por más de 10 meses, bajo las lenticelas, en estado de quiescencia (Costilla, 1985).

1.4.7. Diseminación.

El nematodo es dispersado a través de agentes que implican movimientos del suelo y vegetales contaminados. Entre estos agentes se destacan la maquinaria agrícola, el agua, el viento, tubérculos de papa, semillas y plantines atacados. En conjunto,

aseguran a la especie la posibilidad de colonizar nuevas áreas y parasitar otros hospedadores (Doucet y Lax, 2005).

1.4.8. Síntomas y daños.

Los síntomas que causa la infección son reducción del crecimiento, clorosis del follaje, marchitez súbita (bajo condiciones de poca humedad) y una reducción significativa en el rendimiento, caracterizado por la presencia de frutos pequeños que con frecuencia presentan síntomas de podredumbre apical. Las plantas infectadas con este nematodo presentan también un menor peso del follaje verde y raíces en comparación con plantas libres de nematodos (Zamudio *et al.*, 1987).

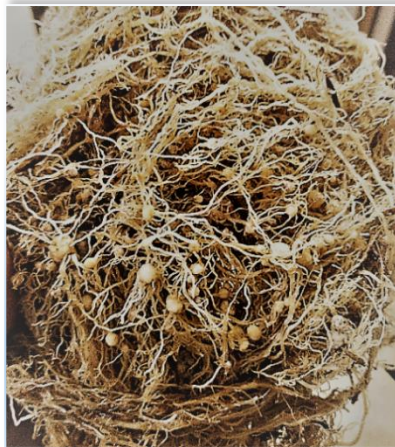


Figura 4. Agallas producidas por *N. aberrans* en raíz de tomate (*S. lycopersicum* L.)

El daño que causan los estados juveniles y las hembras jóvenes de *N. aberrans*, son cavidades largas debido al movimiento inter e intracelular por los tejidos del parénquima de la raíz; causando respuestas de hipertrofia que da lugar a la formación del sincito, sitio de alimentación de la hembra adulta y donde se forma la agalla típica lateral en la raíz (Figura 5). A pesar que el xilema y el floema mantienen su continuidad vascular, su funcionalidad disminuye (Brujin y Stemerding, 1968; Clark, 1967; Quimí, 1981).



Figura 5. Raíces de plantas de tomate (*S. lycopersicum* L) de diferentes tratamientos afectadas por la inoculación de *N. aberrans*.

1.4.9. Métodos de control de *Nacobbus aberrans*.

Los problemas que *N. aberrans* ocasiona a la agricultura, han llevado a la búsqueda de diferentes alternativas de manejo. En todos los casos, se intenta disminuir la densidad de población en los suelos cultivados. La detección temprana de *N. aberrans* en un campo a cultivar, constituye una de las estrategias indispensables para el manejo de esta plaga. Resulta conveniente realizar análisis de muestras de suelo y de las malezas presentes en un lote, previo a la instalación del cultivo. Esto permitirá poner en evidencia la eventual presencia del nematodo y prevenir así los problemas que pueda generar el patógeno con las consecuentes reducciones en los rendimientos (Doucet y Lax, 2005).

El empleo de variedades resistentes o tolerantes, es un método de manejo económico y ambientalmente seguro, que aprovecha la característica de que la resistencia de las plantas a los nematodos es controlada por un gen, en algunos casos, y por más de uno en otros, y el hecho que además en el campo, por lo general, existe una especie dominante a combatir. Sin embargo, no existen fuentes de resistencia en la naturaleza ante todos los géneros de nematodos ni para todas las plantas cultivables (Taylor y Sasser, 1983). No se conocen hasta la fecha genes que otorguen resistencia efectiva en plantas cultivadas frente a *N. aberrans*, son varios los parientes silvestres del

tomate que se han reportado como resistentes a fitonematodos, por ejemplo, la resistencia a *M. incognita*, *M. javanica* y *M. arenaria* es principalmente conferida por los genes Mi, característica que fue transferida al tomate desde su pariente silvestre *S. peruvianum* (Yaghoobi *et al.*, 1995). Se ha demostrado que los genes Mi no son efectivos contra *N. aberrans*, y en estudios exploratorios no se han encontrado fuentes confiables de resistencia contra este nematodo en cultivos de tomate (Veremis *et al.*, 1997; Cabrera *et al.*, 2017)

Otras prácticas de manejo que deben sumarse a la anterior para contribuir a la disminución del nematodo en el suelo, es la destrucción de las malezas (Costilla *et al.*, 1980; Costilla, 1985; Costilla y Ojeda, 1985; Doucet, 1992) y la rotación de cultivos. Costilla *et al.*, (1980) manifiesta la importancia de dar lugar a rotaciones con gramíneas en zonas productoras, ya que por lo general, esas plantas no representan buenos hospedadores para el nematodo debido a que impiden su invasión en las raíces y su consecuente multiplicación. Entre ellas han sido mencionadas: avena, trigo, maíz y cebada (Costilla, 1985). De ese modo, se logra disminuir la densidad de población del patógeno a niveles que no generen daños significativos en la producción.

El control químico de esta plaga se basa en el uso de desinfectantes de suelo (i.e. bromuro de metilo) y nematicidas de síntesis química. Sin embargo, la prohibición del bromuro de metilo para el año 2015 (Valero, 2009), la aparición de resistencia, la presión social por el acceso a alimentos más saludables y por el cuidado del ambiente han llevado a la búsqueda de medidas alternativas de control. Una opción en este sentido es el control biológico (CB) mediante la utilización de microorganismos vivos y/o productos derivados de ellos (Gortari y Hours, 2016).

El CB se basa en la explotación de esta red de interacciones, particularmente de las negativas entre microorganismos y organismos superiores para evitar y/o disminuir el efecto de las plagas en los cultivos (Lamovsek *et al.*, 2013). Entre otros organismos, los hongos nematófagos son importantes debido a la facilidad que ofrecen respecto de su aislamiento, producción masiva y formulación además de su importante rol en el manejo de plagas hortícolas (FUNICA, 2009; Brand *et al.*, 2010).

1.5. Micorrizas

Se conoce con el nombre de micorriza a la asociación simbiótica mutualista establecida entre las raíces de la mayoría de las plantas (tanto cultivadas como silvestres) y ciertos hongos del suelo (Figura 6). Se trata de una simbiosis prácticamente universal, no sólo porque casi todas las especies vegetales son susceptibles de ser micorrizadas, sino también porque pueden estar presente en la mayoría de los hábitats naturales (Linderman, 1992).



Figura 6. Vista microscópica de estructuras de HMA.

El mutualismo supone una relación beneficiosa para los dos organismos implicados, y tanto el hongo como la planta se ven favorecidos por la asociación: el hongo coloniza la raíz de la planta y le proporciona nutrientes minerales y agua, mientras que la planta le suministra al hongo sustratos energéticos y carbohidratos que elabora a través de la fotosíntesis.

1.5.1. Taxonomía de micorrizas.

La clasificación taxonómica de micorrizas es compleja y ha sufrido numerosos cambios a lo largo de las últimas décadas. Actualmente se considera que pertenecen a la división *Glomeromycota* (Schübler *et al.*, 2001), con más de 150 especies descritas.

Tradicionalmente la identificación de micorrizas se ha basado en las características morfológicas de las esporas. Sin lugar a duda estas estructuras contienen una información taxonómica importante (Sieverding y Oehl, 2006), pero ésta puede

llegar a ser limitada y confusa. La aplicación de técnicas moleculares para la identificación de especies de micorrizas ha presentado dificultades debido a que la región ITS de los genes ribosómicos es variable, lo que compromete la especificidad de las técnicas (Jansa *et al.*, 2002; Reddy *et al.*, 2005). No obstante, el desarrollo de cebadores específicos y técnicas moleculares de reacción en cadena de polimerasa (PCR) junto con secuenciaciones de fragmentos del ADN han contribuido a la clasificación e identificación de los hongos micorrízicos (Gómez-Leyva *et al.*, 2008).

1.5.2. Importancia de las micorrizas.

La actividad microbiana del suelo influye sobre las características físicas, químicas y biológicas, las cuales determinan la fertilidad de los agroecosistemas (Guerra Silva, 2008). Los microorganismos benéficos entre los que se destacan los hongos micorrízicos, los microorganismos fijadores de nitrógeno y las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) ejercen un papel fundamental sobre el crecimiento vegetal y la calidad del suelo (Azcón, 2000).

1.5.3. Tipos de micorrizas.

Existen distintos tipos de micorrizas que se han clasificado, siguiendo criterios estructurales, funcionales y taxonómicos. De acuerdo a sus estructuras se clasifican en forma general en: ectomicorrizas y endomicorrizas, en la tabla 3 se resumen los tipos de micorrizas, sus caracteres distintivos, y las clases de hongos y hospederos que pueden encontrarse. En cuanto a las estructuras formadas, al tipo de colonización y a la cantidad de especies vegetales y fúngicas implicadas, se puede decir que las micorrizas arbusculares (MA) son las de mayor importancia y las que se encuentran ampliamente distribuidas (Sieverding, 1991).

Tabla 3. Clasificación de los hongos micorrícicos.

TIPOS	Ectomicorrizas	Endomicorrizas					
		Ectendomicorrizas	Arbutoides	Monotropoides	Ericoides	Orquidioides	Arbusculares
CARACTERES	Manto hifal rodeando la raíz. El hongo no penetra más allá de los espacios intercelulares de la corteza. Nunca entra a la célula.	Puede o no, estar presente el manto hifal rodeando la raíz. Forma ovillos espirales dentro de las células. de o no, estar presente el manto hifal rodeando la ra	Manto hifal presente. Forma ovillos espirales dentro de las células.	Manto hifal presente. Forma haustorio sin ramificación dentro de las células. Micelio casi incoloro.	Manto hifal ausente. Forma ovillos espirales dentro de las células.	Manto hifal ausente. Forma haustorio sin ramificación u ovillos espirales dentro de las células. Micelio casi incoloro.	Sin manto hifal. Forma haustorio de fina ramificación u ovillo espiral dentro de las células. Forma o no vesículas en, o entre las células.
CLASES DE HONGOS	Ascomycetes Basidiomycetes Phycomycetes	Ascomycetes y Basidiomycetes	Basidiomycetes	Basidiomycetes	Ascomycetes (Basidiomycetes)	Basidiomycetes	Glomeromycetes
HOSPEDEROS (Generales)	Árboles y arbustos	Árboles y arbustos	Sólo en Ericales	Sólo en Monotropaceae	Sólo en Ericales	Sólo en Orchidaceae	Árboles, Arbustos, Gramíneas, Herbáceas, Algas, Bryophytas y Pteridophytas.

Fuente: Brundrett, 2008.

1.5.4. Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA).

Las micorrizas arbusculares constituyen una asociación simbiótica entre las raíces de la mayoría de las plantas terrestres y hongos del *Phylum* Glomeromycota (Smith y Read, 1997). La importancia ecológica de las micorrizas arbusculares está avalada por su presencia en más del 95% de las especies vegetales. Entre las plantas que forman este tipo de asociaciones se encuentran la mayoría de las leguminosas herbáceas y muchas leñosas, los cereales, los frutales y la gran mayoría de los cultivos hortícolas (Quilambo, 2003, Ruscitti *et al.*, 2011; Beltrano *et al.*, 2013a; Beltrano *et al.*, 2013b). En esta asociación la planta aporta esqueletos carbonados para la nutrición del hongo, y el hongo contribuye aumentando la absorción de agua y nutrientes del suelo (Gange *et al.*, 1999), jugando un papel clave en el reciclaje de nutrientes en el ecosistema (Smith y Read, 1997). Si bien se han demostrado efectos positivos en la absorción de nutrientes, el elemento más estudiado es el fósforo, para el cual las micorrizas disponen de sistemas específicos (Yao *et al.*, 2003). Esta simbiosis ha sido muy exitosa a lo largo de la evolución para la supervivencia de las plantas terrestres, y a pesar que se conoce desde hace más de un siglo, solo durante las últimas décadas el hombre ha comenzado a utilizarla como bioinsumo en las producciones forestales, hortícolas y frutícolas, donde

existen evidencias de su impacto sobre el desarrollo competitivo y sostenible de los sistemas de producción (Ryan y Graham, 2002).

1.5.5. Ciclo de las micorrizas arbusculares en la planta y en el suelo.

La colonización micorrícica se inicia cuando germina una espora y la hifa germinativa alcanza la superficie de la raíz para formar una estructura llamada apresorio, producto de la ramificación y engrosamiento de la pared celular de la hifa. Durante la colonización, el hongo penetra las células de la corteza radical y forma estructuras llamadas arbusculos (Smith y Read, 1997). Estas estructuras fúngicas, dicotómicamente ramificadas, incrementan la superficie de contacto entre la planta y el hongo y son las encargadas del intercambio bidireccional de nutrientes y carbono entre el hongo y la planta (Figura 7). Aunque localizado físicamente dentro de la célula cortical, el arbusculo permanece separado del citoplasma de la planta por una extensión de membrana plasmática llamada membrana periarbuscular. Esta envoltura del arbusculo también resulta en la formación de un nuevo espacio apoplástico entre la membrana periarbuscular y el arbusculo llamado espacio periarbuscular (Harrison *et al.*, 2002). La localización espacial y temporal de los arbusculos se produce en respuesta a la estructura o morfología de la raíz y a los distintos procesos fisiológicos que allí ocurren (Bonfante-Fasolo, 1984). Recientemente, se encontró en cinco especies diferentes de plantas hospedantes que *R. intraradices* sólo forma arbusculos en las células corticales que están inmediatamente adyacentes a la endodermis, la senescencia de la corteza y la formación de una exodermis con suberina pueden limitar la colonización en raíces maduras. La maduración de la estructura radical y la pérdida de continuidad del tejido joven podrían explicar que los arbusculos solo tengan una existencia de aproximadamente 14 días (Blee y Anderson, 1998). Algunos hongos micorrícicos también producen vesículas, estructuras que tienen como función el almacenamiento de sustancias especialmente lípidos (Figura 7). Se forman en los extremos de las hifas inter o intracelularmente a medida que progresa la colonización (Bécard y Pfeffer, 1993). Algunas vesículas pueden transformarse en esporas para asegurar la propagación del hongo (Nasim, 2010).

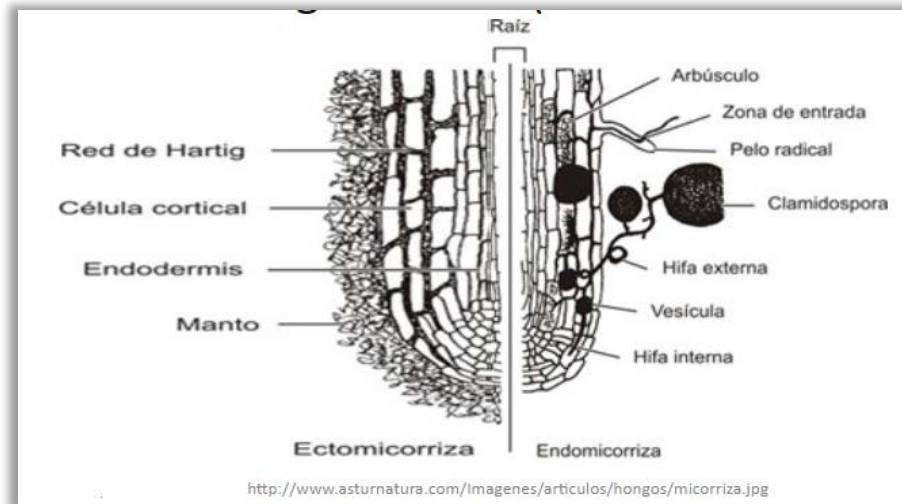


Figura 7. Morfología de las micorrizas.

Fuente: <https://goo.gl/images/TMgCzn>

Los hongos micorrícicos arbusculares también interactúan directamente con el suelo produciendo hifas extraradicales que pueden extenderse varios centímetros en el suelo (Rhodes y Gerdemann, 1975). Las hifas extraradicales pueden tener una superficie total de varios órdenes de magnitud mayor que las raíces, lo cual incrementa la capacidad de absorción de agua y nutrientes, especialmente P y otros nutrientes de baja movilidad en el suelo (Augé, 2001). Las hifas extraradicales juegan un rol importante en la estabilización del suelo a través de la formación de agregados. A través del micelio intraradical el hongo recibe los esqueletos carbonados de la planta hospedadora, aportándole a ésta los nutrientes inorgánicos (Figura 8). Este micelio se desarrolla en un ambiente que es controlado por la homeostasis de la planta. El micelio extraradical que se desarrolla en el suelo, cumple con la función de absorber agua y nutrientes inorgánicos y está expuesto a las variaciones en las condiciones ambientales del suelo tales como pH, disponibilidad de nutrientes, humedad, etc. (Marschner y Dell, 1994).

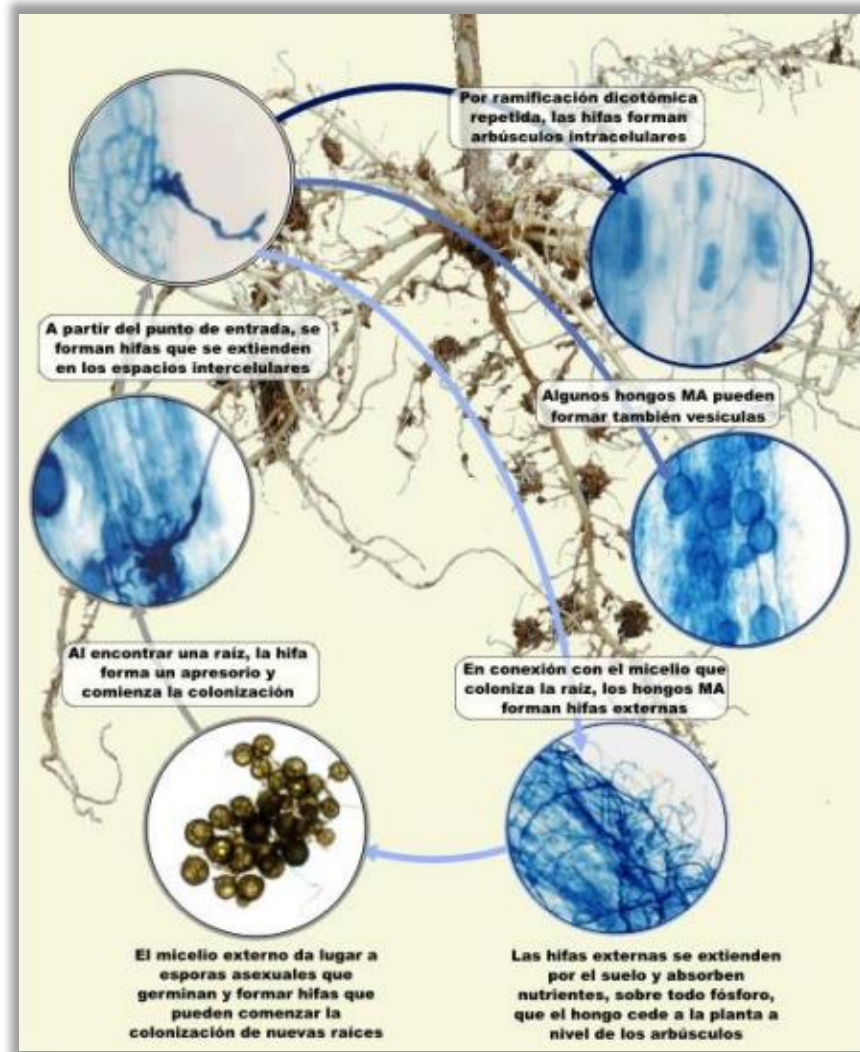


Figura 8. Ciclo de las micorrizas arbusculares en la planta y en el suelo.

Fuente: <https://studylib.es/doc/6661822/micorrizas-arbusculares---estaci%C3%B3n-fitopatol%C3%B3gica-do-areiro>

1.5.6. Mecanismos de biocontrol por HMA.

Los HMA, constituyen una parte esencial de los agroecosistemas ya que forman simbiosis mutualistas con la mayoría de las plantas vasculares terrestres, como ya se mencionó. Estos hongos son simbiosiontes obligados que dependen del aporte de carbono derivado de la planta hospedante para satisfacer sus requerimientos energéticos (Alarcón *et al.*, 2003; Troe y Loynachan, 2003).

Son muchos los efectos beneficiosos de la simbiosis micorrícica, entre ellos es que las plantas colonizadas por HMA presentan un grado significativo de bioprotección frente a patógenos (Elsen *et al.*, 2001). La mayoría de la información publicada acerca de este efecto protector de las asociaciones micorrícicas está limitada a su efecto en organismos patógenos de raíz y la protección frente a este tipo de patógenos es consecuencia de varios mecanismos que probablemente interactúan entre ellos, como el incremento de vigor de la planta, la compensación de daño, la competencia directa con los microorganismos patógenos por el mismo espacio en la raíz, la producción de cambios en el sistema radical y en la micorrizósfera, la activación de mecanismos de defensas de la planta o la protección frente a estreses abióticos, todos estos efectos confieren protección a la planta de una manera indirecta (Nogales, 2006). A continuación, se explican algunos de estos mecanismos.

Mejora del estado nutricional de la planta. Los HMA aportan a la planta nutrientes minerales y agua, debido a la capacidad de exploración de las hifas del hongo, lo que le permite tener acceso a recursos distantes al sistema radical (Bago *et al.*, 2000). Las hifas extrarradicales de los hongos contribuyen en la absorción de hasta 80% del fósforo, 10% del potasio, 25% del zinc, 60% del cobre y 25% del nitrógeno de la planta (Allen *et al.*, 2003). También influyen directa o indirectamente en la absorción de otros iones minerales (Ca, Mg, Fe, Mn) y promueven un mayor crecimiento de las plantas especialmente en aquellos suelos donde estos nutrientes son escasos (Sarabia Ochoa *et al.*, 2010).

Compensación de daños causados por patógenos. Las micorrizas pueden conferir tolerancia a patógenos a través de diferentes mecanismos de acción (Linderman, 1992), entre los que se encuentran el micoparasitismo, la lisis enzimática, la antibiosis, la competencia por espacio o por nutrientes y la inducción de resistencia en la planta.

La simbiosis micorrícica aumenta la tolerancia al ataque del patógeno mediante la conservación de la funcionalidad de la raíz durante la infección. Los hongos micorrícicos podrían compensar la pérdida de biomasa de las raíces y la alteración de otras funciones durante las infecciones por patógenos de la raíz (Linderman, 1992, Cordier *et al.*, 1996), mediante el crecimiento de las hifas del hongo en el suelo, que

incrementa la superficie de absorción de las raíces, o mediante el mantenimiento de la actividad celular a través de la formación de los arbúsculos.

También se sugiere que los HMA afectan a los patógenos, entre ellos los nematodos, por la producción de exudados radicales como la glicolina, una fitoalexina con potencial efecto nematocida y que las plantas podrían mejorar su respuesta debido a la inducción de resistencia sistémica, o tolerancia gracias a la mejora de la nutrición o a cambios morfológicos, histopatológicos y bioquímicos de las raíces (Singh *et al.*, 1990). En cultivos de importancia ha sido ampliamente documentada la reducción en la reproducción del nematodo *N. aberrans* (Jaizme-Vega *et al.*, 1997), en el número de juveniles de la segunda etapa (J2) en el suelo (Shreenivasa *et al.* 2007; Gómez Leiva *et al.* 2008) y en el número de huevos (Da Silva Sousa *et al.*, 2010). Una reducción en el número de agallas se detectó en plantas de tomate inoculadas con *Glomus* spp. (Gardezi *et al.*, 1999).

Competencia por los fotoasimilados y por los lugares de infección. La competencia entre patógenos y los HMA por los fotosintatos del hospedador llega también a tejidos radicales. Cuando el HMA tiene acceso primario a los fotosintatos, la demanda de carbono puede hacer que se inhiba el crecimiento del patógeno. Pero aún no hay suficiente evidencia para confirmar que esta competencia sea uno de los mecanismos de biocontrol.

Por otra parte, se ha observado una competencia por el mismo espacio de la raíz en el caso de las micorrizas arbusculares y los patógenos de raíz (Linderman, 1992). Se ha demostrado que tanto los hongos patógenos de la raíz (Dehne, 1982) como los nematodos fitoparásitos (Calvet *et al.*, 1995) colonizan los tejidos radicales igual que los HMA, pero se desarrollan en distintas células corticales (Jalali y Jalali, 1991).

Producción de cambios anatómicos o morfológicos en el sistema radical. Los HMA producen cambios en la estructura del sistema radical, generalmente mediante un aumento de ramificaciones de éste (Berta *et al.*, 1993), aunque también se ha descrito el efecto contrario (Forbes *et al.*, 1996). Los cambios en la morfología radical podrían cambiar la dinámica de la infección de algunos patógenos del suelo, así como el avance de la enfermedad (Azcón-Aguilar *et al.*, 2002).

1.6. *Trichoderma spp.*

Trichoderma es un género de hongos que se encuentran en los suelos de todas las zonas climáticas del mundo y son importantes descomponedores de materiales leñosos y herbáceos. Es un hongo invasor oportunista, que se caracteriza por su rápido crecimiento, la capacidad de asimilar una amplia gama de sustratos y la producción de una variedad de compuestos antimicrobianos (figura 9). Algunas cepas han sido utilizadas como agentes de control biológico (BCA) de patógenos, incluyendo hongos y nematodos, todo mediado por la producción de enzimas de degradación de la pared celular, como celulasas, quitinasas, glucanasas, entre otras y la producción de antibióticos. También, han sido usadas en biorremediación, por su capacidad de degradar hidrocarburos, compuestos clorofenólicos, polisacáridos y plaguicidas xenobióticos utilizados en la agricultura (Verma *et al.*, 2007; Vinale *et al.*, 2008; Hoyos *et al.*, 2009).

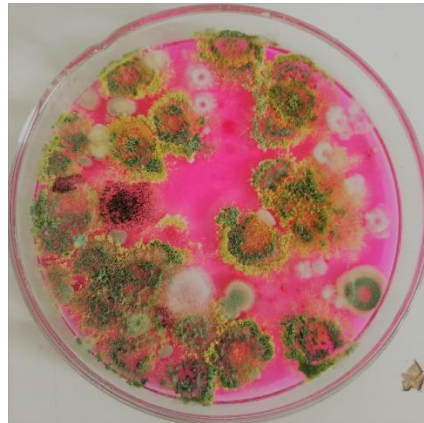


Figura 9. Colonias de *T. harzianum* en medio de cultivo.

1.6.1. Efectos positivos de la inoculación de plantas con *Trichoderma*.

Según (Harman *et al.*, 2004; Harman, 2006), se incluyen:

- Control biológico de enfermedades causadas por patógenos de la raíz y algunos foliares.
- Inducción de resistencia sistémica en las plantas.
- Cambios en la composición de la microflora de la rizosfera.
- Mejora en la absorción de nutrientes, incluyendo, pero no limitado al nitrógeno.

- Mejora de la solubilidad de algunos nutrientes del suelo.
- Aumento de la formación de pelos radiculares.
- Mayor capacidad de enraizamiento.

1.6.2. Taxonomía del género *Trichoderma*.

Los estudios taxonómicos de este género se inician con Persoon en 1794, quien describió el género *Trichoderma* por primera vez, y aún se continúa trabajando en esta descripción. El género *Trichoderma* se ubica en la clase *Hyphomycetes*, orden *Moniliales*, familia: *Moniliaceae*, su fase sexual (estado Teleomorfo) se encuentra ubicado en la clase *Ascomycetes*, serie *Pyrenomycetes*, orden *Hypocreales*, género *Hypocrea* (Druzhinina y Kubicek, 2005; Samuels *et al.*, 2006). Las especies del género *Trichoderma* son un grupo de derivados clonales del género *Hypocrea* que han perdido la capacidad de completar un ciclo sexual.

Según Samuels *et al.* (2006), “*Trichoderma* spp se clasifica como un hongo anamórfico. El estado teleomorfo se ha detectado en pocas especies”. En este sentido se han identificado: *Hypocrea lixii* Chaverri como el estado teleomorfo de *Trichoderma harzianum* Rifai, *Hypocrea atroviridis* Dodd como el teleomorfo de *Trichoderma atroviride* P. karst e *Hypocrea virens* Kullnig Gradinger como el teleomorfo de *Trichoderma virens* (Miller, Giddens y Foster) (Hjeljord y Tronsmo, 1998; Chaverri *et al.*, 2003; Dodd *et al.*, 2003). Las especies antes mencionadas se utilizan ampliamente como agentes de control biológico (Monte, 2001).

1.6.3. Mecanismos de acción de *Trichoderma*.

El género *Trichoderma* posee diferentes modos de acción, entre estos se encuentran: antibiosis, competencia (por espacio y nutrientes), micoparasitismo, desactivación de enzimas de los patógenos y otros. Así mismo se informan nuevos mecanismos con los que *Trichoderma* ejerce su acción como antagonista y colonizador de las raíces, estos son: aceleración del desarrollo del sistema radicular que posibilita la tolerancia al estrés por parte de la planta, solubilización y absorción de nutrientes inorgánicos, estimulación del crecimiento vegetal e inducción de resistencia (Hartman, 2001).

a) Antibiosis.

Los metabolitos con actividad antifúngica secretados por *Trichoderma* spp., constituyen un grupo de compuestos volátiles y no volátiles, muy diversos en cuanto a estructura y función. Muchas cepas de *Trichoderma* spp, producen estos metabolitos secundarios, algunos de los cuales inhiben otros microorganismos, con los que no se establece contacto físico y estas sustancias inhibitorias fueron considerados antibióticos (Hjeljord y Tronsmo, 1998). “Se identificaron compuestos del tipo de las alquil-pironas (6-apentil-pirona), isonitrilos (isonitrina), poliquétidos (harzianolida), peptabioles (trichodermina, atroviridina, alameticina, suzucacilina y trichozianina), dicetopiperacinas (gliovirina y gliotoxina), sesquiterpenos (ácido heptelídico) y esteroides (viridina)” (Howell, 2003). Recientemente, Vinale *et al.* (2006), caracterizaron un grupo de metabolitos secundarios (azapilona, butenolide, 6-pentil-á-pirona, 1-hidroxi-3-metil-antraquinona, 1,8-dihidroxi-3- metil-antraquinona, koninginina, ácido heptelídico, trichoviridina, ácido harziánico, gliotoxina, gliovirina, viridina, viridiol) obtenidos de interacción entre *Rhizoctonia solani* y dos cepas comerciales (T22 y T39) de *T. harzianum*. Con relación al efecto de *Trichoderma* sobre nematodos se notificó que las quitinasas y proteasas de *Trichoderma* spp. son muy similares a las de los hongos nematófagos que poseen potencial para atacar estos invertebrados (Morton *et al.*, 2004). El proceso parasítico y el efecto de las enzimas y metabolitos de *Trichoderma* sp. sobre nematodos pueden ocurrir en el suelo, en el interior de las raíces o sobre la superficie de éstas (Morton *et al.*, 2004).

b) Competencia.

La competencia constituye un mecanismo de antagonismo muy importante. Se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), siempre y cuando la utilización de éste por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás. Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente de control biológico, como la plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, y por otro lado por factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros (Samuels, 1996; Hjeljord y Tronsmo, 1998; Pérez, 2004). La competencia por nutrientes como

nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina, y pectinas, entre otros) (Durman *et al.*, 2003).

c) Micoparasitismo.

Este es un proceso complejo en la interacción antagonista-patógeno, que ocurre en cuatro etapas (Harman, 2001; Howell, 2003; Woo *et al.*, 2006), **i) Crecimiento químico trófico**, donde *Trichoderma* sp. puede detectar a distancia a sus posibles hospedantes, **ii) reconocimiento**, debido una alta especificidad del antagonista por su sustrato (Hoyos *et al.*, 2009), **iii) adhesión y enrollamiento**, ocurre por la asociación de un azúcar de la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno (Chet *et al.*, 1998), y **iv) actividad lítica**, por la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del patógeno y posibilitan la penetración de las hifas de *Trichoderma* spp (Küçük y Kivanç, 2004). El micoparasitismo concluye con la pérdida del contenido citoplasmático de las células hospedantes, mostrando síntomas de disgregación (Nico *et al.*, 2005). Diferentes interacciones entre hifas están involucradas en el micoparasitismo, tales como: enrollamiento, penetración, vacuolización, granulación, coagulación, desintegración y lisis. En el parasitismo a nivel microscópico no todas estas interacciones son siempre observadas, pues al parecer dependen del aislamiento, de la especie de *Trichoderma* spp, del patógeno y de las condiciones del ambiente. (Nico *et al.*, 2005).

d) Desactivación de las enzimas de patógenos y estimulación del crecimiento vegetal.

La desactivación de los factores de patogenicidad de *Trichoderma* contra hongos, constituye un mecanismo de antagonismo indirecto. Se sabe que *T. harzianum* (T39), secreta una proteasa que degrada las enzimas que utiliza *Botrytis. cinerea* para atacar la pared celular de las plantas (Harman, 2001), mientras que *T. viride* es capaz de producir α -glucosidasa para degradar una fitotoxina de *Rhizoctonia. solani* (Howell, 2003). Se piensa que el potencial enzimático de *Trichoderma* para detener el proceso infeccioso de los patógenos es mucho mayor, pues este controlador biológico secreta

más de 70 metabolitos, entre ellos sustancias estimuladoras del crecimiento y desarrollo de las plantas (Howell, 2003). Entre las enzimas, se considera fundamental la β 1,3 glucanasa, estrechamente relacionada con la degradación de la pared celular de patógenos (Sanz *et al.*, 2005). Se evidenció una correlación positiva entre la secreción de β 1,3 glucanasa y N-acetilhexosaminidasa con la capacidad controladora de ciertos aislamientos de *Trichoderma* (Larralde-Corona *et al.*, 2008).

e) Inducción de resistencia.

Estudios recientes a nivel celular y molecular explican la diversidad de vías y mecanismos de acción de este hongo. Harman *et al.* (2004), descubrieron que algunas cepas de *Trichoderma* pueden activar un mecanismo de defensa en las plantas, conocido como inducción de resistencia sistémica (IRS, por sus siglas en inglés). Esto supone que puedan controlar a patógenos distantes del lugar donde se encuentra físicamente el antagonista. Prueba de ello, fue que la colonización de las raíces de pepino con *T. asperellum*, indujo resistencia a *Pseudomonas* en el follaje (Shoresh *et al.*, 2010). Se registraron también evidencias de este modo de acción frente a nematodos (Shoresh *et al.*, 2010).

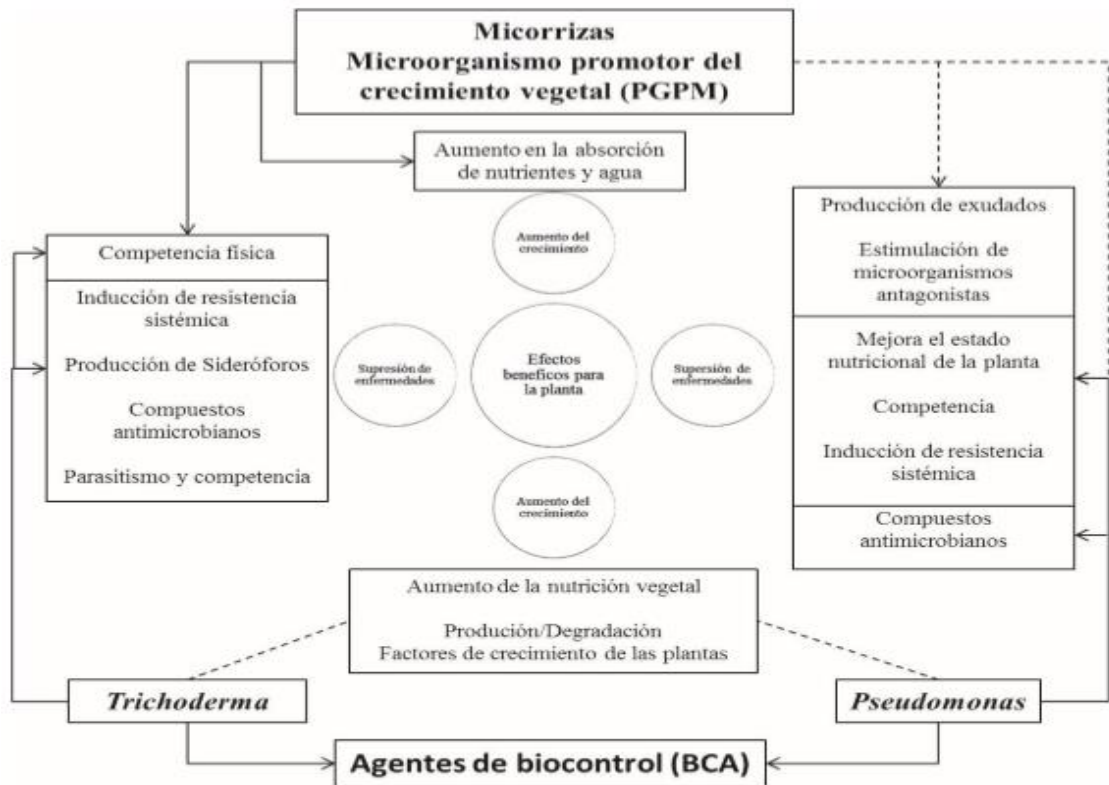


Figura 10. Efectos benéficos de los microorganismos promotores del crecimiento vegetal (PGPM) y agentes de control biológico (BCA) sobre las plantas (Cano, 2011: adaptado de Avis *et al.*, 2008).

1.6.4. Especies del género *Trichoderma* reconocidas como biocontroladores de nematodos agalladores.

Según Sharon *et al.* (2007) algunas especies como *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. viride* y *T. atroviride*, parasitan a diferentes estadios de nematodos agalladores. Estudios taxonómicos de aislados de *Trichoderma* spp., obtenidos en zonas productoras de tomate de la provincia de Loja (Ecuador), refieren la acción nematófaga en dos especies, *T. longibrachiatum* y *T. koningii*, sobre las cuales tal efecto no había sido comprobado previamente (Solano, 2017). Las especies nematófagas de *Trichoderma* tienen la capacidad de envolver al nematodo con su micelio, producen quitinasas que degradan la cutícula del nematodo y metabolitos que actúan como nematicidas; por ejemplo, *T. harzianum* parasita juveniles por acción de los metabolitos tóxicos que produce y parasita huevos por acción de las quitinasas (Yang *et al.*, 2012). Además, se

ha demostrado que las especies de este género son capaces de colonizar las raíces del tomate en forma endófito (Sikora *et al.*, 2008).

Teniendo en cuenta lo anteriormente descrito se plantean las siguientes hipótesis y objetivos:

1.7. Hipótesis

1. La inoculación con hongos benéficos mejora el crecimiento de las plantas de tomate afectadas por el nematodo fitoparásito *Nacobbus aberrans*.
2. El uso de bioinoculantes formulados a partir de esos hongos benéficos en el cultivo de tomate disminuye la población del nematodo fitoparásito *Nacobbus aberrans* en la raíz y en el suelo.
3. Existe un efecto sinérgico entre los diferentes microorganismos benéficos sobre la reducción del daño causado por *Nacobbus aberrans* en las plantas de tomate.

1.8. Objetivo general

Comprobar el efecto de las micorrizas arbusculares, *T. harzianum* y su sinergismo en la reducción del daño producido por el nematodo *Nacobbus aberrans* en plantas de tomate.

Objetivos particulares.

- Evaluar las respuestas, fisiológicas y bioquímicas que produce la inoculación con microorganismos benéficos, solos o combinados, en plantas de tomate.
- Evaluar mediante pruebas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas la eficiencia comparativa de los diferentes bioinoculantes, en plantas de tomate infectadas por *Nacobbus aberrans*.
- Cuantificar la multiplicación de *Nacobbus aberrans* en plantas de tomate sometidas a los distintos métodos de biocontrol.

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales y Métodos

2.1. Localización

El trabajo experimental se realizó en las instalaciones del Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP). Las plantas crecieron en condiciones de invernáculo entre los meses de agosto y diciembre 2018.

2.2. Preparación del inóculo micorrízico arbuscular

Se utilizó inoculante micorrízico producido a partir de cepas de *Rhizophagus intraradices* provenientes del banco de Glomeromycota *in vitro*, (UBA), con probada capacidad para mitigar los efectos del estrés. La multiplicación de las mismas se realizó utilizando como planta trampa trébol blanco (*Trifolium repens*) y lotus (*Lotus tenuis*), que se cultivaron en un sustrato compuesto por perlita-vermiculita-arena (1:1:1 v/v), previamente tinalizado (100°C una hora por día, durante tres días consecutivos). Las plantas se mantuvieron en cámaras de crecimiento (25 +/- 2 °C, fotoperiodo de 16 horas y 350 $\mu\text{moles. m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ de irradiancia). Al cabo de tres meses de la inoculación, se dejaron secar las plantas para luego eliminar la parte aérea. Las raíces se cortaron en fragmentos pequeños mezclándolas en forma homogénea con el sustrato. El inóculo quedó constituido por una mezcla de sustrato, hifas, esporas y fragmentos de raíces de trébol blanco y lotus micorrizadas en un 90%, con una densidad de 60 esporas g^{-1} de sustrato seco.

2.3. Preparación del inóculo de *Trichoderma harzianum*

La preparación del inóculo de *T. harzianum*, se llevó a cabo siguiendo el método de Stocco *et al.* (2010). Se utilizó la cepa T4, perteneciente al cepario del CIDEFI. Se cultivó en el medio de cultivo APG (agar papa glucosado) al 2% y se incubó en una cámara de cría con 12 horas de fotoperiodo (3500 lux con un pico en luz UV, 365 nm) a 20 +/- 2° C durante 7 días. La suspensión de conidios del aislamiento se obtuvo, inundando la superficie del cultivo con agua destilada estéril, separando los mismos con una barra estéril de vidrio. Luego se filtró a través de 2 telas de malla tramadas. La concentración de propágulos se ajustó a 1×10^6 conidios. ml^{-1} , y se adicionaron a la suspensión, 50ul. L^{-1} de una solución al 0,05% (v/v) de polisorbato 20 (Tween20®, Sigma Aldrich Co. St. Louis, MO, EEUU).

2.4. Preparación del inóculo del nematodo

Para la preparación de inóculo del nematodo, se partió previamente del aislamiento de masas de huevos de hembras de *N. aberrans* aisladas de raíces de plantas de tomate provenientes de invertáculos de CHLP, esto con el fin de generar una población pura (monoexénica) del nematodo que no presente individuos de otra especie u otros patógenos que puedan incidir en el efecto de los tratamientos. Las raíces se conservaron en heladera hasta el día siguiente donde se realizó la extracción de huevos, los mismos que se usaron para inoculación de las plantas de tomate cultivadas en suelo estéril y mantenidas en invernáculo bajo irradiación natural, con temperatura constante a 24 ± 2 °C, durante 50 días.

Para la extracción de los huevos de las raíces infectadas, se aplicó la técnica centrifugación-flotación de Coolen (1979), la cual consistió en procezar las raíces con una mezcla de agua e hipoclorito de sodio al 5% en una licuadora por 30 segundos. La suspensión obtenida fue tamizada posteriormente, a través de una malla de 37 μm . El sedimento fue recogido con poca cantidad de agua y transferido a un tubo Falcon de 50 ml con caolín en cantidad suficiente. Esta mezcla se centrifugó durante 5 minutos a 1000 g, se retiró el sobrenadante y el pellet se resuspendió en una solución de sacarosa en agua con $\delta \approx 1,16 \text{ g.cm}^{-3}$, y se volvió a centrifugar durante 2 minutos a 1000 g. Se retiró el sobrenadante donde se encontraban los huevos, se enjuagó con agua y se conservó en heladera hasta la inoculación de las plantas.

2.5. Condiciones de Cultivo

Semillas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de la variedad platense, se desinfectaron superficialmente con NaClO (10%) durante 5 minutos, se enjuagaron con agua estéril y se sembraron en speedlings de 43 cm^3 de capacidad por celda, con una mezcla tinalizada de perlita: vermiculita: arena (1:1:1 v/v). A la mitad de las celdas se les incorporó inóculo micorrícico (20% del volumen de la celda) de *Rhizophagus intraradices* y al resto, inóculo inactivado en autoclave, para generar las mismas condiciones experimentales. Las plantas se regaron periódicamente con solución nutritiva de Hoagland (Hoagland y Arnold, 1950).

Cuando las plantas presentaron dos hojas expandidas, 40 días después de la siembra (dds), se realizó el trasplante a macetas de 7 Kg conteniendo una mezcla de tierra negra

y vermiculita (1:1 v/v), más agregado de cama de pollo (10% v/v) previamente tinalizada. Las plantas se regaron diariamente manteniéndolas a capacidad de campo.

La inoculación con *T. harzianum*, se realizó 24 horas antes del momento del trasplante en los tratamientos correspondientes, utilizando 30 ml de una suspensión concentrada de $3,9 \times 10^6$ conidios ml^{-1} .

La inoculación del nematodo se realizó tres días después del trasplante (ddt) con 7500 huevos de *N. aberrans* por maceta. Previo a la inoculación, para determinar la cantidad de huevos/planta, se realizó el conteo usando una cámara de conteo modelo Sedgewick Rafter. Para ello se tomaron tres muestras del resultado del aislamiento, cada una de 0,2 ml.

2.6. Tratamientos

Para el estudio del sinergismo entre HMA y *T. harzianum* se establecieron los siguientes tratamientos en el bioensayo:

Tabla 4. Tratamientos realizados en el ensayo, con plantas de tomate.

Tratamiento	<i>N. aberrans</i>	<i>T. harzianum</i> (T)	<i>R. intraradices</i> (M)
T1	-*	-	-
T2	-	-	+
T3	-	+	-
T4	-	+	+
T5	+	-	-
T6	+	-	+
T7	+	+	-
T8	+	+	+

* El signo “-” indica ausencia del microorganismo mencionado en el encabezado de las columnas en el tratamiento mencionado en el encabezado de las filas, mientras que el signo “+” indica su presencia.

2.7. Variables medidas

Para la determinación de los parámetros referidos en los objetivos específicos, se emplearon las siguientes metodologías que se describen a continuación:

2.8. Evaluación de variables morfológicas y fisiológicas

2.8.1. Altura.

Se midieron las plantas desde la base hasta el ápice usando una cinta métrica. Se realizaron 5 tomas de datos a partir de los 20 ddt, con intervalos de 15 días hasta cuando las plantas cumplieron los 120 ddt.

2.8.2. Índice de verdor.

Para determinar esta variable se usó un medidor SPAD-502 Minolta (Figura 11). Las mediciones se realizaron en la última hoja completamente expandida, ya que ha sido descrito como el mejor lugar para realizar las medidas del contenido de clorofila (Hoel y Solhaug, 1998), realizándose tres mediciones por hoja, sobre la cara adaxial y 5 mediciones a lo largo del ensayo, a partir de los 20 ddt y a intervalos de 15 días. El procedimiento consiste en estimar el contenido relativo de clorofila total (a + b) presente en la hoja (unidades SPAD relativas de Minolta) (Figura 11), mediante la medición de la absorción de la hoja en dos regiones de longitud de onda, roja y cercana a infrarroja. Utilizando estas dos transmisiones el medidor calcula el valor numérico SPAD, que es proporcional a la cantidad de clorofila presente en la hoja. Los datos utilizados para este estudio corresponden a la media de cada grupo de tres medidas, obtenida mediante la función “average” del equipo.



Figura 11. SPAD -502 Minolta.

2.8.3. Conductancia estomática.

Se determinó mediante el empleo de un Porómetro Decagon SC-1 (Figura 12). Se tuvo en cuenta que los estomas son sensibles a la luz, humedad relativa, dióxido de carbono, estrés hídrico, estrés por patógenos y contaminantes, características que se tuvieron en cuenta al momento de la medición. Las mediciones se realizaron sobre hojas limpias, secas, intactas, verdes, sin signos de daños o enfermedades, sobre la superficie inferior o abaxial de la última hoja totalmente expandida.



Figura 12. Porómetro Decagon SC-1.

2.8.4. Fotosíntesis neta, transpiración.

Estas variables se determinaron utilizando un analizador de gases infrarrojos portátil IRGA (modelo CIRAS-2[®], PP Systems, Amesbury, MA, EEUU) (Figura 13). Las mediciones se realizaron a 25 °C con una concentración de CO₂ externo de 360 ppm y 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de irradiancia.



Figura 13. Analizador de gases infrarrojos portátil (IRGA).

A partir de las variables descriptas se calculó la **eficiencia en el uso de agua** (WUE) es una medida de la efectividad de los estomas en maximizar la fotosíntesis reduciendo la pérdida de agua por transpiración, para ello se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{WUE} = A / T$$

Donde:

A = Fotosíntesis neta ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

T = Transpiración ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

Datos obtenidos a partir de las mediciones realizadas con el IRGA.

2.8.5. Conductividad relativa de membranas celulares.

Se determinó a partir de 4 discos de hoja y 200 mg de raíz, según el método de Lutts *et al.* (1996), con el objeto de determinar la estabilidad o el daño producido a las membranas celulares como respuesta a los distintos tratamientos. Inmediatamente después del muestreo, los tejidos se lavaron tres veces con agua destilada durante 15 segundos, para eliminar los electrolitos adheridos a la superficie y aquellos liberados por las heridas producidas por el corte. Posteriormente, cada muestra se sumergió en un tubo con 10 ml de agua destilada donde permanecieron durante cuatro horas a temperatura ambiente. Seguido a esto, se determinó la conductividad eléctrica (dS m^{-1}) empleando un conductímetro Jenco modelo 3173. Luego, los tubos se taparon y se autoclavaron a $120\text{ }^\circ\text{C}$ durante 20 minutos, con el objetivo de afectar totalmente la integridad de las membranas celulares. Finalmente, los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se volvió a medir la conductividad eléctrica del medio. En base a los datos obtenidos, se estimó la conductividad relativa de las membranas celulares, que indica la liberación de electrolitos a través de las mismas, a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{CR (\%)} = (L1 / L2) \times 100$$

Donde, L1 y L2 son las lecturas de conductividad eléctrica antes y después del autoclavado respectivamente.

2.9. Evaluación de variables bioquímicas

2.9.1. Clorofila y carotenoides.

El contenido de clorofila y carotenoides se determinó a partir de un disco de hoja de 1 cm de diámetro (Wellburn, 1994). Se utilizó N, N-Dimetilformamida como solvente de extracción, determinando la absorbancia de la solución a las longitudes de onda 647, 664 y 480 nm, en un espectrofotómetro Shimadzu UV 160 A. El cálculo del contenido de pigmentos se realizó de acuerdo a Wellburn (1994) con las siguientes ecuaciones:

- Clorofila a ($\mu\text{g cm}^{-2}$) = $12 \times \text{Ab}663.8 - 3.11 \times \text{Ab}646.8$
- Clorofila b ($\mu\text{g cm}^{-2}$) = $20.78 \times \text{Ab}646.8 - 4.88 \times \text{Ab}663.8$
- C total a+b ($\mu\text{g cm}^{-2}$) = $17.67 \times \text{Ab}646.8 + 7.12 \times \text{Ab}663.8$
- Carotenoides ($\mu\text{g cm}^{-2}$) = $(1000 \times \text{Ab}480 - 1.12 \text{Ca} - 34.07 \text{Cb}) / 245$

2.9.2. Determinación de prolina.

Se determinó el aminoácido prolina según el método de Bates *et al.* (1973) Se homogenizaron 100 mg de material fresco de hoja y de raíz con 2 ml de una solución al 3% de ácido sulfosalicílico. El homogeneizado se centrifugó a 12000 g por 15 minutos. Se tomó 1 ml del sobrenadante y se lo hizo reaccionar con 1 ml del reactivo ninhidrina ácida y 1 ml de ácido acético glacial en un tubo de 15 ml, en baño maría a 100 °C durante una hora. Al cabo de ese lapso, la reacción se interrumpió enfriando los tubos rápidamente. A la mezcla reaccionante anterior se le agregaron 2 ml de tolueno y se la agitó durante 15 a 20 segundos en vórtex. Se dejaron separar las fases y se tomó la fase acuosa conteniendo el cromóforo tolueno-prolina para realizar la lectura de la absorbancia a 520 nm usando tolueno como blanco. Se calculó el contenido de prolina por unidad de peso fresco según la siguiente fórmula:

$$\mu\text{mol prolina.g}^{-1} \text{ PF} = [(\mu\text{g prolina/ml} \times \text{ml tolueno}) / 115,5 \mu\text{g}/\mu\text{moles}] / [(g \text{ PF}) / 5].$$

2.9.3. Determinación de malondialdehído (MDA).

La cantidad de MDA en tejidos frescos, se determinó por la reacción con el ácido thiobarbitúrico (TBA) descripta por Heath y Packer (1968). Se homogeneizaron 200 mg de tejido fresco con 5 ml de TBA al 0,5% en 20% de ácido tricloroacético

(TCA). La mezcla se calentó a 95 °C durante 30 minutos y luego se enfrió rápidamente en un baño frío. Se centrifugó a 10000 g por 10 minutos, el sobrenadante se separó y se leyó la absorbancia a 532 y 600 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV 160 UV/V. La concentración de MDA se calculó usando un coeficiente de extinción molar de 155 mM⁻¹ cm⁻¹según la siguiente fórmula:

$$\text{Equivalentes de MDA (n.mol.ml}^{-1}\text{)} = [(A_{532} - A_{600}) / 155000] 106.$$

2.9.4. Contenido de proteínas solubles.

El contenido de proteínas solubles se determinó según Bradford (1976) a partir de 200 mg de la última hoja expandida e igual peso de raíz, de acuerdo al método de Bradford (1976). Los tejidos se homogeneizaron en un mortero con 1 ml del buffer de extracción (TRIS 50 mM, EDTA 1mM, PVPP insoluble 1%, MeSH 0,1% a pH 7,5) a 4 °C. El homogeneizado resultante se centrifugó a 10.000 g durante 10 minutos a 4°C. Se tomaron 20 µl del sobrenadante y se le agregó 1 ml del reactivo Bradford (Azul Brillante de Coomassie G-250 0,021% (p/v) etanol 4,7% (p/v) y ácido fosfórico 8,5% (p/v)) se agitó en vórtex y se leyó la absorbancia a 595 nm. El cálculo de la concentración de proteínas se efectuó empleando una curva patrón preparada con distintas concentraciones de albúmina de suero bovino (BSA, SiFMa Chemical Co).

2.10. Evaluación de la presencia de los hongos benéficos inoculados

2.10.1. Porcentaje de micorrización en base a la tinción con azul de Tripán.

La tinción de las estructuras fúngicas con azul de Tripán permite determinar la presencia de los HMA dentro y fuera de las raíces, y cuantificar el porcentaje de micorrización de las raíces. Se seleccionaron en forma aleatoria fracciones de raíces no lignificadas y se procedió a clarificar y teñir según la técnica de Phillips y Hayman (1970). Las raíces se aclararon con KOH al 10% (p/v) (10 minutos, a 100 °C). Luego se lavaron tres veces con agua y se aplicó una solución de HCl 0,1N (5 minutos a temperatura ambiente). Finalmente se tiñeron con azul de Tripán (5 minutos, a 95 °C). El colorante tiñe de color azul las estructuras del hongo que contienen quitina, principal componente de las paredes celulares de los hongos. Luego las raíces se conservaron en

una solución de lacto-fenol hasta el momento de su observación. Fragmentos de raíces teñidas, de aproximadamente 1cm de longitud, se montaron en portaobjeto añadiendo gotas de ácido láctico y se cubrieron con un cubreobjeto para luego ser observadas al microscopio óptico. Se realizaron tres repeticiones de cada tratamiento, cada una de 10 fragmentos de raíz. De cada muestra se observó la presencia de campos negativos (sin presencia de estructuras fúngicas) y positivos (con presencia de estructuras fúngicas). En los campos positivos se tuvo en cuenta el tipo de estructuras (arbusculos, vesículas, hifas) presentes dentro de la raíz. El porcentaje de raíces colonizadas (M%) se obtuvo utilizando el método de la cuadrícula de Giovanetti y Mosse (1980). Se calculó en base a la siguiente fórmula:

$$M\% = \frac{\text{Nro de Segmentos infectados}}{\text{Nro de Segmentos Totales}} \times 100$$

2.10.2. Tinción histoquímica para determinar la actividad de la enzima succinato deshidrogenasa (SDH) en las estructuras de los hongos micorrícicos arbusculares.

La aplicación de la tinción vital NBT-succinato, según el método de Schaffer y Peterson (1993), permitió distinguir mediante el empleo de un microscopio óptico, la presencia de sitios viables en el hongo. Se cortaron las raíces en fragmentos de 1 cm de longitud y se incubaron a temperatura ambiente y en oscuridad en la siguiente solución: 0,05 M Tris buffer (pH 7.4), 0,5 mM MgCl₂, 1 mg ml⁻¹ Nitro Blue Tetrazolium y 0,25 M succinato de sodio, durante 16 horas. Transcurrido dicho tiempo se eliminó la solución de incubación y se clarificaron las raíces colocándolas en una solución acuosa de hidrato de cloral al 75% (p/v) calentando a baño María durante 10 a 15 minutos. Luego se eliminó el hidrato de cloral y se cubrieron las raíces con solución de fucsina-ácida 0,01% calentando a BM a 90 °C durante 8 a 10 minutos. Una vez terminado el procedimiento de tinción, se procedió a montar los fragmentos de las raíces en el portaobjeto y se observaron con microscopio óptico. Las zonas viables se observaron de color azul-violáceo y las zonas no viables de color rosa.

2.10.3. Presencia de *T. harzianum* en el suelo.

Se evaluaron las unidades formadoras de colonia de *T. harzianum* por gramo de suelo de la rizósfera de las plantas, mediante la técnica del suelo diluido en placa, con el medio selectivo para *Trichoderma* (TSM) (Mónaco y Rollan, 1999). Para ello, se tomaron muestras de suelo de cada uno de los tratamientos, se dejaron secar a temperatura ambiente y se realizó el recuento de colonias del antagonista mediante la técnica del suelo diluido con el medio selectivo para *Trichoderma* (TSM) propuesta por Elad *et al.*, (1981). Esta técnica consistió en agitar durante 20 minutos una suspensión de 5 g de suelo en 50 ml de agua destilada estéril (dilución 1:10). Para cada muestra se realizaron dos diluciones seriadas. Para ello se tomó una alícuota de 1ml de la suspensión inicial que se vertió en 9 ml de agua destilada estéril, logrando una dilución 1:100. Luego, de esta última dilución se realizó una nueva logrando una dilución de 1:1000. Finalmente, se colocó 1 ml de cada una de las diluciones en una caja de Petri con 1ml de la solución fungistática con PCNB (pentacloronitrobenceno, 250 mg por litro) y posteriormente, se agregó el medio de cultivo (TSM) fundido y enfriado a 50 °C. Se realizaron 3 repeticiones por cada una de las diluciones. Las cajas fueron incubadas en estufa a 26 °C, durante 5 días. Para la evaluación se cuantificaron las colonias de *T. harzianum* que crecieron de manera aislada.

2.11. Evaluación de la multiplicación de *Nacobbus aberrans*

2.11.1. Número de huevos totales y número de huevos por gramo de raíz.

Se realizó una extracción de los mismos siguiendo los pasos descriptos previamente para la extracción del inóculo (Coolen, 1979).

2.11.2. Factor de reproducción del nematodo.

Se calculó en base a la siguiente fórmula:

$$Fr = Pf \cdot Pi^{-1}$$

Donde:

Fr: Factor de reproducción

Pf: Población final

Pi: Población inicial inoculada

La población final (Pf) del nematodo se calculó por la suma del número de huevos extraídos de la raíz y el número aproximado de vermiformes en el suelo. Para obtener la cantidad de vermiformes, se partió de analizar 100 gramos de suelo al volumen total de la maceta, para ello usamos el método de embudo de Baermann.

2.12. Diseño Experimental

El ensayo se realizó siguiendo un diseño experimental completamente aleatorizado.

Los tratamientos se realizaron según un arreglo factorial, con tres factores y 2 niveles cada uno, siendo los factores: infestación con nematodo, inoculación con HMA e inoculación con *Trichoderma harzianum* y 5 repeticiones por tratamiento, constituyendo cada planta una repetición. Los datos se analizaron por ANOVA y las medias se compararon usando LSD ($p < 0,05$) mediante el programa SISVAR. Para el análisis estadístico de variables cuyos resultados estaban expresados en porcentaje. Estos fueron transformados previamente por la función arcoseno, a fin de darles una distribución normal.

CAPÍTULO III

RESULTADOS

Resultados

3.1. Evaluación de Variables Morfológicas y Fisiológicas

3.1.1. Efecto de los tratamientos en la altura de la planta.

La variable altura para los diferentes tratamientos se registró a los 20, 35, 50 y 65 días después del trasplante (ddt). En la figura 14, se presentan los resultados sin la presencia del nematodo (0NA), donde se observó, que a los 20 ddt entre los tratamientos Testigo y *T. harzianum* (T) no existieron diferencias significativas. La altura osciló en rangos de altura entre 45,40 cm (Testigo) y 45,60 cm (*T. harzianum*), mientras que entre los tratamientos inoculado con los dos hongos (M+T) y el tratamiento micorrizado con *R. intraradices* (M) se evidenciaron diferencias significativas respecto a los tratamientos descritos anteriormente, siendo los valores de altura de 53,60 cm y 50,60 cm respectivamente. La máxima altura se registró en el tratamiento M+T. Los resultados obtenidos a los 35 ddt tienen un comportamiento similar a los obtenidos a los 20 ddt, siendo el tratamiento M el que presentó el mejor comportamiento con 84,60 cm y el tratamiento T mostró la menor altura (69,40 cm). A los 50 ddt, los tratamientos no presentaron diferencias significativas. A los 65 ddt no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, pero se nota una tendencia favorable en los tratamientos T y T + M con valores de 141,40 cm y 142,40 cm respectivamente. De acuerdo al análisis de varianza no se encontró diferencias significativas entre interacciones de tratamientos.

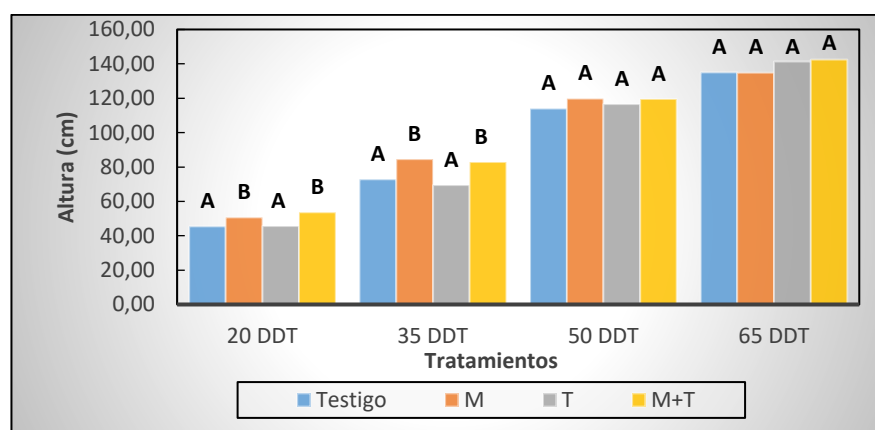


Figura 14. Altura de plantas de *S. lycopersicum* cultivadas bajo distintos tratamientos: 25 ddt, 35 ddt, 50 ddt y 65 días después del trasplante (ddt) en ausencia de *N. aberrans* (0NA). Medias seguidas por distintas letras dentro de cada estadio indican diferencias significativas, (LSD $p < 0.05$).

En la figura 15, se presentan los resultados de la variable altura con presencia de nematodo *N. aberrans* (NA), en los distintos tratamientos. Se observa que a los 20 y 35 ddt no existieron diferencias significativas entre los tratamientos. A los 50 ddt los tratamientos mostraron diferencias significativas, donde, el tratamiento M y Testigo revelaron valores altos (115,80 cm, 115,60 cm, respectivamente), a diferencia del resto de los tratamientos que mostraron valores significativamente más bajos. Finalmente, a los 65 ddt se observa una respuesta similar a la fecha anterior, con la diferencia que la combinación micorrizas + *T. harzianum* aumenta levemente la altura respecto al tratamiento que sólo posee *T. harzianum*, aunque no difiere significativamente de ningún de los otros tratamientos. De acuerdo al análisis de varianza no se encontró diferencias significativas entre interacciones de tratamientos.

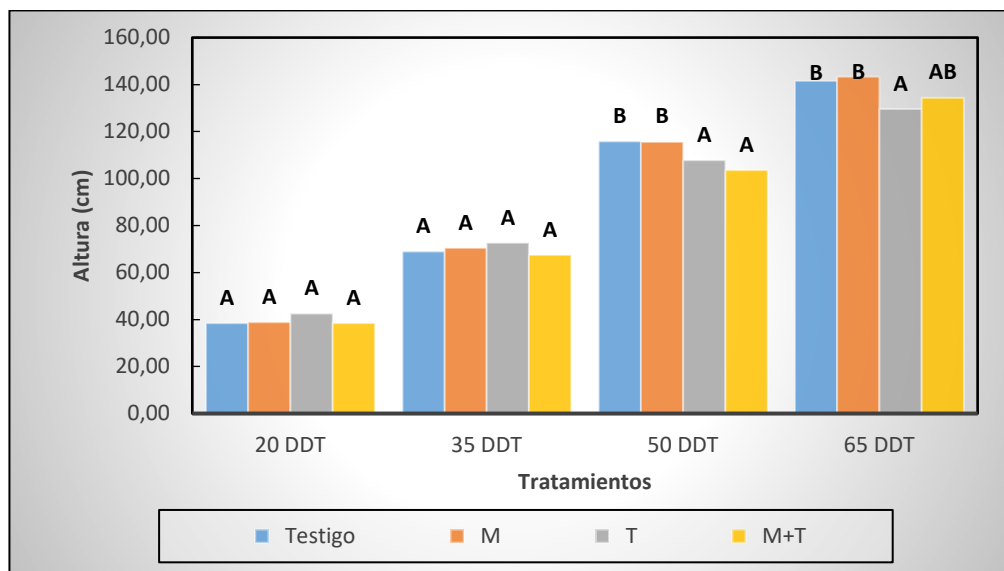


Figura 15. Altura de plantas de *S. lycopersicum* cultivadas bajo distintos tratamientos, 25 ddt, 35 ddt, 50 ddt y 65 días después del trasplante (ddt) en presencia de *N. aberrans*. Medias seguidas por distintas letras dentro de cada estadio indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

3.1.2. Índice de verdor.

La lectura del SPAD se realizó a partir de los 20 ddt hasta los 80 ddt con intervalos de 15 días. En ausencia de nematodo (ONA), el tratamiento de menor índice de verdor se registró a los 20 ddt en el tratamiento con *T. harzianum* (T), seguido del

tratamiento micorrizado (M), el testigo, la combinación de los hongos (M+T) obtuvo el mejor índice de verdor (figura 16), si bien no se presentaron diferencias significativas entre los mismos. Al momento de la segunda lectura (35 ddt) se observó que el tratamiento T tendió a aumentar con respecto a tratamiento micorrizado aunque mostró valores por debajo del testigo y M+T que presentaron un índice de verdor de 52,24 y 53,04 respectivamente. A los 50 ddt, se observaron diferencias significativas, en donde el tratamiento con hongos micorrícicos presentó el valor más alto, con un índice de verdor de 53,84, seguido por el tratamiento donde se combinaron los dos hongos benéficos. Esta tendencia se mantuvo en las mediciones sucesivas, donde los tratamientos M, M+T y T obtuvieron un elevado índice de verdor con tendencia a una disminución a los 80 ddt, pero quedando por encima del testigo, en el cual se registró el menor índice de verdor.

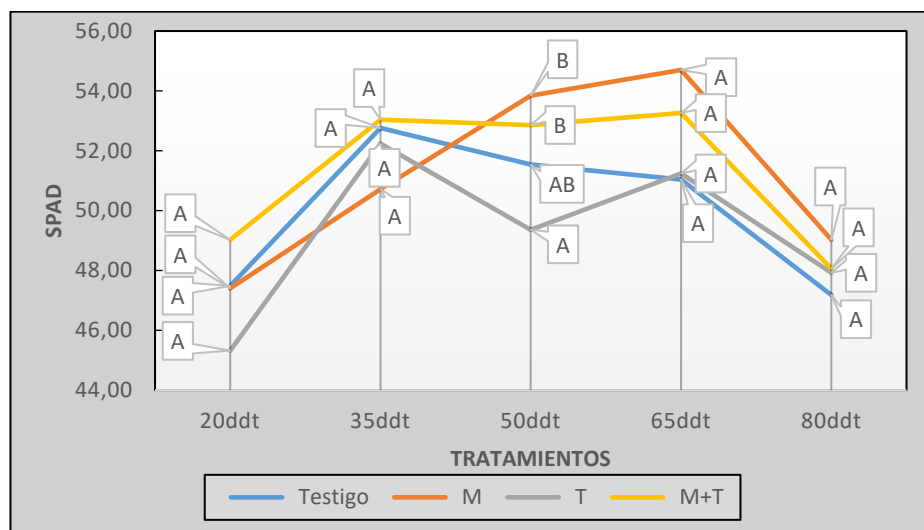


Figura 16. Índice de verdor medido con SPAD sobre plantas *S. lycopersicum* cultivadas bajo distintos tratamientos: 25 ddt, 35 ddt, 50 ddt, 65 ddt y 80 días después del trasplante (ddt) en ausencia de *N. aberrans* (0NA). Medias seguidas por distintas letras dentro de cada estadio indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

En la figura 17, se muestran los resultados de índice de verdor en presencia de *N. aberrans* (NA). A los 20 ddt, no se observaron diferencias significativas. Los tratamientos M+T (50,36) y Mico (50,28) mostraron valores más altos con respecto a los otros tratamientos. En la segunda lectura (35 ddt) de igual manera no se presentaron

diferencias significativas entre los tratamientos. A los 50 ddt se registraron diferencias significativas: el tratamiento M+T, arrojó un valor de 53,56, seguido de T con 52,86, M con 50,38 y por último el testigo con 47,36. A los 65 ddt no se observaron diferencias significativas. En la última determinación se observó una disminución en todos los tratamientos, si bien no hubo diferencias significativas entre ellos.

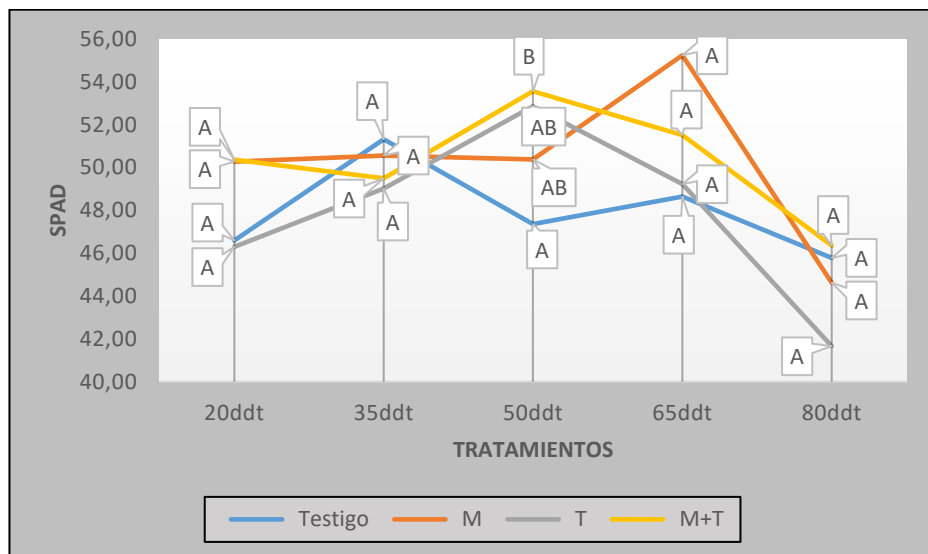


Figura 17. Índice de verdor medido con SPAD sobre plantas *S. lycopersicum* cultivadas bajo distintos tratamientos: 25, 35, 50, 65 y 80 días después del trasplante (ddt) en presencia de *N. aberrans* (NA). Medias seguidas por distintas letras dentro de cada estadio indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

3.1.3. Determinación de Conductancia estomática.

La conductancia estomática (figura 18) disminuyó en los tratamientos infestados con el nematodo. Las plantas micorrizadas e inoculadas con *T. harzianum* presentaron valores superiores con respecto al testigo en presencia del nematodo. El tratamiento de mayor valor promedio fue T en ausencia de *N. aberrans* (ONA) con 80,60 y el de menor valor promedio fue el tratamiento testigo en presencia de *N. aberrans* (NA). Estadísticamente, las interacciones nematodo/*T. harzianum* y nematodo/micorrización presentaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en el análisis de varianza (tabla 5) respecto a los otros factores.

Tabla 5. Análisis de varianza para conductividad estomática - Suma de Cuadrados Tipo III.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NEMATODO	1	2757.300833	2757.300833	32.286	0.0000
TRICHODERMA	1	1920.270000	1920.270000	22.485	0.0000
MICORRIZACION	1	9.363333	9.363333	0.110	0.7423
NEMATODO*TRICHODERMA	1	1766.613333	1766.613333	20.686	0.0000
NEMATODO*MICORRIZACION	1	1113.613333	1113.613333	13.040	0.0008
TRICHODERMA* MICO	1	340.267500	340.267500	3.984	0.0528
NEMATODO*TRICHO*MICO	1	0.300833	0.300833	0.004	0.9530
error	40	3416.050000	85.401250		
Total corregido	47	11323.779167			
CV (%) =	17.40				
Mévia general:	53.1041667		Número de observaciones:	48	

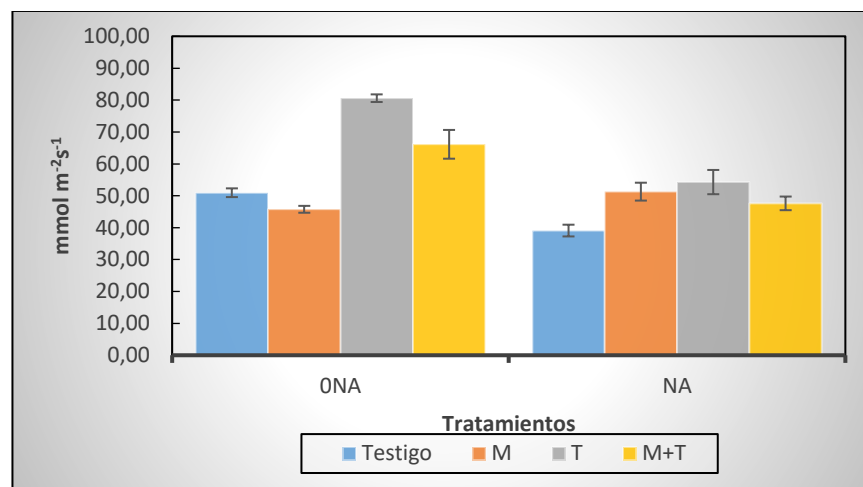


Figura 18. Conductancia estomática sobre hojas de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), con distintos tratamientos de suelo, en ausencia (ONA) y presencia (NA) de *N. aberrans*. Barras en las columnas indican la desviación estándar.

Tabla 6. Interacción doble: nematodo / *T. harzianum* para conductancia estomática.

	Sin <i>T. harzianum</i>	Con <i>T. harzianum</i>
Sin nematodo	48.29 Ab	73,07 Aa
Con nematodo	45.42 Aa	45.7 Ba

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical y letras minúsculas diferentes en la horizontal. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

En lo que se refiere al efecto de la interacción de factor nematodo con el factor *T. harzianum*, (Tabla 6), presentó diferencias significativas en los tratamientos

inoculados con el hongo, donde el mayor valor fue en la interacción con tratamientos sin infestación de *N. aberrans* con un 73,07 de conductancia estomática teniendo un aumento del 59, 89% respecto a la interacción con el nematodo. De igual modo, se encontraron diferencias significativas en el caso del efecto de *T. harzianum* con el factor nematodo. El mayor valor se presentó en la interacción de *T. harzianum* y ausencia de *N. aberrans* la cual se diferencia en un 51,31% frente a los tratamientos sin presencia de *T. harzianum*.

Tabla 7. Interacción doble significativa: nematodo/micorrización para conductividad estomática.

	No micorrizado	Micorrizado
Sin nematodo	65.94 Aa	55.42 Ab
Con nematodo	41.15 Bb	49.9 Aa

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical y letras minúsculas diferentes en la horizontal. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

El efecto del factor nematodo con la interacción micorrización (tabla 7), presentó diferencias significativas en los tratamientos no micorrizados, siendo el valor más alto en ausencia de nematodo (65,94), y aumentando un 18,98% de conductancia estomática respecto a los tratamientos en presencia de la plaga. De igual manera en el efecto del factor micorrización el valor más alto se presentó en la interacción con tratamientos sin nematodo/no micorrizados, que presentó un valor de conductancia estomática de 65,94 y siendo un 18,98 % mayor con respecto a la interacción con tratamientos micorrizados. Sin embargo el efecto de micorrización produjo diferencias significativas con la interacción en tratamientos con presencia de nematodo, siendo el mayor valor en tratamientos micorrizados de 49,9 $\text{mmoles.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de conductancia estomática diferenciándose en un 21,26% frente a los tratamientos no micorrizados.

3.1.4. Fotosíntesis neta, transpiración.

La figura 19, muestra los resultados del intercambio neto de carbono o fotosíntesis neta, donde se apreció que los mayores valores correspondieron a los tratamientos en ausencia de nematodo (0NA), a diferencia de los tratamientos en presencia del mismo (NA). Respecto al análisis de varianza (tabla 8), se observaron

diferencias significativas en la de doble interacción nematodo/micorrización y *T. harzianum* /micorrización.

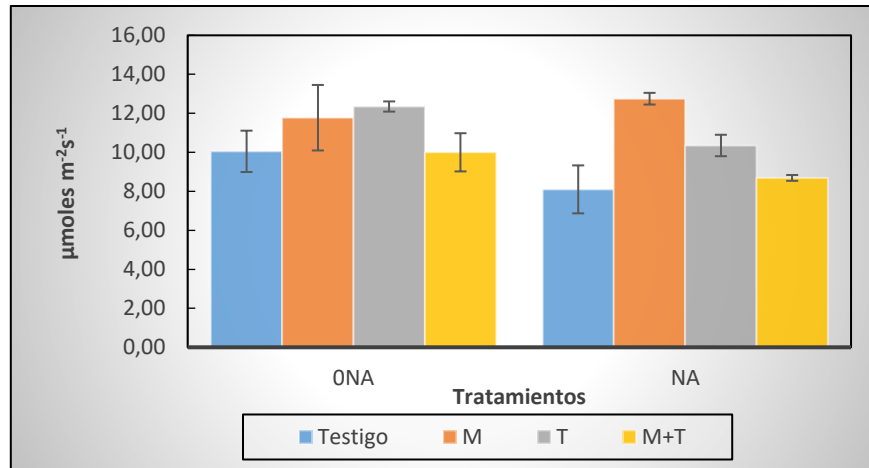


Figura 19. Fotosíntesis neta, medida en hojas de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), con distintos tratamientos de suelo, en ausencia (ONA) y presencia (NA) de *N. aberrans*. Barras en las columnas indican la desviación estándar.

Tabla 8. Análisis de varianza para fotosíntesis neta- Suma de Cuadrados Tipo III.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NEMATODO	1	20.150208	20.150208	7.408	0.0096
TRICHODERMA	1	3.050208	3.050208	1.121	0.2960
MICORRIZACION	1	8.416875	8.416875	3.094	0.0862
NEMATODO*TRICHODERMA	1	0.460208	0.460208	0.169	0.6830
NEMATODO*MICORRIZACION	1	11.900208	11.900208	4.375	0.0429
TRICHODERMA*MICO	1	106.505208	106.505208	39.154	0.0000
NEMATODO*TRICHO*MICO	1	1.110208	1.110208	0.408	0.5266
error	40	108.806667	2.720167		
Total corregido		47	260.399792		
CV (%) =	15.82				
Mévia general:	10.4229167	Número de observaciones:		48	

Tabla 9. Interacción doble significativa: nematodo/micorrización para fotosíntesis neta.

	No micorrizado	Micorrizado
Sin nematodo	11.15 Aa	10.99 Aa
Con nematodo	8.85 Bb	10.69 Aa

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical y letras minúsculas diferentes en la horizontal. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

En la interacción doble nematodo/micorrización (tabla 9), se observaron diferencias significativas para los tratamientos no micorrizados. La fotosíntesis neta fue significativamente menor en los tratamientos con nematodos sin micorrizas. Analizando la interacción *T. harzianum* /micorrización (tabla 10) se observó que el tratamiento con *T. harzianum* y micorrización inoculados en forma individual, mostraron diferencias significativas con respecto a los tratamientos con doble inoculación o los que no presentaron hongos.

Tabla 10. Interacción doble significativa: *T. harzianum* /micorrización para fotosíntesis.

	No micorrizado	Micorrizado
Sin <i>T. harzianum</i>	8.76 Bb	12.5 Aa
Con <i>T. harzianum</i>	11.24 Aa	9.1 Bb

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical y letras minúsculas diferentes en la horizontal. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

La interacción entre ambos hongos no mostró sinergismo en la variable fotosíntesis. El efecto de *T. harzianum* aumentó la fotosíntesis en un 22,06 % en tratamientos no micorrizados y fue mayor con un 27,2% en tratamientos micorrizados. Sin embargo en tratamientos sin inóculo de *T. harzianum*, los niveles de fotosíntesis fueron mayores (10,08%) cuando la micorriza actuó sola. Por consiguiente, se demostró que la fotosíntesis aumentó cuando cada microorganismo actuó solo.

Los resultados de la variable transpiración se muestran en la figura 20. El menor valor se encontró en el testigo (2,03 y 2,08, con y sin nematodo respectivamente) que fue superados por todos los tratamientos. Los mayores valores se observaron en los tratamientos con *T. harzianum* (2,48 y 2,70), tanto en ausencia y presencia de *N. aberrans*. El análisis de varianza (tabla 11) señala que la interacción triple entre nematodo, micorrización y *T. harzianum* se diferencia estadísticamente frente a los demás factores.

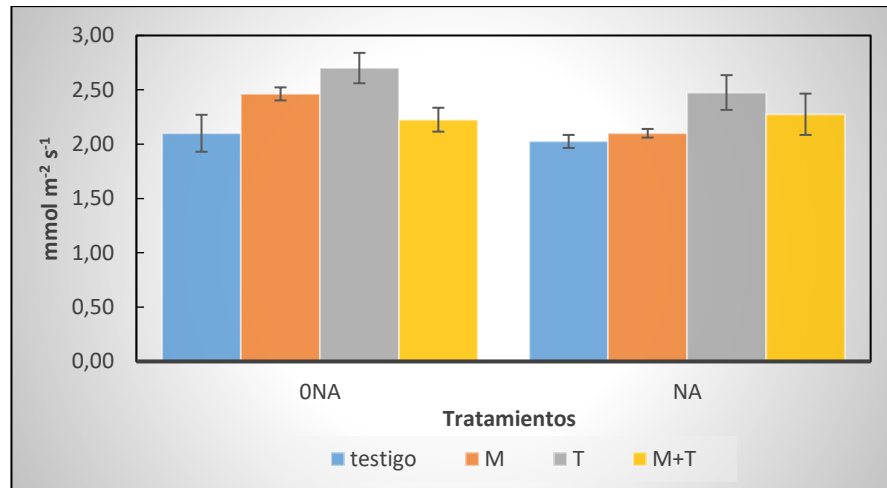


Figura 20. Transpiración medida con el IRGA sobre hojas de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), con distintos tratamientos de suelo, en ausencia (ONA) y presencia (NA) de *N. aberrans*. Barras en las columnas indican la desviación estándar.

Tabla 11. Análisis de varianza para transpiración- Suma de Cuadrados Tipo III.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NEMATODO	1	0.233802	0.233802	4.449	0.0412
TRICHODERMA	1	0.921302	0.921302	17.531	0.0002
MICORRIZACION	1	0.056719	0.056719	1.079	0.3051
NEMATODO*TRICHODERMA	1	0.096302	0.096302	1.833	0.1834
NEMATODO*MICORRIZACION	1	0.000052	0.000052	0.001	0.9750
TRICHODERMA*MICO	1	1.316719	1.316719	25.056	0.0000
NEMATODO*TRICO*MICO	1	0.394219	0.394219	7.501	0.0092
error	40	2.102083	0.052552		
Total corregido	47	5.121198			
CV (%) =	9.99				
Mévia general:	2.2947917	Número de observaciones:	48		

Tabla 12. Interacción triple significativa: micorrización en distintas combinatorias para transpiración.

	Sin nematodo		Con nematodo	
	Sin <i>T. harzianum</i>	Con <i>T. harzianum</i>	Sin <i>T. harzianum</i>	Con <i>T. harzianum</i>
No micorrizado	2,05 B	2,75 A	2,00 A	2,51 A
Micorrizado	2,49 A	2,16 B	2,08 A	2,3 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

El efecto de la micorrización (tabla 12) en la variable transpiración tuvo más efecto en los tratamientos con ausencia de *N. aberrans*. Esto resultó en diferencias significativas tanto en presencia de *T. harzianum* como en ausencia, siendo la primera interacción la de mayor valor (2,75). En presencia de *N. aberrans* no existieron diferencias significativas al inocular con *T. harzianum* y/o HMA.

Tabla 13. Interacción triple significativa: nematodo en distintas combinatorias para transpiración.

	Sin <i>T. harzianum</i>		Con <i>T. harzianum</i>	
	No micorrizado	Micorrizado	No micorrizado	Micorrizado
Sin nematodo	2,05 A	2,49 A	2,75 A	2,16 A
Con nematodo	2,00 A	2,08 B	2,51 A	2,3 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

En la tabla 13 se observa el efecto del nematodo en la interacción con los hongos benéficos, donde se aprecia que existen diferencias significativas sólo en el tratamiento sin *T. harzianum* y en presencia de micorrizas arbusculares, donde el nivel de transpiración es mayor en un 16,46% en tratamientos sin *N. aberrans*.

Tabla 14. Interacción triple significativa: *T. harzianum* en distintas combinatorias para transpiración.

	Sin nematodo		Con nematodo	
	No micorrizado	Micorrizado	No micorrizado	Micorrizado
Sin <i>T. harzianum</i>	2,05 B	2,49 A	2,00 B	2,08 A
Con <i>T. harzianum</i>	2,75 A	2,16 B	2,51 A	2,30 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

Por último, en el efecto de *T. harzianum* en la interacción triple, se obtuvieron tres situaciones con diferencias significativas, dos en la interacción sin *N. aberrans* y una en la interacción con *N. aberrans*. En el primer caso, el tratamiento no micorrizado y con inóculo de *T. harzianum* presentó el valor más alto, con un promedio de 2,75 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ diferenciándose en un 25,45% con la interacción de tratamientos sin *T. harzianum*. Al contrario de lo anterior, las diferencias significativas se presentaron en tratamientos sin inoculación con *T. harzianum* y micorrizados, con un valor medio de 2,49 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y para terminar, en el segundo caso, se obtuvieron diferencias significativas en la interacción con presencia de *N. aberrans* pero no micorrizados siendo el mayor valor de transpiración en presencia de inóculo de *Trichoderma*.

Obtenidos los resultados de fotosíntesis neta y transpiración se calculó la presente variable expresada en la figura 21, donde se observaron diferencias significativas entre el tratamiento inoculado con hongos micorrícicos e infectado con el

nematodo (NA) (6.07), con respecto al resto de tratamientos tanto en presencia de nematodo (NA) como en ausencia (0NA). En este resultado se debe tener en cuenta que los análisis estadísticos evaluando las interacciones entre los diferentes factores ya se realizaron al analizar la fotosíntesis neta y la transpiración en forma independiente.

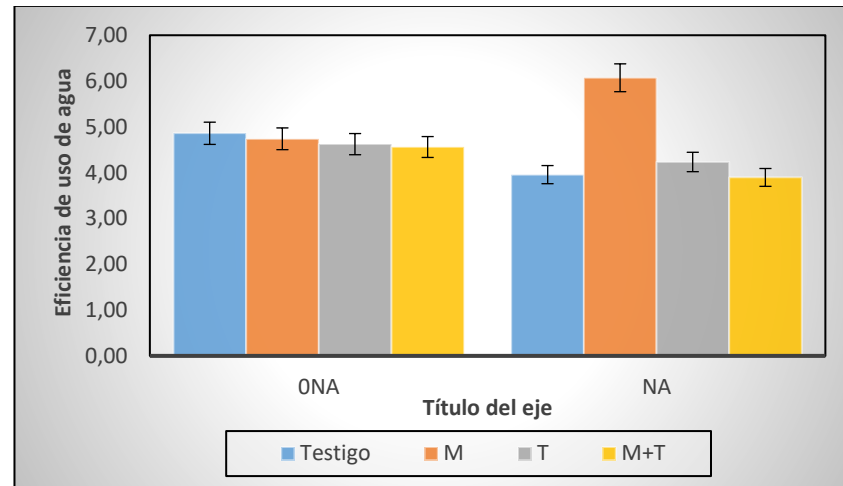


Figura 21. Eficiencia de uso de agua (EUA) en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con distintos tratamientos, en ausencia (0NA) y presencia (NA) de *N. aberrans*. Barras en las columnas indican la desviación estándar.

3.1.5. Conductividad eléctrica relativa.

Esta variable permitió determinar el daño de membranas celulares producido por el estrés que provoca la presencia de *N. aberrans*, tanto en hojas como en raíces de las plantas de tomate. En la figura 22 se observa que los daños en las membranas celulares de hojas presentaron diferencias significativas entre tratamientos, y que los valores no superaron el 25%. Los tratamientos sin presencia de nematodos alcanzaron valores máximos de conductividad del 22,5% mientras que los tratamientos en presencia de nematodo no superaron el 21,69% (testigo). De cualquier forma, al ser valores bajos, no se puede considerar que haya un daño que afecte el funcionamiento de las membranas celulares de las hojas. El análisis estadístico (tabla 15) muestra que la interacción triple nematodo/ *T. harzianum* /Micorrización se diferencia estadísticamente respecto a los demás factores.

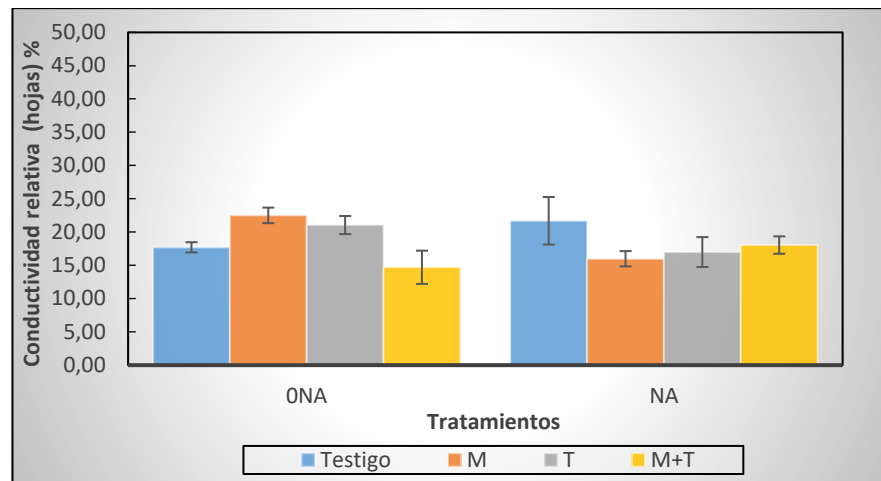


Figura 22. Conductividad relativa en hojas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con distintos tratamientos de suelo, en ausencia (ONA) y presencia (NA) de *N. aberrans*. Barras en las columnas indica la desviación estándar.

Tabla 15. Análisis de varianza para CR hojas- Suma de Cuadrados Tipo III.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NEMATODO	1	6.608402	6.608402	0.881	0.3550
TRICHODERMA	1	31.564767	31.564767	4.207	0.0485
MICORRIZAC	1	24.030773	24.030773	3.203	0.0830
NEMATODO*TRICHODERMA	1	2.040649	2.040649	0.272	0.6056
NEMATODO*MICORRIZACION	1	6.021980	6.021980	0.803	0.3770
TRICHODERMA*MICORRIZA	1	12.027529	12.027529	1.603	0.2146
NEMATODO*TRICO*MICOR	1	200.260433	200.260433	26.694	0.0000
erro	32	240.068295	7.502134		
Total corregido	39	522.622828			
CV (%) =	14.74				
Mévia general:	18.5849276		Número de observaciones:	40	

Tabla 16. Interacción triple significativa: nematodo en distintas combinatorias para CR hojas.

	Sin <i>T. harzianum</i>		Con <i>T. harzianum</i>	
	No micorrizado	Micorrizado	No micorrizado	Micorrizado
Sin nematodo	17,7 B	22,50 A	21,05 A	14,7 A
Con nematodo	21,69 A	15,98 B	16,98 B	18,04 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas dierentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

En el factor nematodo (tabla 16) se encontraron diferencias significativas en la triple interacción nematodo/*Trichoderma*/micorriza, En los tratamientos sin *T. harzianum* la conductividad relativa fue significativamente mayor en las plantas con el nematodo y no micorrizadas. La micorrización favoreció la estabilidad de las

membranas celulares en las plantas que presentaron nematodos comparadas con la que no estuvieron infestadas. En los tratamientos con *T. harzianum*, no se observaron diferencias significativas con la micorrización con y sin presencia de nematodos. La conductividad de las plantas no micorrizadas sin nematodos fue significativamente superior a la que presentaron nematodos.

Tabla 17. Interacción triple significativa: micorrización en distintas combinatorias para CR hojas.

	Sin nematodo		Con nematodo	
	Sin <i>T. harzianum</i>	Con <i>T. harzianum</i>	Sin <i>T. harzianum</i>	Con <i>T. harzianum</i>
No micorrizado	17,70 B	21,05 A	21,69 A	16,98 A
Micorrizado	22,50 A	14,70 B	15,98 B	18,04 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

Con respecto al efecto del factor micorrización en forma similar presentaron diferencias significativas en la triple interacción (tabla 17). En el primer caso, dos diferencias se presentaron en la interacción con tratamientos sin *N. aberrans* más tratamientos con y sin presencia de *T. harzianum*, el valor más alto se presentó en tratamientos donde no existió la inoculación del nematodo y de *T. harzianum* la cual se diferencia en un 4,8% con los tratamiento no micorrizados. La otra diferencia significativa se presentó en la interacción con presencia de *T. harzianum*, donde el valor más alto fue de 21,05% en la interacción de tratamientos sin inóculo de los microorganismo siendo mayor en un 6,35% más que en la interacción con tratamientos micorrizados que presentaron un valor de 14,7% de daño de membrana. En segundo lugar se encontró una diferencia significativa en la interacción de tratamientos con presencia de *N. aberrans* y sin *T. harzianum*, en ésta interacción el valor mayor fue en ausencia de inóculo de micorrizas con el 21,69% de daño en la membrana, que resultó superior en un 5,71% a la interacción con tratamientos micorrizados.

Tabla 18. Interacción triple significativa: *T. harzianum* en distintas combinatorias para CR hojas.

	Sin nematodo		Con nematodo	
	No micorrizado	Micorrizado	No micorrizado	Micorrizado
Sin <i>T. harzianum</i>	17,70 A	14,70 B	16,98 B	15,98 A
Con <i>T. harzianum</i>	21,05 A	22,50 A	21,69 A	18,04 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

Los tratamientos que mostraron valores de conductividad relativa de hoja significativamente menores fueron aquellos sin *T. harzianum*.

Los resultados obtenidos en raíces (figura 23), con valores cercanos al 40%, que corresponden al tratamiento control, sin inoculación de hongos benéficos y en presencia del nematodo, revelan mayor daño en la membrana celular, tanto en ausencia como presencia de *N. aberrans*, respecto de las hojas. De acuerdo al análisis estadístico ANOVA (tabla 19), se encontró que los factores nematodo y presencia de *T. harzianum* generan diferencias significativas respecto al resto de tratamientos.

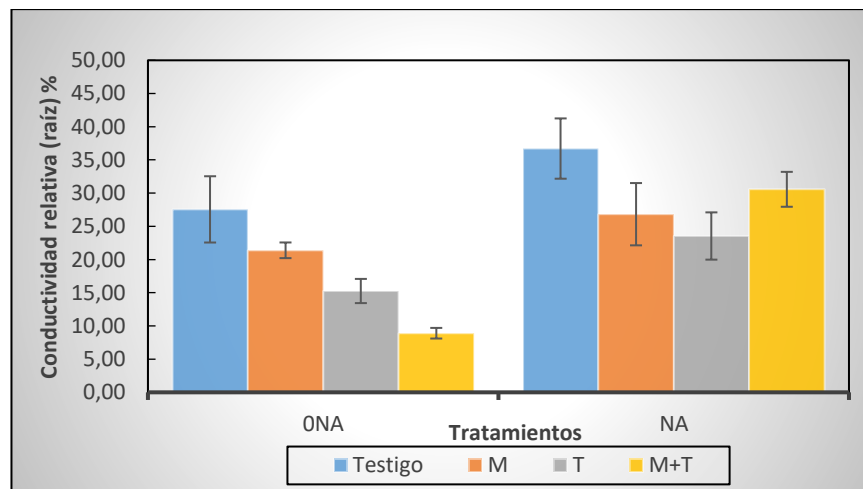


Figura 23. Conductividad relativa en raíces de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con distintos tratamientos de suelo, en ausencia (0NA) y presencia (NA) de *N. aberrans*. Barras en columnas indica la desviación estándar.

Tabla 19. Análisis de varianza para CR raíz- Suma de Cuadrados Tipo III.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NEMATODO	1	1240.384854	1240.384854	21.453	0.0001
TRICHODERMA	1	731.011877	731.011877	12.643	0.0012
MICORRIZAC	1	147.608863	147.608863	2.553	0.1199
NEMATODO*TRICHODERMA	1	147.433533	147.433533	2.550	0.1201
NEMATODO*MICORRIZAC	1	58.390116	58.390116	1.010	0.3225
TRICODERMA*MICORRIZA	1	174.699666	174.699666	3.022	0.0918
NEMATODO*TRICHO*MICO	1	183.055245	183.055245	3.166	0.0847
erro	32	1850.156464	57.817390		
Total corregido	39	4532.740618			
CV (%) =	31.89				
Média general:	23.8457074		Número de observaciones:	40	

Tabla 20. Efecto por nematodo para CR raíz.

Tratamientos	Medias
Sin nematodo	18.27 B
Con nematodo	29.41 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

Tabla 21. Efecto por *T. harzianum* para CR raíz.

Tratamientos	Medias
Con <i>T. harzianum</i>	19.57 B
Sin <i>T. harzianum</i>	28.12 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

El efecto del nematodo frente al daño de membrana celular en la raíz se presenta en la tabla 20. Se evidenció que el mayor nivel de daño se dio en tratamientos con presencia de nematodos con un valor de 29,41%, diferenciándose estadísticamente en un 11,14% frente a los tratamientos donde no existe presencia del nematodo (18,27% de conductividad relativa). De modo similar sucede en el efecto que tiene la inoculación con *T. harzianum* (tabla 21) que permite observar un valor de conductividad relativa significativamente menor en los tratamientos que fueron inoculados con *T. harzianum*.

3.2. Evaluación de Variables Bioquímicas

3.2.1. Contenido de clorofila.

De manera general, en la figura se observa mayor contenido de clorofila en los tratamientos inoculados con los dos hongos benéficos, en presencia (NA) y ausencia (ONA) de *N. aberrans*, superando al testigo. El análisis de varianza (tabla 22), mostró diferencias significativas únicamente en los factores *T. harzianum* y micorrizas cuando se presentaron individualmente, con respecto con los demás factores.

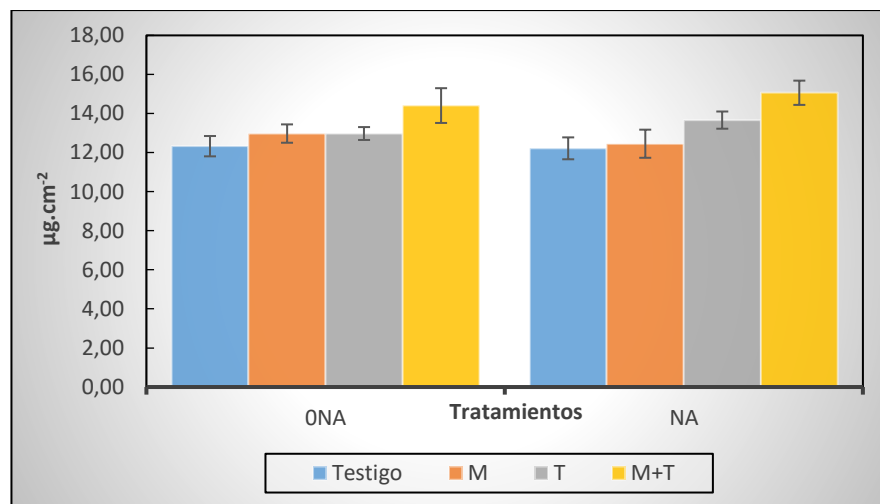


Figura 24. Contenido de clorofila en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en distintos tratamientos, en ausencia (ONA) y presencia (NA) de *N. aberrans*. Barras en las columnas indican la desviación estándar.

Tabla 22. Análisis de varianza para clorofila - Suma de Cuadrados Tipo III.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NEMATODO	1	0.381633	0.381633	0.272	0.6046
TRICHODERMA	1	28.244008	28.244008	20.160	0.0001
MICORRIZACION	1	10.323075	10.323075	7.368	0.0097
NEMATODO*TRICHODERMA	1	2.910675	2.910675	2.078	0.1573
NEMATODO*MICORRIZACION	1	0.147408	0.147408	0.105	0.7473
TRICHODERMA*MICO	1	2.861633	2.861633	2.043	0.1607
NEMATODO*TRICHO*MICO	1	0.108300	0.108300	0.077	0.7824
error	40	56.041033	1.401026		
Total corregido	47	101.017767			
CV (%) =	8.93				
Mévia general:	13.2608333	Número de observaciones:	48		

Tabla 23. Diferencias significativas en efecto de *T. harzianum* para clorofila.

Tratamientos	Medias
Sin <i>T. harzianum</i>	12.49 B
Con <i>T. harzianum</i>	14.02 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

Tabla 24. Diferencias significativas en efecto de micorrización para clorofila.

Tratamientos	Medias
No micorrizado	12.79 B
Micorrizado	13.72 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

Los resultados del análisis estadístico mostraron que el tratamiento donde se inocularon HMA y *T. harzianum* registraron valores significativamente superiores comparado con los otros tratamientos, tanto en las plantas infectadas como las no infectadas con el nematodo (tabla 23 y 24).

3.2.2. Contenido de carotenoides.

Este resultado tuvo una tendencia similar a los valores de la clorofila. En la figura 25, se representa el contenido de carotenoides presentes en las plantas expuestas a los diferentes tratamientos, se observa que existen diferencias significativas entre ellos. Sin embargo los valores de los carotenoides en los tratamientos con presencia (NA) y ausencia de nematodo (0NA) no difieren entre sí. Por otra parte el mayor contenido de carotenoides se encontró en los tratamientos M+T (0NA, NA) con 2,13 $\mu\text{g}.\text{cm}^2$ y 2,31 $\mu\text{g}.\text{cm}^2$ respectivamente, mostrándose por encima de los tratamientos testigo (0NA, NA). De acuerdo con el análisis de varianza (tabla 25) tres factores presentaron diferencias significativas respecto a los demás: *T. harzianum*, micorrización y la interacción doble de nematodo y *T. harzianum*.

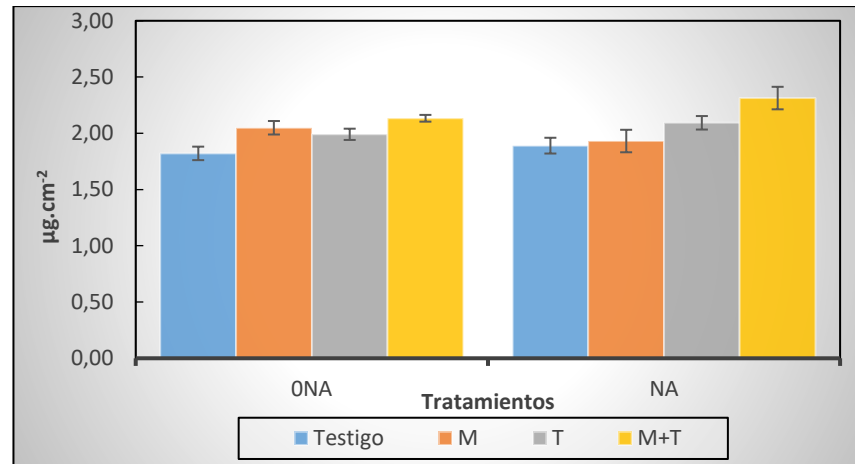


Figura 25. Contenido de carotenoides en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con distintos tratamientos, en ausencia (ONA) y presencia (NA) de *N. aberrans*. Barras en las columnas indica la desviación estándar.

Tabla 25. Análisis de varianza para carotenoides - Suma de Cuadrados Tipo III.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NEMATODO	1	0.041419	0.041419	2.179	0.1477
TRICHODERMA	1	0.531302	0.531302	27.953	0.0000
MICORRIZACION	1	0.305602	0.305602	16.078	0.0003
NEMATODO*TRICHODERMA	1	0.082502	0.082502	4.341	0.0436
NEMATODO*MICORRIZACION	1	0.009352	0.009352	0.492	0.4871
TRICHODERMA*MICO	1	0.006769	0.006769	0.356	0.5540
NEMATODO*TRICHODERMA	1	0.052669	0.052669	2.771	0.1038
error	40	0.760283	0.019007		
Total corregido	47	1.789898			
CV (%) =	6.80				
Mévia general:	2.0264583	Número de observaciones:	48		

Tabla 26. Diferencias significativas en efecto de *T. harzianum* para carotenoides.

Tratamientos	Medias
Sin <i>T. harzianum</i>	1.92 B
Con <i>T. harzianum</i>	2.13 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

Tabla 27. Diferencias significativas en efecto de micorrización para carotenoides.

Tratamientos	Medias
No micorrizado	1.94 B
Micorrizado	2.10A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

Tanto la presencia de *T. harzianum* y de HMA, presentaron un aumento en el contenido de carotenos del 9,8% y del 7,6% respectivamente, dando como resultado diferencias significativas en ambos casos respecto a los tratamientos sin inoculación de los hongos (tabla 26 y 27).

Tabla 28. Interacción doble significativa: nematodo / *T. harzianum* para carotinoides.

	Sin <i>T. harzianum</i>	Con <i>T. harzianum</i>
Sin nematodo	1,93 Ab	2,06 Ba
Con nematodo	1,90 Ab	2,20 Aa

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical y letras minúsculas diferentes en la horizontal. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

En la interacción entre el nematodo y *T. harzianum* (tabla 28) se encontraron diferencias significativas en el contenido de carotenoides. Tal es el caso que, el nivel de esta variable aumentó significativamente en un 6,36% cuando estuvieron presentes *N. aberrans* y *T. harzianum* respecto a la interacción en ausencia de nematodo y presencia del hongo. De igual modo, se encontraron diferencias significativas en la interacción ausencia de nematodo y presencia o no de *T. harzianum*, siendo mayor cuando estuvo presente el hongo benéfico y ausente el nematodo con una media de 2,06 $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ de carotenoides en hojas. Por último, se encontró similitud en el resultado proveniente de presencia de *N. aberrans* y *T. harzianum*.

3.2.3. Contenido de prolina.

La prolina es un aminoácido que hace referencia a la presencia de estrés en las plantas. La mayor concentración de prolina se presentó en las hojas respecto de las raíces (figura 26). En este caso, se observó una mayor acumulación de prolina en los tratamientos con presencia del nematodo (NA), respecto a los tratamientos sin infestación con *N. aberrans*, excepto en el tratamiento con *T. harzianum* que no mostró diferencias significativas. El análisis estadístico de ANOVA (tabla 29) mostró tener tres factores que presentaron diferencias significativas frente a los demás factores en estudio, ente ellos se encuentran el nematodo, la inoculación con *T. harzianum* y la interacción doble nematodo/*T. harzianum*.

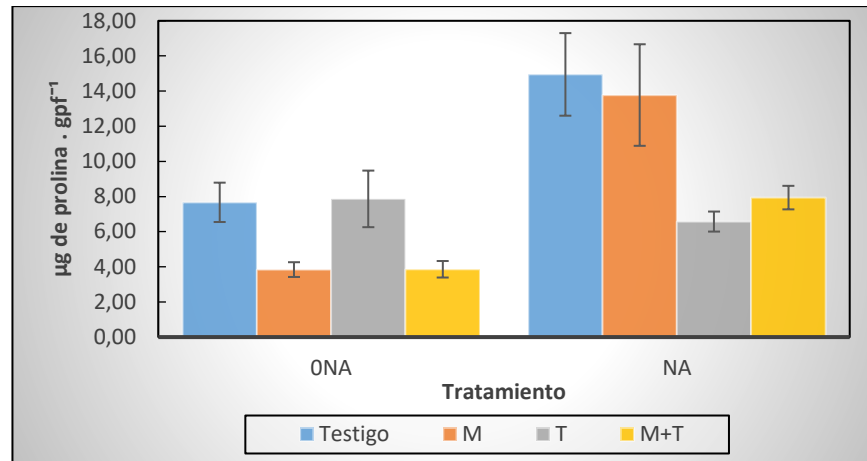


Figura 26. Contenido de prolina en hojas pertenecientes a plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con distintos tratamientos en ausencia (ONA) y presencia (NA) de *N. aberrans*. Barras en las columnas indican la desviación estándar.

Tabla 29. Análisis de varianza para prolina hojas - Suma de Cuadrados Tipo III.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NEMATODO	1	250.021862	250.021862	21.240	0.0001
TRICHODERMA	1	122.472153	122.472153	10.404	0.0029
MICORRIZAC	1	36.507216	36.507216	3.101	0.0878
NEMATODO*TRICHODERMA	1	130.057619	130.057619	11.049	0.0022
NEMATODO*MICORRIZAC	1	40.213878	40.213878	3.416	0.0738
TRICHODERMA*MICORRIZA	1	3.484418	3.484418	0.296	0.5902
NEMATODO*TRICHODERMA	1	4.613062	4.613062	0.392	0.5357
erro	32	376.680409	11.771263		
Total corregido	39	964.050617			
CV (%) =	41.29				
Média general:	8.3083734	Número de observaciones:	40		

Tabla 30. Interacción doble significativa: nematodo / *T. harzianum* para prolina hojas.

	Sin <i>T. harzianum</i>	Con <i>T. harzianum</i>
Sin nematodo	5,75 Ba	5,86 Aa
Con nematodo	14,36 Aa	7,25 Ab

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical y letras minúsculas diferentes en la horizontal. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

En estos resultados se observa que en la interacción doble, en primera instancia se encontraron diferencias significativas en el efecto del factor nematodo frente al factor *T. harzianum* (tabla 30). Se observó que la prolina fue un 149,73% mayor en tratamientos con presencia de *N. aberrans* sin inóculo de *T. harzianum* (14,36), frente a tratamientos con ausencia del nematodo y ausencia de *T. harzianum* (5,75). En segunda

instancia algo similar ocurre con el efecto del factor *T. harzianum* sobre el factor nematodo. El nivel de prolina tiende a ser mayor en un 98,06% sin *T. harzianum* con presencia del nematodo (14,36), a diferencia de los tratamientos donde se presentó *T. harzianum* (7,25). En ambas instancias de la interacción se evidenció que la presencia de *N. aberrans* aumenta el nivel de prolina, y en esta situación la inoculación con *T. harzianum* disminuye el estrés, por los valores observados en el contenido de prolina.

La concentración de prolina en las raíces de las plantas de tomate fue menor que la concentración encontrada en las hojas, como se observa en la figura 27, los tratamientos con presencia de *N. aberrans* son en general los de mayor concentración de prolina. De acuerdo al análisis de varianza (tabla 31) se encontró que los factores con doble interacción tanto nematodo/ *T. harzianum* como nematodo/micorrización y *T. harzianum*/micorrización se diferenciaron estadísticamente frente a los demás factores.

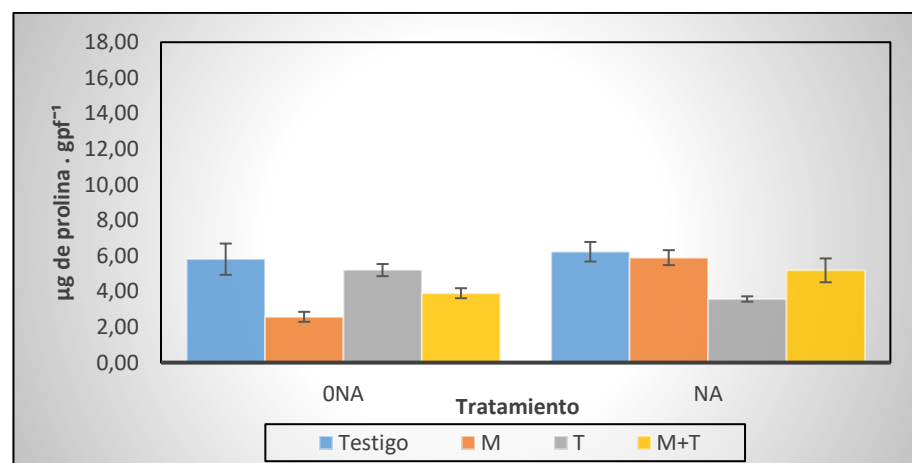


Figura 27. Contenido de prolina en raíces pertenecientes a plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con distintos tratamientos, e infestación (ausencia ONA y presencia NA). Barras en las columnas indican la desviación estándar.

Tabla 31. Análisis de varianza para prolina raíz- Suma de Cuadrados Tipo III.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NEMATODO	1	7.229011	7.229011	5.776	0.0222
TRICHODERMA	1	4.398314	4.398314	3.514	0.0700
MICORRIZAC	1	6.634173	6.634173	5.301	0.0280
NEMATODO*TRICHODERMA	1	10.424879	10.424879	8.329	0.0069
NEMATODO*MICORRIZAC	1	21.139385	21.139385	16.890	0.0003
TRICHODERMA*MICORRIZAC	1	9.395123	9.395123	7.507	0.0100
NEMATODO*TRICHO*MICO	1	0.000001	0.000001	0.000	0.9991
error	32	40.050287	1.251571		
Total corregido	39	99.271173			
CV (%) =	23.34				
Média geral:	4.7938366	Número de observaciones:	40		

Tabla 32. Interacción doble significativa: nematodo / *T. harzianum* para prolina raíz.

	Sin <i>T. harzianum</i>	Con <i>T. harzianum</i>
Sin nematodo	4,18 Ba	4,54 Aa
Con nematodo	6,06 Aa	4,37 Ab

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical y letras minúsculas diferentes en la horizontal. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

Los resultados de esta variable son similares a los resultados del contenido de prolina en las hojas. Se evidencia que en la presencia del nematodo en interacción con *T. harzianum* y micorrización los niveles tienden a ser mayores a diferencia que los tratamientos donde estuvo ausente el nematodo (tabla 32). Es así que, se encontraron diferencias significativas del efecto del nematodo en la acumulación de prolina cuando no hay presencia de *T. harzianum* (6,06) ya que en este caso aumentó en un 44,97% frente a tratamientos en ausencia de nematodo (4,18). En cuanto al efecto de *T. harzianum* frente al nematodo de igual forma la diferencia significativa fue en presencia del nematodo y ausencia del hongo benéfico (6,06) y el aumento representó en un 38,67% frente a tratamientos inoculados con *T. harzianum* (4,37).

Tabla 33. Interacción doble significativa: nematodo/ micorrización para prolina en raíz.

	No micorrizado	Micorrizado
Sin nematodo	5,50 Aa	3,23 Bb
Con nematodo	4,89 Aa	5,53 Aa

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical y letras minúsculas diferentes en la horizontal. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

En relación a la interacción del nematodo y la micorrización se encontró que el mayor efecto del factor nematodo en la concentración de prolina en la raíz, se da en los tratamientos inoculados (5,53) que se diferenciaron significativamente con un aumento del 71,20% frente a los tratamientos sin nematodos (3,23), así mismo se presentaron diferencias significativas en la interacción de la micorrización sin nematodo, siendo esta mayor en un 70,27% en tratamientos no micorrizados y sin presencia de nematodo (tabla 33). En definitiva el contenido de prolina es mayor en los tratamientos donde existe la infección del nematodo y la inoculación con HMA.

Tabla 34. Interacción doble significativa: micorrización/ *T. harzianum* para prolina raíz.

	No micorrizado	Micorrizado
Sin <i>T. harzianum</i>	6,01 Aa	4,23 Ab
Con <i>T. harzianum</i>	4,38 Ba	4,53 Aa

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical y letras minúsculas diferentes en la horizontal. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

Por último, la interacción doble entre ambos hongos benéficos, mostró el efecto de la *T. harzianum* en el contenido de prolina en las raíces. Se observaron diferencias significativas en tratamientos no micorrizados, donde el valor más alto lo obtuvo la interacción entre los tratamientos en ausencia de ambos hongos, con un valor de 6,01 $\mu\text{mol.gr}^{-1}$ lo que representa un aumento del 37,21% frente a la interacción de tratamientos inoculados con *T. harzianum* que presentó 4,38 $\mu\text{mol.gr}^{-1}$. Del mismo modo resultó en el efecto de la micorrización ante la inoculación con *T. harzianum*, siendo su diferencia significativa en el aumento del contenido de prolina del 42,08%.

3.2.4. Contenido malondialdehído (MDA).

El contenido de MDA en el tejido foliar fue mayor que en la raíces y varió entre 7,53 y 11,11 nmoles.g^{-1} . PF tanto en plantas con ausencia de nematodo (0NA) como en presencia (NA) del mismo (Figura 28). Se observaron diferencias en el contenido de la variable entre los tratamientos inoculados con los hongos. En general se observó mayor contenido de MDA en las plantas del tratamiento T (NA), seguido del tratamiento M+T (0NA). Las plantas del tratamiento T (0NA) presentaron los valores más bajos de MDA. El análisis de varianza (tabla 35) determinó dos factores que estadísticamente se

diferenciaron frente a los demás factores, estos son: la interacción nematodo/micorrización y la triple interacción entre nematodo/*T. harzianum*/micorrización.

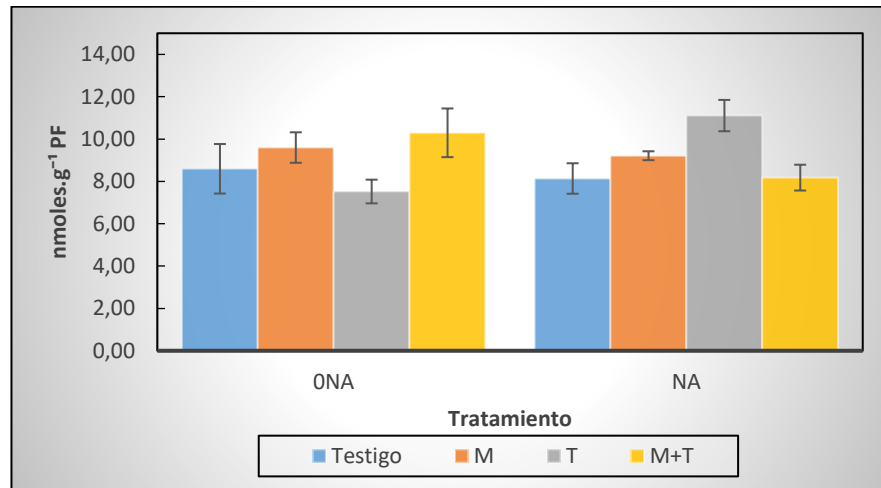


Figura 28. Contenido de MDA en hojas pertenecientes a plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con distintos tratamientos (ausencia ONA y presencia NA) de *N. aberrans*. Barras en las columnas indican la desviación estándar.

Tabla 35. Análisis de varianza para MDA hojas - Suma de Cuadrados Tipo III.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NEMATODO	1	0.242355	0.242355	0.077	0.7828
TRICHODERMA	1	1.521000	1.521000	0.485	0.4912
MICORRIZAC	1	2.306478	2.306478	0.735	0.3975
NEMATODO*TRICHODERMA	1	3.347556	3.347556	1.067	0.3093
NEMATODO*MICORRIZAC	1	19.815557	19.815557	6.317	0.0172
TRICHODERMA*MICORRIZAC	1	3.127335	3.127335	0.997	0.3255
NEMATODO*TRICO*MICO	1	20.851360	20.851360	6.648	0.0147
error	32	100.375062	3.136721		
Total corregido	39	151.586703			
CV (%) =	19.50				
Mé dia general:	9.0819032	Número de observaciones:	40		

Tabla 36. Interacción triple significativa: nematodo en distintas combinatorias para MDA hojas.

	Sin <i>T. harzianum</i>		Con <i>T. harzianum</i>	
	No micorrizado	Micorrizado	No micorrizado	Micorrizado
Sin nematodo	8,59 A	9,59 A	7,52 B	10,29 A
Con nematodo	8,13 A	9,21 A	11,10 A	8,17 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

El efecto del factor nematodo (tabla 36) sobre el contenido de MDA es mayor en los tratamientos donde interactúan la presencia de *T. harzianum* y la ausencia de inóculo de micorrizas, el cual presentó el valor más alto 11,10 nmoles.g⁻¹ PF y se diferencia estadísticamente con los tratamientos sin *N. aberrans* que presentó 7,52 nmoles.g⁻¹ PF. La diferencia que presentan los valores entre si es del 47,60% de contenido de MDA.

Tabla 37. Interacción triple significativa: micorrización en distintas combinatorias para MDA hojas.

	Sin nematodo		Con nematodo	
	<i>Sin T. harzianum</i>	<i>Con T. harzianum</i>	<i>Sin T. harzianum</i>	<i>Con T. harzianum</i>
No micorrizado	8,59 A	7,52 B	8,13 A	8,17 B
Micorrizado	9,59 A	10,29 A	9,21 A	11,10 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD p<0.05).

La presencia de micorrizas presentó diferencias significativas tanto en la interacción en ausencia de *N. aberrans* y presencia de *T. harzianum* como; en la interacción con presencia de *N. aberrans* y presencia de *T. harzianum*, con valores 10,29 nmoles.g⁻¹ PF y 11,10 nmoles.g⁻¹ PF respectivamente, siendo éstos valores superiores a tratamientos no micorrizados.

Tabla 38. Interacción triple significativa: *T. harzianum* en distintas combinatorias para MDA hojas.

	Sin nematodo		Con nematodo	
	No micorrizado	Micorrizado	No micorrizado	Micorrizado
<i>Sin T. harzianum</i>	7,52 A	9,59 A	8,13 B	9,21 A
<i>Con T. harzianum</i>	8,59 A	10,29 A	11,1 A	8,17 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD p<0.05).

Para terminar, el efecto de la inoculación con *T. harzianum* (tabla 38) sobre el contenido de MDA, se presentaron diferencias significativas y tuvo similitud al efecto del nematodo y sus interacciones con la inoculación con HMA, el valor más alto fue de 11,10 nmoles.g⁻¹ PF y se diferencia estadísticamente con los tratamientos sin *T. harzianum* (8,13 nmoles.g⁻¹ PF).

En la figura 29, se presentan los resultados del contenido de MDA en raíces. Se observó que, los tratamientos con ausencia de *N. aberrans* incrementaron los niveles de MDA con respecto a los tratamientos donde estuvo presente el nematodo. Sin embargo, en el segundo caso resultó que el tratamiento T tuvo mayor contenido de esta variable con 2,63 nmoles g⁻¹PF a diferencia del resto de tratamientos. El análisis de varianza (tabla 39) mostró como la presencia de MDA presente la raíz aumentó significativamente por efecto del nematodo, en la doble interacción (*T. harzianum* /micorrización) y en la triple interacción (nematodo/ *T. harzianum* /micorrización), dando diferencias significativas con respecto al resto de los demás factores evaluados.

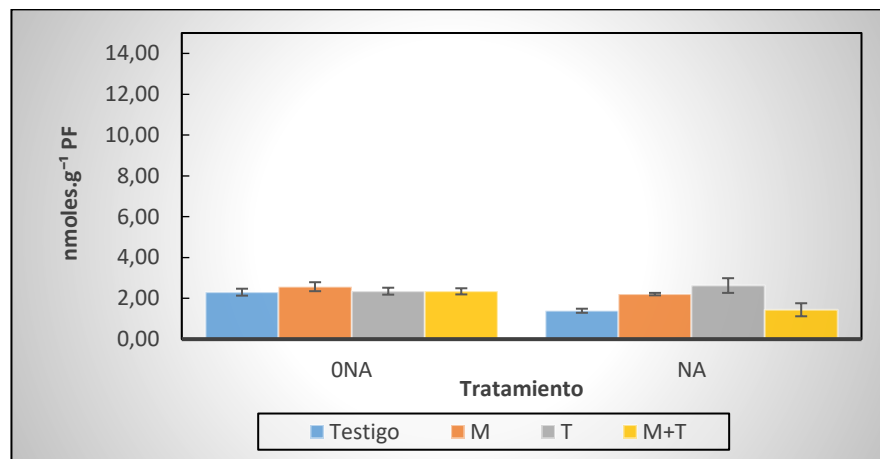


Figura 29. Contenido de MDA en raíz, pertenecientes a plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con distintos tratamientos, en ausencia (ONA) y presencia (NA) de *N. aberrans*. Barras en las columnas indican la desviación estándar.

Tabla 39. Análisis de varianza para MDA raíz - Suma de Cuadrados Tipo III.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NEMATODO	1	2.990149	2.990149	12.852	0.0011
TRICHODERMA	1	0.000002	0.000002	0.000	0.9979
MICORRIZAC	1	0.098554	0.098554	0.424	0.5198
NEMATODO*TRICHODERMA	1	0.080855	0.080855	0.348	0.5597
NEMATODO*MICORRIZAC	1	0.529074	0.529074	2.274	0.1414
TRICHODERMA*MICO	1	4.113567	4.113567	17.681	0.0002
NEMATODO*TRICO*MICOR	1	2.535447	2.535447	10.898	0.0024
error	32	7.445120	0.232660		
Total corregido	39	17.792768			
CV (%) =	22.78				
Mévia general:	2.1169597	Número de observaciones:	40		

Tabla 40. Interacción triple significativa: nematodo en distintas combinatorias para MDA raíz.

	Sin <i>T. harzianum</i>		Con <i>T. harzianum</i>	
	No micorrizado	Micorrizado	No micorrizado	Micorrizado
Sin nematodo	2,30 A	2,56 A	2,34 A	2,34 A
Con nematodo	1,39 B	2,20 A	2,62 A	1,15 B

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

En referencia al factor nematodo (tabla 40) en las distintas combinaciones, se observó una triple interacción entre: sin *N. aberrans*, sin *T. harzianum* y no micorrizado, en donde, los valores de MDA en las raíces fueron con un 62,33% significativamente mayores que en la interacción con nematodo, sin *T. harzianum* y sin micorrizas. De igual manera, se encontró un aumento del nivel de MDA cuando se observó la triple interacción entre: ausencia de *N. aberrans*, y presencia de *T. harzianum* y micorrizas proporcionando una diferencia significativa de 67,4% con respecto a la interacción entre presencia de *Nacobbus*, *T. harzianum* y micorrizas en donde el contenido de MDA mostró un valor mínimo.

Tabla 41. Interacción triple significativa: micorrización en distintas combinatorias para MDA raíz.

	Sin nematodo		Con nematodo	
	Sin <i>T. harzianum</i>	Con <i>T. harzianum</i>	Sin <i>T. harzianum</i>	Con <i>T. harzianum</i>
No micorrizado	2,30 A	2,34 A	1,39 B	2,62 A
Micorrizado	2,56 A	2,34 A	2,20 A	1,15 B

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

En el caso del efecto micorrización en el contenido de MDA (tabla 41), se demostró que los niveles de MDA en las raíces muestran diferencias significativas siempre y cuando exista la presencia de *N. aberrans*. Por lo tanto, el nivel de MDA es mayor cuando existe una triple interacción en los tratamientos, con presencia *N. aberrans*, micorrizas y sin *T. harzianum*, con un porcentaje del 52,67% mayor que en la triple interacción de tratamientos no micorrizados donde los niveles fueron menores. De igual forma, existe aumento de MDA cuando se da la interacción triple entre *N. aberrans*, *T. harzianum* y ausencia de micorrizas con respecto a la interacción en la que están presentes los HMA.

Tabla 42. Interacción triple significativa: *T. harzianum* en distintas combinatorias para MDA raíz.

	Sin nematodo		Con nematodo	
	No micorrizado	Micorrizado	No micorrizado	Micorrizado
Sin <i>T. harzianum</i>	2,30 A	2,56 A	1,39 B	2,20 A
Con <i>T. harzianum</i>	2,34 A	2,34 A	2,62 A	1,15 B

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

En el caso de la presencia de *T. harzianum* con sus distintas combinatorias, se pudo destacar que existió un aumento de MDA en la raíz cuando está presente *N. aberrans*. Por consiguiente, cuando se produce una interacción triple entre nematodo, *T. harzianum* y ausencia de micorrización, el nivel de MDA es significativamente mayor con 67,08% con respecto al presente en la triple interacción de *N. aberrans*, en ausencia de micorrizas y ausencia de *T. harzianum*.

3.2.5. Contenido de proteína soluble.

La mayor concentración de proteína soluble se presentó en las hojas a diferencia de las raíces, como se observa en las figuras 30 y 31. El contenido de proteína es mayor en los tratamientos infectados con *N. aberrans* e inoculados con hongos micorrícicos y *Trichoderma* (NA), que presentaron 15,02 y 13,34 $\mu\text{g}/\text{mg}$ respectivamente. En cuanto al análisis de varianza (tabla 43), se observó únicamente que la interacción doble de *Trichoderma* x micorrización presentó diferencias significativas frente a los demás factores en estudio.

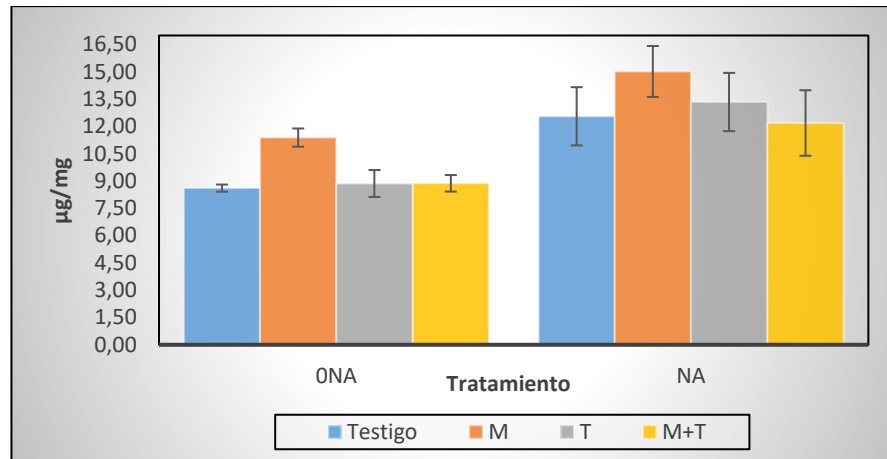


Figura 30. Contenido de proteína en hojas pertenecientes a plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con distintos tratamientos en ausencia (ONA) y presencia (NA) de *N. aberrans*. Barras en las columnas indican la desviación estándar.

Tabla 43. Análisis de varianza para proteína soluble hojas - Suma de Cuadrados Tipo III.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NEMATODO	1	174.269408	174.269408	118.427	0.0000
TRICHODERMA	1	23.213008	23.213008	15.775	0.0003
MICORRIZACION	1	15.277633	15.277633	10.382	0.0025
NEMATODO*TRICHODERMA	1	0.126075	0.126075	0.086	0.7713
NEMATODO*MICORRIZACION	1	1.178133	1.178133	0.801	0.3763
TRICHODERMA*MICO	1	33.533633	33.533633	22.788	0.0000
NEMATODO*TRICHODERMA	1	1.414533	1.414533	0.961	0.3328
error	40	58.861500	1.471537		
Total corregido	47	307.873925			
CV (%) =	10.73				
Mévia general:	11.3062500	Número de observaciones:	48		

Tabla 44. Interacción doble significativa: *T. harzianum* /micorrización para proteína hojas.

	No micorrizado	Micorrizado
Sin <i>T. harzianum</i>	10.60 Ab	13.4 Ba
Con <i>T. harzianum</i>	10.88 Aa	10.33 Aa

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical y letras minúsculas diferentes en la horizontal. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

Por lo que se refiere a los resultados de la interacción doble, en primera instancia se encontraron diferencias significativas en el efecto de *T. harzianum* frente a la micorrización (tabla 44). Se observó que el contenido de proteína fue mayor en un

12,97% en tratamientos sin inóculo de *T. harzianum* pero si de micorrizas, frente a tratamientos inoculado por *T. harzianum* y micorrizado. Algo similar ocurrió con el efecto de la micorrización sobre los tratamientos inoculados con *T. harzianum*, el nivel de proteína tiende a ser mayor en los tratamientos micorrizados sin *T. harzianum*, a diferencia de los tratamientos no micorrizados.

El mayor contenido de proteína soluble en la raíz se observó en los tratamientos con *N. aberrans* (NA) (figura 31). Este contenido varió entre 2,17 a 1,80 $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ mientras que, en tratamientos donde estaba ausente el nematodo el contenido de proteína varió entre 1,63 a 1,33 $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$. Estadísticamente los factores en presencia del nematodo y de HMA presentaron diferencias significativas (tabla 45) con los demás factores en estudio.

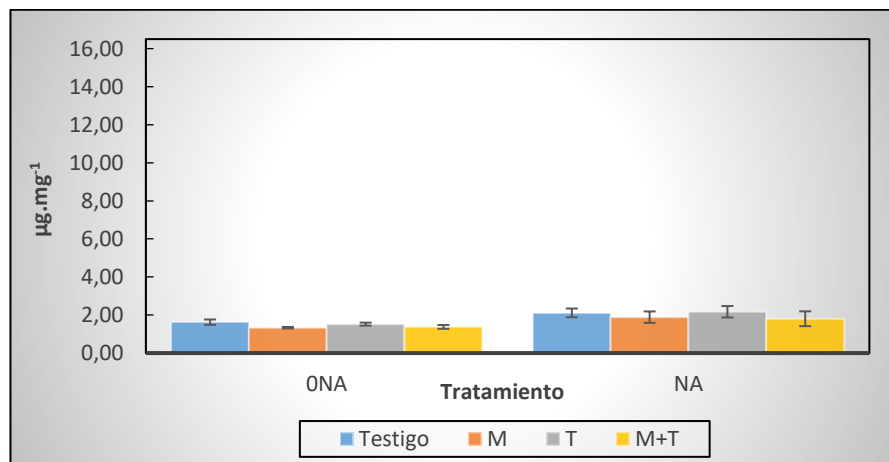


Figura 31. Contenido de proteína en raíces pertenecientes a plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con distintos tratamientos en ausencia (ONA) y presencia (NA) de *N. aberrans*. Barras en las columnas indican la desviación estándar.

Tabla 45. Análisis de varianza para proteínas solubles raíz - Suma de Cuadrados Tipo III.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NEMATODO	1	3.785633	3.785633	80.500	0.0000
TRICHODERMA	1	0.009633	0.009633	0.205	0.6533
MICORRIZACION	1	0.816408	0.816408	17.361	0.0002
NEMATODO*TRICHODERMA	1	0.003675	0.003675	0.078	0.7813
NEMATODO*MICORRIZACION	1	0.043200	0.043200	0.919	0.3436
TRICHODERMA*MICO	1	0.000833	0.000833	0.018	0.8948
NEMATODO*TRICHODERMA	1	0.039675	0.039675	0.844	0.3639
error	40	1.881067	0.047027		
Total corregido		47	6.580125		
CV (%) =	12.47				
Média geral:	1.7387500	Número de observaciones:		48	

Tabla 46. Comparación de medias en efecto de nematodo proteínas raíz.

Tratamientos	Media
Sin nematodo	1.45 B
Con nematodo	2.01 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

Tabla 47. Comparación de medias en efecto de micorrización proteínas raíz.

Tratamientos	Media
Micorrizados	1.60 B
No micorrizados	1.86 A

Las diferencias significativas se leen con letras mayúsculas diferentes en la vertical. Medias seguidas por distintas letras indican diferencias significativas (LSD $p < 0.05$).

El efecto del nematodo frente al contenido de proteína en la raíz se evidencia en la tabla 46, donde se observa que el nivel de proteína en los tratamientos con presencia de nematodos es mayor con diferencias estadísticamente significativas frente a los tratamientos sin la presencia de dicho factor. La diferencia entre ellos es de 28,21%. De modo similar sucede en el efecto que tiene la micorrización (tabla 47) frente al contenido de proteína en raíces, ya que se encontraron diferencias significativas entre tratamientos no micorrizados y micorrizados, los primeros presentaron un incremento del 14,43% del contenido de la variable a diferencia de los tratamientos micorrizados.

3.2.6. Unidades formadores de colonia (UFC) de *T. harzianum*.

En el presente resultado se observa la cantidad de colonias de *T. harzianum* por gramo de suelo en diferentes días después del trasplante (ddt). De acuerdo al análisis estadístico se observaron diferencias significativas en las UFC por gramo de suelo en cada tratamiento por ddt. En el tratamiento T (NA) se observó mayor cantidad de UFC/gr de suelo en las tres evaluaciones (ddt). Con respecto a la evolución de las colonias de *T. harzianum*, de los 20 ddt a 40 ddt no se observó un aumento significativo. Sin embargo, a partir de los 40 ddt el crecimiento fue mayor, alcanzando 44000 UFC/gr suelo a los 110 ddt. El tratamiento M+T (NA) mostró una significativa disminución de colonias con un promedio de 3750 UFC/gr de suelo. En el tratamiento M+T (0NA) no se observaron cambios significativos entre los 20 a 40 ddt, mientras que a partir de este último se alcanzó un incremento considerable hacia los 110 ddt, para esa fecha alcanzaron los 24750 UFC/gr de suelo, y se comprobó un contraste significativo entre

ellos a partir de los datos de comparación de medias (LSD Fisher). Por último, el tratamiento T (0NA) presentó un crecimiento exponencial, aumentando de 5500 UFC/gr de suelo (20 ddt) a los 39250 UFC/gr de suelo (110 ddt). De acuerdo al ANOVA existe diferencia significativa entre los días de análisis (20ddt, 60ddt y 110 ddt).

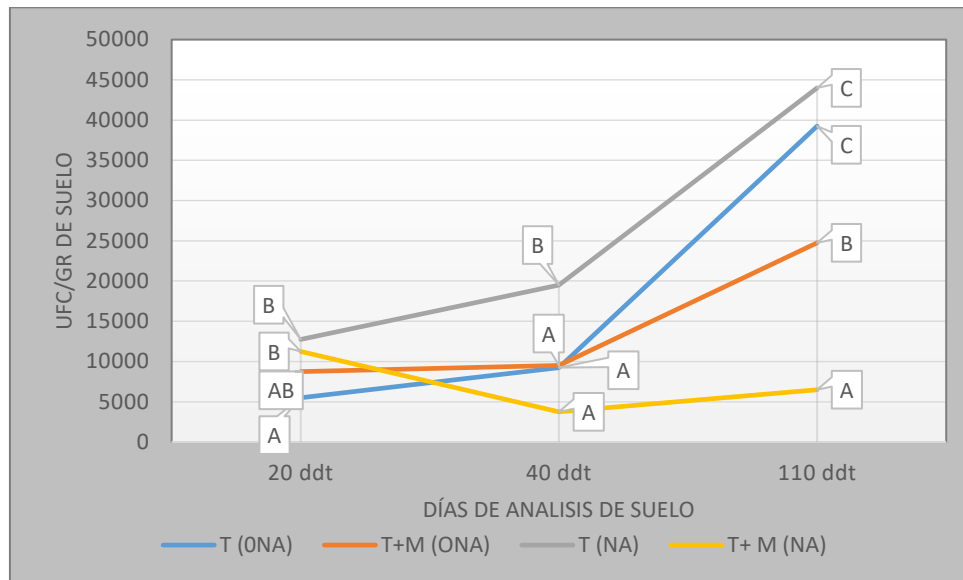


Figura 32. Análisis de suelo para determinar presencia de *T. harzianum* en suelo, de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) con distintos tratamientos de suelo, días después de trasplante (ddt), en ausencia (0NA) y presencia (NA) de *N. aberrans*. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

3.2.7. Porcentaje de Micorrización.

En la tabla 48 se presentan los resultados del porcentaje de micorrización cuantificado por el método de tinción de raíces con azul de Tripán y el porcentaje de viabilidad por medio de la enzima SDH en ausencia y presencia de *N. aberrans*. El porcentaje de micorrización, al final del ensayo, fue significativamente mayor en los tratamientos M+T comparados con aquellos en los que no se inocularon con *T. harzianum* tanto en ausencia como en presencia de *N. aberrans*. El tratamiento M+T (0NA) presentó 41,83 % de micorrización, siendo superior al resto de los tratamientos. La actividad de la enzima succinato deshidrogenasa (SDH) en las estructuras de los HMA no mostró diferencias significativas entre tratamientos. Sin embargo, se observó

que el mayor porcentaje de estructuras vivas del hongo se registró en los tratamientos en ausencia de *N. aberrans*, tanto en presencia como en ausencia de *T. harzianum*.

Tabla 48. Porcentaje de micorrización por tinción con azul de Tripán y viabilidad por la enzima SDH, en raíces de plantas de tomate (*S. lycopersicum* L.) de diferentes tratamientos.. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Nematodo	Método de Tinción	Tratamientos	
		M %	M+T %
Ausencia <i>N. aberrans</i> (ONA)	Tripan	25,01 A	41,83 B
Presencia <i>N. aberrans</i> (NA)	Tripan	22,13 A	33,32 B
Ausencia <i>N. aberrans</i> (ONA)	SDH	12,90 A	10,76 A
Presencia <i>N. aberrans</i> (NA)	SDH	8,98 A	8,29 A

3.3. Evaluación. de los Tratamientos Sobre la Multiplicación de *Nacobbus aberrans*

3.3.1. Número de huevos totales y número de huevos por gramo de raíz.

De acuerdo al análisis de varianza, se observaron diferencias significativas (tabla 49) entre los tratamientos en estudio. El testigo presentó la mayor cantidad de huevos/gr de raíz diferenciándose en un 71,39% en relación al tratamiento inoculado con HMA en combinación con *T. harzianum*, A su vez este tratamiento determinó valores inferiores para ambas variables, seguido del tratamiento Mico y del tratamiento T.

Tabla 49. Número de huevos por raíz y números de huevos por gramo de raíz de plantas de tomate (*S. lycopersicum* L.) de diferentes tratamientos. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Tratamiento	Total número huevos/tratamiento	Media huevos/gr de raíz
Testigo	1032900	430 B
M	364200	141 A
T	494200	298 AB
M+T	244900	123 A

3.3.2. Factor de reproducción (Fr).

El incremento de la población de *N. aberrans* en todos los tratamientos fue significativamente menor respecto al testigo, siendo el tratamiento en presencia de ambos hongos benéficos el que menor valor presentó con un Fr de 7,0; Esto significa que la asociación de HMA y *T. harzianum* disminuyó significativamente la población del nematodos en un 93%, frente a los tratamientos dónde actuaron por sí solos.

Tabla 50. Factor de reproducción de *N. aberrans*.

Tratamiento	Población final (Pf)	Población inoculada (Pi)	Factor de reproducción (Fr)
Testigo	232830	7500	31,0
M	72840	7500	9,7
T	128800	7500	17,1
M+T	52500	7500	7,0

CAPÍTULO IV

DISCUSIÓN

Discusión

4.1. Evaluación de Variables Morfológicas y Fisiológicas

Teniendo en cuenta los resultados de altura, índice de verdor, fotosíntesis, transpiración, conductividad estomática, eficiencia del uso del agua y conductividad relativa, se evidencia que, la inoculación con *Rhizophagus intraradices* (M), *T. harzianum* (T) y la combinación de ambos microorganismos rizosféricos (M+T), tanto en ausencia como en presencia de *Nacobbus aberrans*, obtuvieron en varias ocasiones mejores respuestas con respecto al tratamiento testigo. Estos resultados ponen en evidencia la compatibilidad de los microorganismos estudiados y el papel fundamental que podrían tener en el crecimiento de las plantas afectadas por el nematodo.

Con la aplicación de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) se obtuvo un efecto positivo en todos los estados fenológicos en la variable altura, diferenciándose de los demás tratamientos. Dentro de los beneficios que aportan los HMA a las plantas está la promoción de su crecimiento mediante la actividad estimulante de las hormonas vegetales (Khalil *et al.*, 1994; Allen *et al.*, 2003). La simbiosis micorrícica estimula la actividad metabólica radical y probablemente aumente la síntesis de citocininas en las raíces (Salisbury y Ross, 1992). Las mencionadas fitohormonas activan la división celular y en consecuencia el crecimiento de los diferentes órganos de la planta (Walch-Liu *et al.*, 2000). Los resultados de este trabajo se asemejan a los presentados por Díaz Franco *et al.* (2013), que indicaron que *R. intraradices* incrementó significativamente la altura en un 12%. El efecto de *T. harzianum* mostró capacidad bioestimulante a los 50 y a los 65 días después del trasplante (ddt) superando al testigo y a los demás tratamientos. Windham *et al.* (1986), afirman que *T. harzianum* produce un factor regulador de crecimiento sobre plantas de tomate, tabaco y rábano. Se tienen reportes que *T. harzianum.*, induce el crecimiento vegetal e incrementa la respiración durante la germinación. Además, acelera el desarrollo de los tejidos meristemáticos primarios, los cuales aumentan el volumen, la altura y también el peso de la planta (Moity, 1982; Miranda *et al.*, 1998; Gravel *et al.*, 2007; Shores y Harman, 2008). Este hongo secreta fitohormonas como el ácido indolacético, el cual estimula la germinación, el crecimiento y el desarrollo radicular, mejorando la asimilación de nutrientes (González *et al.*, 1999). Por otra parte, el tratamiento con la asociación de los hongos benéficos

(M+T) no mostró diferencias significativas con el tratamiento donde se inoculó solo con HMA. Los mayores valores se observaron a los 20 ddt, 35 ddt, 50 ddt y 65 ddt en ausencia del nematodo (0NA), comparado con los tratamientos en presencia del nematodo, lo que determina un efecto beneficioso de la doble inoculación, sobre la altura de las plantas, evidenciando las propiedades de bioestimulación y promotoras del crecimiento de estos microorganismos.

El índice de verdor medido con el SPAD, fue mayor en las plantas en ausencia del nematodo (0NA), el tratamiento con micorrizas sobresalió tanto en presencia como ausencia de *N. aberrans*, lo cual coincide con Díaz Franco *et al.* (2013) donde se indicó que la inoculación con *R. intraradices* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum*) incrementó significativamente los valores de SPAD, el cual se correlaciona con el contenido de clorofila y la absorción de nutrientes en comparación con las plantas testigo (Sims & Gamon, 2002). El aumento en los valores de SPAD en las plantas micorrizadas, puede deberse a que la actividad simbiótica permite un mejor aprovechamiento de los nutrientes poco móviles o inmóviles del suelo. El efecto de *T. harzianum* sobre el índice de verdor en las plantas fue diverso, presentando incrementos significativos a los 50 ddt respecto a los demás tratamientos. Los resultados de esta investigación coinciden con los encontrados por Ruiz *et al.* (2018) en plantas de jitomate (tomate) inoculadas con *T. harzianum*, en los cuales las mediciones del SPAD y altura fueron mayores significativamente a los del testigo, creciendo en invernadero. El tratamiento en combinación de los dos microorganismos (M+T) mostró igual efecto que el tratamiento tratado con HMA, ya que los valores de SPAD fueron altos en cada caso. Esto concuerda con el trabajo de Colla *et al.* (2015) donde las mediciones de SPAD y fluorescencia de la clorofila en lechuga, tomate y calabacín fueron mayores en la combinación *Glomus intraradices* + *Trichoderma* sp, seguido de una inoculación única de *Glomus* o *Trichoderma* sp. Según estos resultados, las cepas de HMA y *T. harzianum* evaluadas por separado o en asociación son una buena alternativa para usarse como promotores del crecimiento vegetal y mejoradores de la calidad de los cultivos hortícolas.

En lo referente a la conductancia estomática, los tratamientos con mejor respuesta en base a la lectura del porómetro fueron los tratamientos en ausencia del nematodo (0NA), respecto a los que fueron inoculados con nematodos (NA), demostrando así, el efecto de estos parásitos en el cierre de estomas. Los nematodos

inducen daño en las raíces generando un estrés similar al estrés hídrico provocado por otros motivos, evidenciado también en los resultados de la variable transpiración medidos con el IRGA. El tratamiento donde se inoculó con *T. harzianum* presentó mayor resistencia estomática a diferencia de los demás tratamientos. Esto se atribuye a la capacidad bioestimulante que posee el hongo generada por la producción de metabolitos que provocan un incremento en el crecimiento vegetal. El tratamiento con HMA y el tratamiento en asociación M+T, en el parámetro conductancia estomática no tuvieron diferencias entre ellos pero obtuvieron mayor valor que el testigo tanto en presencia como en ausencia de *N. aberrans*. Querejeta *et al.* (2003), encontraron que el uso de hongos micorrícicos provocó un aumento de la conductancia estomática en una especie de crecimiento lento como *Olea europaea ssp. sylvestris* pero no así en una especie de crecimiento rápido como *Rhamnus lycioides*. La elevada tasa de transpiración en el tratamiento con micorrizas puede estar relacionada también con el mayor tamaño de las láminas foliares (Lancheros, 2012). Por otro lado, Birhane *et al.* (2012), encontraron que las plantas que conservaron más agua en situación de estrés, mantuvieron los estomas abiertos durante un período de tiempo más largo, lo que condujo a un incremento de la tasa de asimilación neta. La simbiosis con HMA genera condiciones que conducen a un mejor estado hídrico de la planta, que resulta en una mayor conductancia estomática respecto de las plantas no micorrizadas, lo que coincide con los resultados encontrados en este trabajo.

La función más importante de las plantas es la fotosíntesis, proceso en la que la materia inorgánica es transformada en materia orgánica (fase bioquímica) empleando la energía química (ATP y NADPH) obtenida por medio de la transformación de la energía solar, a través de los pigmentos fotosintéticos, la cadena transportadora de electrones de los tilacoides y la fotofosforilación (fase lumínica). En el presente trabajo, los niveles de fotosíntesis neta fueron mayores en las plantas micorrizadas en presencia de nematodos. Sin embargo, el tratamiento con los dos hongos obtuvo un resultado igual al tratamiento con HMA. El efecto benéfico de los HMA se debe a que su micelio externo se extiende por la rizósfera aumentando la superficie explorada por la raíz, permitiendo la mayor absorción de nutrientes. La inoculación con micorrizas favorece el crecimiento de las plantas, pues incrementa la provisión de recursos en especial fósforo (P), lo que se refleja en una mayor eficiencia fotosintética y una menor incidencia de organismos patógenos (Safir, 1990; Kyde y Gould, 2000). Pimienta (2009), en un

cultivo de tomate realizó la inoculación con micorrizas y obtuvo como resultado el incremento de la fotosíntesis, siendo ésta mayor en individuos tratados con *Glomus intraradices*. En el caso de *Trichoderma*, Sharon *et al.* (2007) sugieren que la promoción del crecimiento se debe a que este hongo tiene la capacidad de solubilizar el manganeso sin importar el pH del medio, ni la disponibilidad del mismo. Este microelemento es requerido para varias funciones fisiológicas, tales como la fotosíntesis, el metabolismo del nitrógeno y la síntesis de compuestos aromáticos como precursores de aminoácidos y hormonas, de fenoles y de lignina; en este sentido se sabe que el manganeso juega un papel importante en el crecimiento y la resistencia a enfermedades de las plantas. (Huber y Wilhelm, 1988)

A partir de los resultados de transpiración y fotosíntesis se calculó la eficiencia en el uso del agua, resultado que están relacionados con los obtenidos en conductancia estomática, transpiración y fotosíntesis neta, y al mismo tiempo con el crecimiento de la plantas. En este trabajo se destacó el tratamiento inoculado con micorrizas, el cual tuvo la mejor eficiencia en el uso del agua. Cui y Nobel (1992) señalan que la colonización por hongos micorrícicos incrementó un 19% la asimilación de CO₂ junto con una mejor absorción de agua y nutrientes.

El daño de las membranas celulares, expresado mediante la liberación de electrolitos, aumentó tanto en hojas como en raíces de las plantas infestadas con nematodos, obteniendo estas últimas una conductividad relativa mayor a la de las hojas, llegando a 36,71% en el testigo en presencia de *N. aberrans* y disminuyendo con los distintos tratamientos ensayados. Resultados similares fueron reportados por Ruscitti *et al.* (2011), quienes demostraron que el daño fue significativamente mayor en las plantas no inoculadas con *R. intraradices* que en las inoculadas. Los mismos autores también observaron que el daño fue mayor en las raíces que en las hojas. Según Beltrano *et al.* (2003), la permeabilidad selectiva de las membranas celulares puede verse afectada por diversos factores ambientales y situaciones de estrés, alterando la integridad celular y la capacidad de retención de sustancias intracelulares.

4.2. Evaluación de Variables Bioquímicas

El contenido de clorofila y carotenoides tanto en el tratamiento con micorrizas, como en el tratamiento con *T. harzianum* presentaron diferencias significativas respecto al resto, ya sea en ausencia o presencia de *N. aberrans*. Los tratamientos en conjunto con los dos hongos fueron los que más promovieron el contenido de los pigmentos frente al testigo. Cabe mencionar que estos resultados son inherentes al método empleado, ya que se determinaron en un único momento, en oposición a lo sucedido en este mismo experimento con las mediciones periódicas de índice de verdor, donde solamente se manifestaron diferencias significativas entre tratamientos a los 50 ddt. Zarco-Tejada *et al.* (2004) sostienen que, en plantas sanas, generalmente se espera que contengan concentraciones altas de clorofila, en relación con plantas poco saludables. La clorofila es el pigmento que interviene directamente en el proceso de absorción y conversión de la energía luminosa, y los carotenoides tienen como principal función proteger el aparato fotosintético mediante el mecanismo de disipación y extinción de energía. En las plantas, la luz destinada a impulsar el proceso fotosintético es absorbida por dos tipos de pigmentos las clorofilas (a y b, verdes) y los carotenoides (amarillo-anaranjados) que son moléculas cromóforas sensibles a la radiación luminosa y muy eficaces en la absorción de luz. (Azcón y Talón, 2008). A mayor contenido de clorofila a y b en las hojas, mayor es la absorción de luz y por ende, se incrementa la fotosíntesis y el crecimiento de la planta. Los resultados obtenidos concuerdan con lo indicado por Ruíz *et al.* (2018) donde la inoculación de plantas con cepas de *Trichoderma* sp tuvo un efecto positivo y promovió la acumulación de clorofila en hojas, lo cual pudiera deberse a su capacidad para solubilizar fosfatos, micronutrientes y cationes minerales útiles para el metabolismo de las plantas. Así mismo, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Çekiç *et al.* (2012) en pimentón micorrizado con *G. intraradices*, el cual presentó las mayores cantidades de clorofila total y carotenoides al compararlo con las plantas no micorrizadas. Wu y Zou (2010) señalan que entre los efectos benéficos de los HMA se les atribuye mayor cantidad de clorofila y alta actividad fotosintética en las plantas.

El ataque de nematodos agalladores tiende a provocar en las plantas síntomas similares al estrés hídrico, debido a que los nematodos alteran las células de los haces vasculares obstruyendo el paso de agua y nutrientes. Para medir el estrés que produce *N.*

aberrans realizamos pruebas bioquímicas tanto en hojas como en raíces, con ausencia y presencia de nematodo. En este sentido, como resultado observamos que el contenido de malondialdehído (MDA), el cual es un indicador de la peroxidación de lípidos, fue mayor en las hojas a diferencia de las raíces. Estadísticamente se encontraron diferencias en los tratamientos con plantas no micorrizadas en presencia de *N. aberrans* en interacción con *T. harzianum*. El aumento en la peroxidación de los lípidos de las raíces en las plantas crecidas en presencia del nematodo, confirmó el daño provocado en las raíces, que además de proporcionar un efecto negativo por afectar el funcionamiento normal de los tejidos genera una predisposición de la planta al ataque de otros microorganismos también patógenos, contribuyendo a la caída de productividad del cultivo (Powell, 1972). El daño por el nematodo comienza con la ruptura de las células por el estilete, continúa con la disolución de las paredes celulares e induce cambios fisiológicos como consecuencia de la introducción de enzimas en el medio celular (Sijmons, 1993). Este trabajo coincide con Biaus (2017), quien encontró diferencias significativas en el contenido de MDA entre plantas micorrizadas y no micorrizadas sometidas a infestación de *N. aberrans*, observando que el contenido de MDA más alto se dio en las plantas no micorrizadas. Con respecto a *T. harzianum*, según Téllez (2017) la presencia de este hongo disminuyó considerablemente el contenido de MDA en el cultivo de cebolla, tanto en hojas como en raíces, resultado no coincidente con el obtenido en este ensayo.

Cuando las plantas son sometidas a situaciones de estrés hídrico, activan determinados mecanismos fisiológicos a fin de evitar o tolerar esa situación adversa. Algunos de estos mecanismos son: 1) aumento en la producción de etileno (Beltrano *et al.*, 1994); 2) reducción en la síntesis de citoquininas; 3) cierre de estomas; 4) senescencia foliar (Sánchez Díaz y Aguirreolea, 2000); 5) ajuste osmótico (Prado, 1997). La prolina es un aminoácido que se sintetiza en presencia de estrés en las plantas y su acumulación frecuentemente se correlaciona con la tolerancia al estrés abiótico o biótico en las plantas (Hare *et al.*, 1998). Ejerce un efecto protector de los tejidos ya que es una de las sustancias responsables de eliminar las especies reactivas de oxígeno. Con esta acción facilita la corrección, por el organismo del potencial redox de las membranas, que generalmente es alterado en situaciones de estrés. Se ha demostrado su actuación en la protección de fosfolípidos de membranas (Hasegawa *et al.*, 2000; Samaras *et al.*, 1995), así como su participación en la fosforilación oxidativa para la generación de ATP donde

ayuda en la compensación de los efectos negativos del estrés (Wyn y Gorham, 1983). Probablemente a raíz de lo expresado, en este trabajo la mayor concentración de prolina se presentó en las hojas respecto de las raíces. Lo mismo se verificó en tratamientos infestados con *N. aberrans*, ya que las concentraciones de este aminoácido tendieron a ser mayor a diferencia a los tratamientos donde estuvo ausente el nematodo. El ataque del nematodo provocó un estrés osmótico en las plantas que dió lugar al incremento de prolina en las plantas. Moreno (2009) manifiesta que la acumulación de prolina, además de inducir ajuste osmótico, protege las membranas y las proteínas de la deshidratación.

El contenido de proteínas solubles, al igual que MDA y prolina fue mayor en las hojas que en las raíces de las plantas de tomate. En las hojas se acumuló mayormente en las plantas atacadas con *N. aberrans*, tanto en los tratamientos inoculados con HMA como con *T. harzianum*. El contenido de proteínas foliares presentes en las plantas se encuentra en estrecha relación con el nivel nutricional de las mismas. Esto es debido a que una de las funciones fundamentales de los microorganismos inoculados es estimular el desarrollo radical de las plantas, lo que posibilita una mayor exploración del sistema y, en consecuencia, una mejor absorción de nutrientes (Alfonso y Leyva Galán, 2006). En el caso de las raíces, la concentración de proteínas solubles fue significativamente mayor en los tratamientos con presencia del nematodo (NA) y en respuesta a la micorrización. Este resultado, el aumento en la concentración de proteínas en plantas atacadas por nematodos coincide con lo expuesto por Taylor y Sasser (1983), quienes señalan que las raíces infectadas por *Meloidogyne*, presentan un metabolismo más acelerado en las agallas, especialmente en los sistemas involucrados en la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, por lo que hay mayor producción de proteínas y menor transporte de sustancias al resto de la planta. Moreno (2009) menciona que la alteración en la expresión de proteínas es una de las respuestas de las plantas cuando se someten a diferentes tipos de estrés, lo cual está directamente relacionado con la reducción o el incremento de la expresión de genes específicos. Esto depende de la naturaleza, duración y severidad del estrés. La mayoría de investigaciones se enfocan en las proteínas que se incrementan durante el estrés porque se cree que puedan tener una función adaptativa o de protección a dicha condición. Entre las más importantes por su efecto protector potencial están las LEA (Proteínas de Embriogénesis Tardía, según su sigla en inglés) involucradas en las vías de síntesis de los osmolitos y las que funcionan como antioxidantes (Bray, 1997; Zhu *et al.*, 2002).

En referencia a la cantidad de unidades formadoras de colonia por gramo de suelo (UFC/g) de *Trichoderma*, y de acuerdo al análisis estadístico, se observaron diferencias significativas en la cantidad de UFC/g en cada tratamiento. Los mayores valores de UFC/g de suelo fueron los tratamientos inoculados solamente por *T. harzianum* en ausencia y presencia del nematodo. La especie de *T. harzianum* empleada en este trabajo, tuvo un efecto positivo en las plantas de tomate ya que las plantas inoculadas con ella presentaron mejor comportamiento que el testigo en las variables determinadas en condiciones de invernadero. Esto coincide con trabajos realizados por Durman *et al.* (2003) quienes evidenciaron el efecto de algunas cepas *T. harzianum* sobre el desarrollo del cultivo, siendo *T. viride* el tratamiento que mostró mejores resultados en todos los parámetros. Según estos resultados, la cepa de *T. harzianum* evaluada pueden ser una buena alternativa para usarse como promotoras del crecimiento vegetal y como una estrategia más dentro del manejo integrado de nematodos agalladores.

Los hongos micorrícicos arbusculares colonizan las raíces de más del 90% de las especies vegetales, para el beneficio mutuo de la planta y el hongo (Harley y Smith, 1983). Esta simbiosis puede aumentar la resistencia a la sequía, por varios mecanismos. En la asociación de tomate con HMA, las hifas fúngicas pueden contribuir a la absorción de agua, siendo *G. intraradices* y *G. mosseae* algunas de las especies más eficaces (Marulanda *et al.*, 2003). El tomate es una especie altamente micotrófica, alcanzando 90% de micorrización con *G. intraradices* B1, en coincidencia con trabajos previos donde este hongo mostró el mejor comportamiento (Ruscitti *et al.*, 2011). El porcentaje de micorrización en ausencia y presencia de *N. aberrans*, mostró que en los tratamientos inoculados solamente con HMA se observaron los menores porcentajes de estructuras de HMA, aunque presentaron un porcentaje de micelio vivo mayor (%SDH). En cambio los tratamientos en los que se combinaron los dos hongos resultaron con mayor porcentaje de micorrización pero menor porcentaje de micelio vivo. Sin embargo, se debe tener en cuenta que los tratamientos inoculados con HMA tuvieron respuestas positivas en variables fisiológicas y bioquímicas. Cordier *et al.* (1996) y Slezack *et al.* (2000), señalaron que en general, se acepta que sólo un alto porcentaje de micorrización en la plantas previa al ataque de nematodos es capaz de incrementar la resistencia/tolerancia y compensar los daños causados a la planta.

La interacción de estos dos microorganismos no presentó efectos sinérgicos, sin embargo presentaron efecto de aditivos, que muchas veces potenciaron los beneficios en la planta y otras por el contrario, antagónicos o simplemente sin efecto en el crecimiento de las plantas y demás variables tomadas en el trabajo. La multifuncionalidad de los microorganismos en los sistemas agrícolas, se expresa de acuerdo a una serie de factores bióticos, como la competencia con otros microorganismos, la composición biológica del suelo, el reconocimiento planta microorganismo y viceversa. Además, los factores abióticos, como la climatología, las características físicas y químicas del suelo, influyen directamente en el tipo de interacción de estos organismos y la expresión de los efectos benéficos o perjudiciales, determinantes en el desarrollo de las especies vegetales (Marschner y Timonen, 2005; Harman, 2006; Hoitink *et al.* 2006; Siddiqui y Akhtar, 2008; Radjacommare *et al.* 2010).

El efecto de las relaciones entre los dos hongos ha sido estudiado por varios autores en ensayos de germinación de esporas de HMA realizados *in vitro* (McAllister *et al.* 1994a; Fracchia *et al.*, 1998) donde se ha establecido que diferentes especies de *Trichoderma* pueden afectar el porcentaje de germinación de esporas de HMA. De hecho, se han determinado reducciones en el porcentaje de germinación de las esporas por efectos antagónicos de *Trichoderma* spp que produce sustancias solubles en el medio y compuestos volátiles que afectan directamente estas estructuras (McAllister *et al.*, 1994a; Martínez *et al.*, 2013). Por otra parte, algunos autores, afirman que el efecto negativo sobre la cantidad de UFC de *Trichoderma* spp en los tratamientos donde se incluyeron micorrizas arbusculares, observadas en presencia de *N. aberrans*, puede estar relacionado con el momento de la inoculación con HMA. Se determinó una reducción de la población de *Trichoderma* sp en el tratamiento en donde se había inoculado dos semanas antes con *Glomus intraradices*, mientras que no mostraron cambios en el tratamiento inoculado con el HMA al mismo tiempo o dos semanas después (McAllister *et al.*, 1994b). La explicación de dicho comportamiento es que cuando se inoculó *Trichoderma* sp (dos semanas después), los HMA ya se encontraban establecidos en los tejidos de la planta hospedera y por ello es posible que hubieran modificado los exudados radiculares, pudiendo éstos a su vez afectar a las poblaciones de *Trichoderma* sp (Sosa *et al.*, 2006). Por otro lado, Gómez *et al.* (2008), en un trabajo realizado en tomate, encontraron que *M. incognita* no produjo efectos negativos sobre el desarrollo

de los hongos micorrícicos en las raíces del tomate, observándose un alto porcentaje de raíces micorrizadas independientemente de la presencia de *M. incognita*.

4.3. Efecto de los Tratamientos Sobre la Multiplicación de *Nacobbus aberrans*

Al evaluar el efecto de cada tratamiento en la población de *N. aberrans* y el factor de reproducción (FR), se observaron diferencias significativas entre el testigo y el resto de los tratamientos. El testigo presentó la mayor cantidad de huevos/gr de raíz por ende mayor FR, diferenciándose con las plantas de los tratamientos en donde se combinaron los hongos benéficos, los cuales presentaron menor población del nemátodo. La reproducción del nematodo es afectada por diversos factores, tales como temperatura, disponibilidad de alimento, prácticas agrícolas, entre otros (Norton, 1978), por lo que los nematodos de las plantas testigo, al no tener algún factor crítico limitante, presentaron las máximas tasas de multiplicación.

Respecto al efecto de las micorrizas algunos autores señalan que el aumento de la tolerancia de las plantas, parece estar relacionado con la nutrición asistida por las micorrizas en lugar de un efecto supresor directo de los HMA sobre el nematodo (Pinochet *et al.*, 1996). Las infecciones radicales por nematodos patógenos son generalmente menores sobre plantas micorrizadas que sobre plantas no micorrizadas, pero la respuesta puede variar, y los mecanismos involucrados son controversiales (Paulitz & Linderman, 1991). En cambio, para el caso de *T. harzianum* el efecto sobre la población de este nematodo se puede resaltar en trabajos de Baños *et al.* (2010), donde los resultados mostraron la capacidad bioestimulante de *Trichoderma* spp., en el control realizado sobre *Meloidogyne* spp. Este efecto es atribuido a la producción de metabolitos estimuladores del crecimiento vegetativo por parte del hongo. Se sabe que *Trichoderma* es un antagonista de excelencia, comprobada su efectividad no solo contra *Meloidogyne* spp sino también sobre numerosos patógenos del suelo que pueden afectar el crecimiento y desarrollo del cultivo. Méndez y Polanco (2006), al aplicar dosis de 8.0 kg/ha de *T. harzianum* en diferentes etapas del cultivo de tomate en invernadero, lograron reducir el grado de infestación de *Meloidogyne* spp. De todo lo planteado hasta ahora se puede deducir que la conjunción de los dos microorganismos, a pesar de que existe una interacción de competencia en presencia de nematodos, los hongos benéficos

tuvieron una acción de efecto aditivo para bajar el número de la población de *N. aberrans* observándose en los resultados que los HMA fueron los que tuvieron un mayor efecto en esta interacción.

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES GENERALES

Conclusiones Generales

Bajo las condiciones experimentales en que se desarrolló esta investigación podemos concluir lo siguiente:

- El uso de microorganismos benéficos (HMA y *T. harzianum*) en forma de bioinsumos es una alternativa a ser considerada como una herramienta válida dentro de un plan integrado de manejo biológico para el control de nematodo *N. aberrans* en el cultivo de tomate.

- El uso de inóculos de HMA (*R. intraradices*) e inóculos de *T. harzianum* en forma individual o en combinados generaron respuestas positivas en parámetros fisiológicos y bioquímicos, en plantas de tomate infestadas con *N. aberrans*.

- La inoculación con HMA y *T. harzianum* mostró efecto aditivo para reducir la población y el factor de reproducción de *N. aberrans*, teniendo en cuenta que el efecto de las micorrizas fue mayor, además de ejercer un efecto protector y estimulante del crecimiento de la planta.

CAPITULO VI
RECOMENDACIONES

Recomendaciones

La mayoría de los estudios existentes hasta el momento se relacionan con el potencial y efectividad del inóculo de HMA y *T. harzianum* por separado. A partir de este trabajo queda abierta la posibilidad de complementar la información obtenida realizando ensayos de compatibilidad HMA-*Trichoderma*. Esto resulta válido sobre todo si se pretende orientar este tipo de trabajos hacia el uso potencial de esta interacción en un producto biológico, formulado para ser aplicado como complemento en actividades agrícolas y en un sistema de manejo integrado de plagas. Finalmente, cabe señalar que cada nuevo resultado obtenido, en cada ensayo o trabajo de investigación, constituye un aporte a la construcción actual del conocimiento sobre la interacción de las micorrizas con *Trichoderma* y el sistema que conforman con la planta hospedera, especialmente si está afectada por una plaga como *N. aberrans*, contribuyendo a la comprensión de la relación existente, en un sistema tan complejo como la rizósfera.

Bibliografía.

- Adlercreutz, E.A.; Chaves, E.; Mondino, A.; Szczesny.** 2007. Fluctuación poblacional de juveniles del segundo estadio de *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne* sp. bajo condiciones de invernáculos.(Período Sept. 2004 / Oct. 2007). INTA. 2pp.
- Alarcón, A.; González-Chávez, M.C.; Ferrera-Cerrato, R.** 2003. Crecimiento y fisiología de *Citrus volkameriana* Tan & Pasq en simbiosis con hongos micorrízicos arbusculares. Terra 21: 503-511.
- Alcoser, H.; Murguía-Cordova, J.; Murguía, C.** 2006. Efectos de solarización y enmiendas orgánicas contra el nematodo del nudo *Meloidogyne incognita* bajo condiciones de vivero. Universalía 11 (1): 13-22.
- Alfonso, E.T.; Leyva Galán, A.** 2006. Evaluación agrobiológica de la coinoculación micorrizas-rizobacterias en tomate Agronomía Costarricense. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43630106>> ISSN 0377-9424. Último acceso: 19 de marzo de 2020.
- Allen, B.L.; Jolley, V.D.; Robbins, C.W.; Freeborne, L.L.** 2001. Fallow versus wheat cropping of unamended and manure-amended soils related to mycorrhizal colonization, yield and plant nutrition of dry bean and sweet corn. J. Plant Nutr. 24:921-943.
- Allen, M.F.; Swenson, W.; Querejeta, J.I.; Egerton-Warburton, L.M.; Treseder, K.K.** 2003. Ecology of mycorrhizae: a conceptual framework for complex interactions among plant and fungi. An. Rev. Phytopathol. 41: 271-303.
- Argerich, C.** 2011. Manual de Buenas Prácticas Agrícolas en la cadena Tomate. ED.FAO Argentina. Cap 1. Pag.11-28
- Augé, R.M.** 2001. Water relations, drought and vesicular arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza 11, 3-42.
- Avis, T.J.; Gravel, V.; Antoun, H.; Tweddell, R.J.** 2008. Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. Soil Biology & Biochem. 40:1733-1740.

- Azcón, J. y M. Talón.** 2008. Fundamentos de Fisiología Vegetal. McGraw- Hill Inter-american. Madrid.
- Azcón-Aguilar, C.; Jaizme-Vega, M.C.; Calvet, C.** 2002 The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil-borne plant pathogens. En: Mycorrhizal Technology in Agriculture. Gianinazzi S., Schüepp H., Barea J.M., Haselwander K. (Eds). Birkhäuser Verlag, Suiza, pp: 187-198
- Bago, B.; Azcón-Aguilar, C.; Shachar-Hill, Y.; Pfeffer, P.E.** 2000. El micelio externo de la micorriza arbuscular como puente simbiótico entre la raíz y su entorno. pp.78-92. *In:* A. Alarcón y R. Ferrera-Cerrato (eds.). Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. Mundi-Prensa. México.
- Baños, Y.; Concepción, A.; Lazo, R.; González, I. A.; Morejón, L.** 2010. Efecto de enmiendas orgánicas y *Trichoderma* spp. en el manejo de *Meloidogyne* spp. Revista Brasileira de Agroecologia Rev. Bras. de Agroecologia. 5(2): 224-233
- Bates, L.S.; Waldren, R.P.; Teare, I.D.** 1973 Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39, 205–207.
- Bécard, G.; Pfeffer, P. E.** 1993. Status of nuclear division in arbuscular mycorrhizal fungi during in vitro development. Protoplasma 174: 62-68.
- Beltrano, J.; Carbone, A.; Montaldi, E. R.; Guiamet, J. J.** 1994. Ethylene as promoter of wheat grain maturation and ear senescence. Plant Growth Regulation, 15, 107-112.
- Beltrano, J., Ronco, M.G.; Salerno, M.I.; Ruscitti, M.; Peluso, O.** 2003. Respuesta de plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) micorrizadas en situaciones de déficit hídrico y de rehidratación del suelo. Revista de Ciencia y Tecnología 8:1-7.
- Beltrano, J.; Ruscitti, M.; Arango, C.; Ronco, M.** 2013a. Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and p levels. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 13: 123-141.
- Beltrano, J.; Ruscitti, M.; Arango, C.; Ronco, M.** 2013b. Changes in the accumulation of shikimic acid in mycorrhized *Capsicum annuum* L. grown with

application of glyphosate and phosphorus. *Theor. Exp. Plant Physiology*. 25: 125-136.

Berta, G.; Fusconi, A.; Trotta, A. 1993. VA mycorrhizal infection and the morphology and function of root system. *Environ. Exp. Bot.* 33: 159-173.

Biaus, A. 2017. Evaluación de la aplicación de nematicidas y hongos micorrícicos arbusculares sobre un cultivo de berenjena infestado con *Nacobbus aberrans*. Trabajo Final de Carrera Ingeniería Agronómica, Universidad Nacional de la Plata; Facultad de ciencia agrícolas y Forestales.

Birhane, E.; Sterck, F.J.; Fetene, M.; Bongers, F.; Kuyper, T.W. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance photosynthesis, water use efficiency, and growth of frankincense seedlings under pulsed water availability conditions. *Oecologia*; 169(4): 895–904.

Björkman, E. 1960 *Monotropia hypopithys* L. An epiparasite on tree roots. *Physiologia Plantarum*, 13, 308-327. doi: 10.1111/j.1399-3054.1960.tb08034.x

Blee, K.A; Anderson, A.J. 1998. Regulation of arbuscule formation by carbon in the plant. *The Plant Journal*, 16 (5), 523-530

Bonfante-Fasolo P. 1984. Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In *VA Mycorrhiza* (Powell, C. L. and Bagyaraj, D. J., eds). Boca Raton: CRC Press, pp.5-33.

Bongiorno, M.; Larrosa, C.; Maidana, A.; Arenas, M.; Cruz, Y.; López, R.; Gianuzzi, L.; Cap, G. 2009. Biofumigación con recursos locales: el caso de la producción hortícola de los quinteros del Parque Pereyra Iraola. *LEISA Revista de Agroecología*.

Bradford. M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, pp. 248–254.

Brand, D., C.R. Socol, A. Sabu & S. Roussos. 2010. Production of fungal biological control agents through solid state fermentation: a case study on *Paecilomyces lilacinus* against root-knot nematodes. *Micología Aplicada Internacional* 22(1): 31-48.

- Bray, E.A.** 1997. Plant responses to water deficit. *Trends Plant Sci.* 2, 48-54.
- Bruijn, N.; Stemerding, S.** 1968. *Nacobbus serendipiticus*, un planta nematodo parásito nuevo en los Países Bajos. *Países Bajos Journal of Plant Pathology* 74: 227–228.
- Brundrett, M.C.** 2008. Ectomycorrhizas. In: *Mycorrhizal Associations: The Web Resource*. Version 2.0. Date accessed. <mycorrhizas.info>.
- Cabrera, V.A, Dottori, N and Doucet, M.E.** 2017. Histopathology of roots of three tomato cultivars infected with two separate isolates of the false root-knot nematode *Nacobbus aberrans*. *European Journal of Plant Pathology* 148: 393-403. <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-016-1097-1>.
- Cairney, J.W.G.; Ashford, A.E.** 2002. Biology of mycorrhizal associations of epacrids (Ericaceae). *New Phytologist*, 154, 305-326. doi: 10.1046/j.1469-8137.2002.00398.x
- Calvet, C.; Barea, J.M.; Pera, J.** 1995. “In vitro” interactions between the vesicular arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and some saprofitic fungi isolated from organic substrates. *Soil Biol Biochem* 24: 775-780.
- Camarena-Gutiérrez, G.** 2012. Interacción planta-hongos micorrízicos arbusculares. *Revista Chapingo*, 18(3): 409-422.
- Cano, M.** 2011. Interacción De Microorganismos Benéficos En Plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. UNA REVISIÓN, artículo científico. Facultad de Ingeniería Agronómica. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A.
- Castillo, P.G.; Marbán-Méndoza, N.** 1984. Histopatología y desarrollo de *Nacobbus aberrans* Thorne y Allen 1944 en raíces de *Capsicum annuum* y *C. baccatum*. *Agrociencia* 56:85-93.
- Çekiç, F., S. Ünyayar y I. Ortaş.** 2012. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on biochemical parameters in *Capsicum annuum* grown under long term salt stress. *Turkish Journal of Botany*. 36: 63-72.
- Cestoni, F.; De Jovel, G.; Urquilla, A.** 2006. Perfil de negocios de tomate cherry o cereza hacia el mercado de los Estados Unidos (en línea). El Salvador. 73 p. Consultado 5 feb. 2015. http://www.academia.edu/7215115/PERFIL_DE_NEGOCIOS_DEL_TOM

ATE_CHER

RY_O_CEREZA_HACIA_EL_MERCADO_DE_LOS_ESTADOS_UNIDOS

- Chaverri, P.; Castlebury, L.; Samuels, G.; Geiser, D.** 2003. Multilocus phylogenetic structure within the *Trichoderma harzianum* / *Hypocrea lixii* complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2003;27(2):302-313.
- Chaves, E.; Torres, M.S.** 2001. Nematodos parásitos de la papa en regiones productoras de papa semilla en la Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía* 21: 245-259.
- Chet, I.; Benhamou, N.; Haran, S.** 1998. Mycoparasitism and lytic enzymes. pp. 153–169. In: *Trichoderma* and *Gliocladium*. Vol. 2. HARMAN, G.E.; KUBICEK, C.P. (Eds.). Tylor & Francis. Inc. Bristol, PA. USA.
- Clark, S.A.** 1967. The development and life history of the false root-knot nematode, *Nacobbus serendipiticus*. *Nematologia* 13:91-101.
- Colla, G.; Rouphael, Y.; Di Mattia E.; El-Nakhel, C.; Cardarelli, M.** 2015. Co-inoculation of *Glomus intraradices* and *Trichoderma atroviride* acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of vegetable crops. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95:1706-1715. <https://dx.doi.org/10.1002/jsfa.6875>
- Colombo, M.; Del Huerto; Mollinedo, V.; Tapia, A.** 2009. Solarización, antecedentes y experiencias en la Argentina. Pag 5. Proyecto “Tierra Sana” MP/ARG/00/033. Edición: Ing. Agr. Analia Puerta
- Coolen, W.A.** 1979. Methods for the extraction of *Meloidogyne* spp. and other nematodes from roots and soil. pp. 317-329. En: *Root knot nematodes (Meloidogyne species) Systematics, Biology and Control*. (Lamberti, F.y Taylor, C. E., eds.) Academic Press, London.
- Cordier, C.; Gianinazzi, S.; Gianinazzi-Pearson, V.** 1996. Colonisation patterns of root tissues by *Phytophthora nicotiana* var. *parasitica* related to reduced disease in mycorrhizal tomato. *Plant Soil*. 185: 223-232.
- Costilla, M.A., de Ojeda, S.G.; de Gomez, T.H.** 1977. Contribución al estudio del «falso nematodo del nudo» *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 7, 7-8.

- Costilla, M.A., de Ojeda, S.G.; de Gómez, T.H.** 1978. El falso nematode del nudo *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Alien, 1944 (Nematoda: Nacobbidae) en cultivos de papa en Tucumán. III Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Tucumán, Argentina. 6-8 de septiembre, 323-339.
- Costilla, M.A.; Basco, H.J.; Ojeda, S.G.; de Ramallo, N.V.; de Plopler, D.L.** 1980. Recomendaciones generales para el cultivo de papa semilla en Tafí del Valle. Capítulo IV. Plagas y enfermedades. Controles sanitarios. Boletín 134. EEAOC, Tucumán, Argentina, 30-32.
- Costilla, M.A.; Ojeda, S.; de Gómez T.** 1981. Especies de *Meloidogyne* y *Nacobbus aberrans* atacando al tabaco en el noroeste argentino. IV Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Córdoba, Argentina. 19-21 de agosto, 131-132 (Resumen).
- Costilla, M.; Ojeda, S.** 1985. Grado de susceptibilidad y resistencia de plantas cultivadas y no cultivadas al falso nematodo del nudo *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Alien, 1944 en la Argentina. En: Investigaciones Nematológicas en Programas Latinoamericanos de Papa. Vol. 1. Franco, J. & Rincón, H. (Eds). International Potato Center, Lima, Perú, 21-25.
- Costilla, M.A.** 1985. El falso nematodo del nudo *Nacobbus aberrans* (thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944 y su relación con el cultivo de papa en el noreste argentino. Revista Industrial y Agrícola de Tucumán 49:69- 71
- Cristóbal, A.J.; Cid del prado, I.V.; Marbán-Mendoza, N.; Sánchez, G.P.; MoraAguilera, G.; Manzanilla, L.R.H.** 2001. Sobrevivencia de estadios biológicos de *Nacobbus aberrans* en condiciones de campo. Nematropica 31, 229-235.
- Cui, M.; P.S. Nobel.** 1992. Nutrient status, water uptake and gas exchange for three desert succulents infected with mycorrhizal fungi. New Phytol. 122(4): 643–649.
- Da Silva Sousa, C.; Fermino Soares, A.C.; Coimbra J.L.; Da Silva Garrido, M.; Da Silva Machado G.** 2010. Fungos micorrícos arbusculares no controle de *Meloidogyne incognita* em mudas de tomateiro. Revista Caatinga 23: 15-20
- Dehne, H.W.** 1982. Interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens. Phytopathol 72: 1115-1119.

- Del Pino, M.** 2016. Guía didáctica: cultivo y manejo del pimiento. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Agrarias. Curso de Horticultura y Floricultura. pp 1-6.
- Del Pino, M.** 2019. Guía didáctica: cultivo y manejo del tomate fresco. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Agrarias. Curso de Horticultura y Floricultura. pp 2-15
- Díaz Franco A.; Alvarado, C. M.; Ortiz C. F. y Grageda, C. O.** 2013. Nutrición de la planta y calidad de fruto de pimiento asociado con micorriza arbuscular en invernadero. Rev. Mex. Cienc. Agric. 4:315-321.
- Dodd, S.; Lieckfeldt, E.; Samuels, G.** 2013. *Hypocrea atroviridis* sp. nov. the teleomorph of *Trichoderma atroviride*. Mycologia. 2003; 95: 27-40.
- Doucet, M.E.** 1992. Asociaciones entre nematodos fitófagos y malezas en la República Argentina. Agriscientia 9, 103-112.
- Doucet, M.E.; Lax, P.** 2005. El género *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 en Argentina. 6. La especie *N. aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Tylenchida) y su relación con la agricultura. Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria, 59: 5-45.
- Druzhinina, S.; Kubicek, P.** 2005. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters? Journal of Zhejiang University Science. 6(2):100-112. <http://dx.doi:10.1631/jzus.2005>.
- Durman, S.; Menéndez, A.; Godeas, A.** 2003 Evaluación de *Trichoderma* spp., como antagonista de *Rhizoctonia solani* "in vitro" y como biocontrolador del damping off de plantas de tomate en invernadero. Revista Argentina de Microbiología. 2003;31(1):13-18
- EDIFORM.** 2006. VADIAGRO: Principales problemas fitosanitarios. Tomo I. Curridabat, Costa Rica, Edifarm Internacional Costa Rica. 3 ed. 89-92, 193-212 p
- Elad, Y.; Katan, J.; Chet, I.** 1981 Physical, biological and chemical control integrated for soil-borne diseases in potatoes. Phytopathology 70:418-422.

- Elsen, A.; Declerck, S.; De Waele, D.** 2001 Effects of *Glomus intraradices* on the reproduction of the burrowing nematode (*Radopholus similis*) in dioxenic culture. *Mycorrhiza* 11: 49-51.
- Escobar, H.; Lee, R.** 2009. Manual de producción de tomate bajo invernadero (en línea). v.2. 2 ed. Bogotá, Colombia. 180 p.
- Figueredo Rodríguez, M.; Bello Pérez, A.; Piedra Buena, A.; Díez Rojo, M.** 2011. Evaluación del uso de residuos agrícolas como biofumigantes en el control de nematodos. *Centro Agrícola* 38(2):15-19.
- Forbes, P.J.; Ellison, C.; Hooker, J.E.** 1996. The impact of arbuscular mycorrhizal fungi and temperature on root system development. *Agronomie* 16: 617-620.
- Fracchia, S.; Mujica, M.T.; Garcia, I.; Ocampo, J.A.** 1998. Interactions between *Glomus mossee* and arbuscular mycorrhizal sporocarp associated saprophytic fungi. *Plant and Soil* 200: 131-137.
- FUNICA.** 2009. Producción y uso de *Paecilomyces lilacinus* para el control de nematodos fitoparásitos. Ed. Universidad Nacional Agraria, Fac. de Agronomía. Nicaragua. pp. 1-15.
- Gange, A.; Bower, E.; Brown, V.** 1999. Positive effects of an arbuscular mycorrhizal fungus on aphid life history traits. *Oecologia* 120: 123-131.
- Gardezi, K. A.; Talavera-Magaña, D.; Ferrera-Cerrato, R.; Rodríguez-Meave, F.; Larque-Saavedra, M.** 1999. Endomicorriza arbuscular, fertilización nitrogenada, e infección de *Nacobbus aberrans* en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Pp. 127-128 en Avances de Investigación, Inst. de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Montecillo, México.
- Giovanetti, M.; Mosse, B.** 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489- 500.
- Gómez-Leiva.; Rodríguez, M.G.; De la Noval, B.; Miranda, I.; Hernández, M.A.** 2008. Interacción entre el Ecomic® y una población cubana de *Meloidogyne incognita* en tomate. *Rev Protección Veg.* 23: 90-98.
- González S.; C. H., Rodríguez, L.L.; Arjona, C.; Puerta, A.; Fonseca, M.** 1999. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* R. sobre la composición cuantitativa de bacterias, hongos y actinomicetos de la rizósfera de solanáceas y

su influencia en el crecimiento vegetativo. Investigación agraria producción y protección vegetales. 14: 297-306.

González, A.; Franco, J. 1997. Los nematodos en la producción de semilla de papa. En: Producción de tubérculos-semillas de papa: manual de capacitación. Centro Internacional de la Papa (CIP). Fascículo 3.9, 13pp.

Gortari, M.C.; Hours, R.A. 2016. *Purpureocillium lilacinum* LPSC # 876: Producción de conidias en cultivos sobre sustratos sólidos y evaluación de su actividad sobre *Nacobbus aberrans* en plantas de tomate. Rev. Fac. Agron. Vol 115 (2): 239-249.

Gravel, V.; Antoun, H.; Tweddell, R.J. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). Soil Biol Biochem, 1968 - 1977

Guerra Silva, B.E. 2008. Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. Tecnología en Marcha, ISSN 0379-3962, ISSN-e 2215-3241, Vol. 21, N°. 1, págs. 191-201.

Gupta, A.; Sharma, S.; Naik, S.N. 2011. Biopesticidal value of selected essential oils against pathogenic fungus, termites, and nematodes. Int Biodeter Biodeg 65: 703-707.

Hare, P.D.; Cress, W. A.; Van Staden, J. 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. Plant, cell & environment, 21(6), 535-553.

Harley, J.L.; Smith, S.E. (1983). Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, Toronto

Harman, G. 2001 *Trichoderma* spp., including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* and other sp. Deuteromycetes, Moniliales (asexual classification system). Disponible en:

<http://www.Biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/Trichoderma.html>

Harman, G.; Howell, C.; Viterbo, A.; Chet, I.; Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Review Microbiology. Pp. 43-56.

- Harman, G.** 2006 Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*. p;96(2):190-194. 56. Harman G. *Trichoderma harzianum*, *T. viridis*, *T. koningii*, *T. hamatum* (Deuteromycetes: Moniliales). 2003. (Consultado: 18/0619). Disponible en: <http://www.ibun.unal.edu.co/r2r7e.html>.
- Harrison, M.J.; Dewbre, G.R.; Liu, J.** 2002. A Phosphate Transporter from *Medicago truncatula* Involved in the Acquisition of Phosphate Released by Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *The Plant Cell*, Vol. 14, 2413–2429.
- Hasegawa, P.M.; Bressan, R.A.; Zhu, J.K.; Bohnert, H. J.** 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual review of plant biology*, 51(1), 463-499.
- Heath, R.L.; Packer, L.** 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, pp. 189-198.
- Hjeljord, L.; Tronsmo, A.** 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In: *Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. Harman GE, Kubice CP. (Eds). Volumen 2. p.131-151. Taylor & Francis. 1998
- Hoagland, D.R.; Arnon, D.I.** 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Berkeley, Calif.: University of California, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station.
- Hoel, B.; Solhaug, K.** 1998. Effect of Irradiance on Chlorophyll Estimation with the Minolta SPAD-502 Leaf Chlorophyll Meter. The Norwegian Crop Research Institute, Apelsvoll Research Centre, N-2858 Kapp, Norway and Department of Biology and Nature Conservation, Agricultural University of Norway, P.O. Box 5014, N-1432 Ås, Norway.
- Hoitink, H.A.J.; Madden, L.V.; Dorrance, A.E.** 2006. Systemic resistance induced by *Trichoderma* spp.: Interactions between the host, the pathogen, the biocontrol agent, and soil organic matter quality. *Phytopath.* 96:186-189.
- Howell, C.** 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Diseases*. 2003;87(1):4-10.

- Hoyos, C.; L.M.; Orduz, S.; Bissett, J.** 2009. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. Biol. Control. 51:409-416.
- Huber D.M., Wilhelm N.S.** (1988) The Role of Manganese in Resistance to Plant Diseases. In: Graham R.D., Hannam R.J., Uren N.C. (eds) Manganese in Soils and Plants. Developments in Plant and Soil Sciences, vol 33. Springer, Dordrecht
- INDEC.** 2010. Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas 2010.
- Infoagro Systems S.L.** 2015. El cultivo de tomate. Segunda parte (en línea). Madrid, España. s.p. Consultado 17/06/19. Disponible en <http://www.infoagro.com/hortalizas/tomate2.htm>
- INTA (Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria).** 2014. Manejo integrado de plagas. Cultivo de tomate: Guía MIP (en línea). Managua, Nicaragua. 66 p. Consultado 10 may. 2019. Disponible en <http://www.inta.gob.ni/biblioteca/images/pdf/guias/GUIA%20MIP%20tomate%202014.pdf>
- IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute).** 1996. Descriptores para tomate (*Lycopersicon* spp L.) (en línea). 47 p. Consultado 17/06/19. Disponible en https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/73043/Descriptores_tomate_489.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Jaizme-Vega, M.C.; Tenoury, P.; Pinochet, J.; Jaumot, M.** 1997. Interactions between the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and *Glomus mosseae* in banana. Plant Soil. 196: 27-35.
- Jalali, B.L.; Jalali, I.** 1991. Mycorrhiza in plant disease control. In: Handbook of applied mycology: Soil and plants. Edited by D. K. Arora; B. Rai; K.G. Mukerji; G.R. Knudsen. New York, US. MARCEL DEKKER. INC. p. 131-154.
- Jansa, J.; Mozafar, A.; Anken, T.; Ruh, R.; Sanders, I.R.; Frossard, E.** 2002. Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. Mycorrhiza 12:225–234
- Jaramillo, J.; Rodríguez, V.; Guzmán, M.; Zapata, M.; Rengifo, T.** 2007. Manual técnico: Buenas prácticas agrícolas (BPA) en la producción de tomate bajo

condiciones protegidas. Disponible en:<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XF2016002513>

- Jensen, H., Armstrong, J., Jatala, P.** 1979. Annotated Bibliography of Nematode Pests of Potato. International Potato Center and Oregon State University Agricultural Experiment Station Corvallis, Oregon. pp. 14-15.
- Khalil, S.; Loynachan, T.; Tabatabai, M.** 1994. Mycorrhizal dependency and nutrient-uptake by improved and unimproved corn and soybean cultivars. *Agron. J.* 86:949-958.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342014000300014
- Küçük, Ç.; Kivanç, M.** 2004. In vitro Antifungal Activity of Strains of *Trichoderma harzianum*. *Turk J Biol.* 2004;28:111-115.
- Kyde, M.M.; Gould, A.B.** 2000. Mycorrhizal endosymbiosis. In: Bacon, C. W. y J. F. White (eds.). *Microbial endophytes liver*. Marcel Dekker Blackwell. Londres. pp. 161–198.
- Lamovsek, J.; Urek, G.; Trdam, S.** 2013. Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.): Microbes against the pests. *Acta Agriculturae Slovenica* 101: 263-275.
- Lancheros, H.O.** (2012) Caracterización de las micorrizas nativas en agraz *Vaccinium meridionale* Swartz y evaluación de su efecto sobre el crecimiento plantular. Maestría thesis, Universidad Nacional de Colombia.
- Larralde-Corona, C.; Santiago, M.; Sifuentes, A.; Rodríguez, I.; Shirai, K.; Narváez, J.** 2008. Control potential and polyphasic characterization of novel 69 native *Trichoderma* strains against *Macrophomina phaseolina* isolated from sorghum and common bean. *Appl Microbiol Biotechnol.*80:167- 177.
- Lax, P.; Becerra, A.; Soteras, F.; Cabello, M.; Doucet, M. E.** 2011. Effect of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on the false root-knot nematode *Nacobbus aberrans* in tomato plants. *Biol Fertil Soils* 47:591–597.

- Linderman, R.G.** 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizal on the presence of arbuscular mycorrhizal spores in a hize and soil microbial interactions. In Mycorrhizals wedish long-term field experiment. Swedish J. agric. hize in sustainable agriculture. Ed. G.J. Bethlen- Res. 24: 157-164. falvay and R. G. Linderman. Madison, Wisconsin, USA. ASA Special Publication Number 54. p. 45- ROJAS, I.M.
- Lutts, S.; Kinet, J.M.; Bouharmont, J.** 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L) cultivars differing in salinity resistance, Ann. Bot. 78:389-398.
- Mai, W.; Brodie, B.; Harrison, M.; Jatala, P.** 1981. Nematodos. En: Compendium of Potato Diseases. Hooker, W. J (ed).American Phytopathological Society. pp. 93.101.
- Manzanilla-López, R.H.; Costilla, M.A.; Doucet, M.; Inserra, R.N.; Lehman, P.S.; Cid del Prado-Vera, L; Souza, R.M.; Evans, K.** 2002. The genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): systematics, distribution, biology and management Nematropica 32, 149-227.
- Marschner, H.; Dell, B.** 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. Plant and Soil. 159:89-102.
- Marschner, P.; Timonen, S.** 2005. Interactions between plant species and mycorrhizal colonization on the bacterial community composition in the rhizosphere. Applied Soil Ecology. 28:23-36.
- Martínez, B.; Infante, D.; Reyes, I.Y.** 2013. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Rev. Protección Veg. Vol. 28 No. 1 (2013): 1-11
- Marulanda, A.; Azcón, R.; Ruiz-Lozano, J.** 2003. Contribution of six arbuscular mycorrhizal fungal isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress. Physiologia Plantarum 119:526-533.
- McAllister, C.; Garcia, I.; Godeas, A.; Ocampo, J.** 1994. In vitro Interactions Between *Trichoderma koningii*, *Fusarium solani* and *Glomus mosseae*. Soil Biol Biochem. 1994a;26:1369-1374

- Méndez, M.; Polanco, G.** 2006. Método de control con *Trichoderma harzianum* en casas de cultivo. En Memorias Taller Latinoamericano de Control Biológico de Fitopatógenos con *Trichoderma harzianum* en casas de cultivo. La Habana, Cuba
- Miranda-Hernández, M.; Magdeel-Pérez, G.; Cupull S.R.** 1998. Efecto de *Trichoderma* y *Azotobacter* en la producción de posturas de cafeto. IP Gral. Lázaro Cárdenas dl Río. Trabajo de Diplomado.
- Moity, T.H.** (1982). 1982. Survival of *Trichoderma harzianum* in soil and in Pea and Bean rhizospheres. (1): 121-125. *Phytopathology* 72.
- Molina, R.; Trappe, J.M.** 1982. Lack of mycorrhizal specificity by the ericaceous host *Arbutus menziesii* and *Arctostaphylos uva-ursi*. *New Phytologist*, 90, 495-509.
- Mónaco, C.; Rollán, M.C.** 1999. "Survival and Proliferation in soil of *Trichoderma koningii* in alginate prills.". *WORLD JOURNAL OF MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY*, num.15 (1999): 321 - 323.
- Monardes, H.** 2009. Manual de cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill): Características botánicas. Origen (en línea). Chile. Universidad de Chile 13 p. Consultado 8 oct. 2016. Disponible en http://www.cepoc.uchile.cl/pdf/Manua_Cultivo_tomate.pdf
- Monte, E.** 2001. Understanding *Trichoderma*: Between biotechnology and microbialecolology. *Int Microbiol.* 2001;4:1-4
- Moreno, F.; Liz, Patricia.** 2009. Respuesta de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana*, [S.l.], v. 27, n. 2, p. 179-191, mayo 2009. ISSN 2357-3732. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/11131/37762>.
- Morton, C.O.; Hirsch, P.R.; Kerry, B.** 2004. Infection of plantparasitic nematodes by nematophagous fungi - a review of application of molecular biology to understand infection processes and to improve biological control. *Nematology.* 2004;6:161-170.
- Nasim, G.** 2010. The role of arbuscular mycorrhizae in inducing resistance to drought and salinity stress in crops. p. 119-141. In: Ashraf, M., M. Ozturk, and M.S.A.

Ahmad (Eds.). Plant Adaptation and Phytoremediation. SpringerVerlag, Berlin Heidelberg.

Nico, I.; Monaco, I.; Del Bello, G.; Alippi, H. 2005. Efecto de la adición de enmiendas orgánicas al suelo sobre la capacidad patogénica de *Rhizoctonia solani*: II Micoflora asociada y antagonismo in vitro de los aislados más frecuentes. RIA. 2005;34 (Pt II)(1):29-44.

Nogales García, A.M. 2006. Estudio de la interacción entre el hongo formador de Micorrizas Arbusculares *Glomus intraradices* Schenk y Smith y el hongo *Armillaria mellea* (Vahl:fr) P. Kuhn EN VID, IRTA, Universidad de Barcelona, España.

Norton, D.C. 1978. Ecology of plant-parasitic nematodes. John Wiley and Sons, Inc. United States of America. p 268.

Oostenbrink, R. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mededeelingen der Landbouw-Hoogeschool 66:1-46

Paulitz, T.; Liderman, R.1991. Mycorrhizal Interactions with Soil Organism, Soil and Plants. In: Arora D, Rai B, Mukeyy K, Knudsen G, editors. Handbook of Applied Micology. N.Y: Mareel Dekker. p. 77-129.

Pérez, N. 2004. Manejo Ecológico de plagas. CEDAR: La Habana. Cuba. 2004. 296 pp.

Persoon, C.H. 1794. Dispositio methodica fungorum. Römer's neues Magazin Botanische 1: 81–128.

Peterson, L.; Massicote, H.G.; Melville L.H. 2004. Mycorrhizas: Anatomy and Cell Biology. USA: NRC Research Press

Phillips, J.M.; Hayman, D.S. 1970. Improved procedure of clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc. 55:159-161.

Pimienta, B.E.; Zañudo, H.J.; López, A.E. 2009. Efecto de las micorrizas arbusculares en el crecimiento, fotosíntesis y anatomía foliar de plantas jóvenes de Agave tequilana. Act. Bot. Mex, Oct 2009, no.89, p.63-78. ISSN 0187-7151.

- Pinochet, J.; Calvet, C.; Camprubi, A.; Fernández, C.** 1996. Interactions between migratory endoparasitic nematodes and arbuscular mycorrhizal fungi in perennial crops: A review. *Plant and Soil*. 185:183-190.
- Powell, M.T.** 1972. Interactions between nematodes and fungi in disease complexes. *Ann. Rev. Phytopathology*, 9:253 - 274.
- Prado, F.E.** 1997. Fisiología del estrés: Respuestas de las plantas al ambiente. Curso sobre fisiología de la quinua. EPG. UNA. Puno, Perú.
- Puertas, A.; de la Noval, B.M.; Martínez, B.; Miranda, I.; Fernández, F.; Hidalgo-Díaz, L.** 2006. Interacción de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* con *Rhizobium* sp., *Trichoderma harzianum* y *Glomus clarum* en el control de *Meloidogyne incognita* Rev. Protección Veg. Vol. 21 No. 2: 80-89.
- Querejeta, J.I.; Barea, J.M.; Allen, M.F., Caravaca, F.; Roldán, A.** 2003. Differential response of $\delta^{13}C$ and water use efficiency to arbuscular mycorrhizal infection in two aridland woody plant species. *Oecologia* 135:510-515.
- Quilambo, O.A.** 2003. The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *African Journal of Biotechnology* Vol. 2 (12), pp 539-546.
- Radjacommare, R.; Venkatesan, S.; Samiyappan, R.** 2010. Biological control of phytopathogenic fungi of vanilla through lytic action of *Trichoderma* species and *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology and Plant Protection*. 43(1):1-17.
- Radwan, M.A.; Farrag, S.A.A.; Abu-Elamayem, M.M.; Ahmed, N.S.** 2012. Biological control of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato using bioproducts of microbial origin. *Applied Soil Ecology* 56: 58-62.
- Ramos, J.; Franco, J.; Ortuño, N.; Oros, R.; Main, G.** 1998. Incidencia y severidad de los nematodos parásitos del cultivo de papa, *Nacobbus aberrans* y *Globodera* spp. y determinación de especies de *Globodera* spp. en Bolivia. IBTA/PROINPA, Cochabamba, Bolivia. 198 pp.
- Reddy, S.M.; Ram, R.; Pavan, K.P.** 2005. Molecular methods for research on arbuscular mycorrhizal fungi in India: Problems and prospects. *Current Science*, 89(10), 1699-1709. Obtenido de <http://www.iisc.ernet.in/currsci/nov252005/1699.pdf>

- Rhodes, L.H.; Gerdemann, J.W.** 1975. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. *New Phytologist* 75, 555–561.
- Ruíz, M.; Ornales, J.; Olivas, G.; Acosta, C.; Sepúlveda, D.** 2018. Efecto de *Trichoderma* spp. y hongos fitopatógenos sobre el crecimiento vegetal y calidad del fruto de jitomate. *Rev. mex. fitopatol* vol.36 no.3 Texcoco oct./dic. 2018.
- Ruscitti, M.; Arango, M.C.; Ronco, M.; Beltrano, J.** 2011. Inoculation with mycorrhizal fungi modifies proline metabolism and increases chromium tolerance in pepper plants (*Capsicum annuum*L.). *Braz. J. Plant Physiol.*, 23: 15-25.
- Ryan, M.H.; Graham, J.H.** 2002. Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture. *Plant and Soil*, 244: 263-271.
- Safir, G.R.** 1990. Micorrizas arbúsculo–vesicular y la productividad agrícola. In: Carlson, P. S. (ed.). *Biología de la productividad de cultivos*. AGT Editor, S.A. México, D.F. pp. 201–222.
- Salisbury, F.B.; Ross, C.W.** 1992. *Plant physiology*. 4a. ed. Wadsworth, Belmont. 422 pp.
- Samaras, Y.; Bressan, R.A.; Csonka, L.N.; Garcia-Rios, M.G.; Paino, D.; Rhodes, D.** 1995. Proline accumulation during drought and salinity. In: N. Smirnoff (Ed.), *Environment and Plant Metabolism*, Bios Scientific Publishers, Oxford, pp. 161–187.
- Samuels, G.; Dodd, S.; Lu, B.; Petrini, O.; Schroers, H.; Druzhinina, I.** 2006. The *Trichoderma koningii* aggregate species. *Studies in Mycology*. 2006; 56:67-133
- Samuels, G.J.** 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematic of the genus. *Mycol Res*. 1996; 100 (8) : 923 - 935.
- Sánchez-Díaz, M.; Aguirreolea, J.** 2000. El agua en la planta. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Universidad de Barcelona, 17-30.
- Sanz, L.; Montero, M.; Redondo, J.; Llobell, A.; Monte, E.** 2005. Expression of an b1,3-glucanase during mycoparasitic interaction of *Trichoderma asperellum*. *FEBS Journal*. 2005;272:493-499.

- Sarabia Ochoa, M.; Madrigal Pedraza, R.; Martínez Trujillo, M.; Carreón Abud, Y.** 2010. Plantas, hongos micorrízicos y bacterias: su compleja red de interacciones, *Biologicas*, [online]. Vol. 12, Art. # 1.
- Schaffer, G.F.; Peterson R.L.** 1993. Modifications to clearing methods used in combination with vital staining of roots colonized with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*. 4: 29-35.
- Schubler, A.; Schwarzott, D.; Walker, C.** 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: Phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105, 1413-1421.
- Semillaria.** 2015. Clasificación taxonómica de tomate (en línea). s.p. Consultado 10 may. 2019. Disponible en <http://semillaria.es/index.php/cultivos-ok/29-cultivos/94-taxonomia>.
- Sharon, E.; Chet, I.; Viterbo, A.** 2007. Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix. *Eur J Plant Pathology*. 2007;118:247-258.
- Shoresh, M.; Harman, G.; Mastouri, F.** 2010. Induced Systemic Resistance and Plant Responses to Fungal Biocontrol Agents. *Annu Rev Phytopathol*. 2010;48:21-43.
- Shoresh, M.; Harman, G. E.** 2008. The molecular basis of shoot responses of maize seedlings to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: A proteomic approach. *Plant Physiology*. 147: 2147-2163.
- Shreenivasa, K.R.; Krishnappa, K.; Ravichandra, N.G.** 2007. Interaction effects of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum* and root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on growth and phosphorous uptake of tomato. *Karnataka J Agric Sci*. 20: 57-61.
- Siddiqui, I.A.; Akhtar, S.S.** 2008. Synergistic effects of antagonistic fungi and a plant growth promoting *rhizobacterium*, an arbuscular mycorrhizal fungus, or composted cow manure on populations of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. *Biocontrol Sci. Technol.* 18(3):279-290.
- Sieverding, E.** 1991. Vesicular arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Technical cooperation. CTZ, Eschborn, Germany. Pp. 371.

- Sieverding, E.; Oehl, F.** 2006. Revision of Entrophospora and description of Kuklospora and Intraspora, two new genera in the arbuscular mycorrhizal Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 80: 69–81
- Sijmons, P.C.** 1993. Plant nematode interactions. *Plant molecular biology*, 23: 917-931.
- Sikora, R.; Pocasangre, L.; Felde, A.; Niere, B.; Vu, T.; Dababat, A.** 2008. Mutualistic endophytic fungi and in-plant suppressiveness to plant parasitic nematodes. *Biological Control* 46(1): 15-23
- Sims, D.A.; Gamon, J.A.** 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote sensing of environment*, 81(2), 337-354.
- Singh, Y.P.; Singh, R.S.; Sitaramalah, K.** 1990. Mechanism of resistance of mycorrhizal tomato against root-knot nematodes in *Trends in Mycorrhizal Research*, in *Proceedings of the National Conference on Mycorrhiza*, eds Jalali B. L., Chand H., editors. (Karnal: Haryana Agriculture University), 96.
- Slezack, S.; Dumas-Gaudot, E.; Paynot, M.; Gianinazzi, S.** 2000. Is a fully established arbuscular mycorrhizal symbiosis required for bioprotection of *Pisum sativum* roots against *Aphanomyces euteiches*? *Molecular Plant Microbiology Interaction*. 13: 238- 241.
- Smith, S.E.; Read, D.J.** 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, Londres. 787 pp
- Solano, T.** 2017. Generacion de alternativas agroecológicas para el manejo de nematodos agalladores *Meloidogyne* spp. en cultivo de tomate en la provincia de Loja. Loja.
- Sosa, T.R.; Sánchez, J.; Morales, E.; Cruz, F.** 2006. Interacción micorrizas arbusculares *Trichoderma harzianum* (Moniliaceae) y efectos sobre el crecimiento de *Brachiaria decumbens* (Poaceae) *Acta Biológica Colombiana*, Vol. 11 No. 1, 2006 51 Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

- Sosa-Moss, C.** 1988. Los nematodos en la producción de papa. Memorias Curso Internacional sobre Tecnología de Producción de papa. Toluca, México. INIFAP, CIFAP-MEX, C.E. TOLUCA, PRECODEPA.
- Stocco, M.; Mónaco, C.; Cordo, C. (2010).** A comparison of preservation method for *Trichoderma harzianum* cultures. Revista Iberoamericana de Micología, 27(4), 2013-2015.
- Taylor, L.A.; Sasser, J.N.** 1983. Biología, identificación y control de los nemátodos de los nódulos radicales (especies de *Meloidogyne*). Universidad de Carolina del Norte. Traducido por Carlos Sosa- Moss. México. Pp. 23.
- Téllez, V.J.** 2017. Efecto de trichoderma asperellum en plantas de cebolla (*allium cepa* l.) y frijol (*phaseolus vulgaris* l.) sometidas a estrés por cobre o salinidad. Tesis (Doctorado en Ciencias en Desarrollo de Productos Bióticos), Instituto Politécnico Nacional, CEPROBI, 2017, 1 archivo PDF, (81 páginas). tesis.ipn.mx
- Tonelli, B., Rothman, S.** 2007. Cultivo de Tomate. Universidad Nacional de Entre Ríos, Facultad de Ciencias Agropecuaria. Catedra Cultivos Horticultura.
- Troe, Z.I.; Loynachan, T.E.** 2003. Endomycorrhizal fungal survival in continuous corn, soybean, and fallow. Agron. J. 95: 224-230. http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/61_4/PDF/11_MICORRIZAS.pdf
- Valero, A.** 2009. Hacia una sustentabilidad global: la eliminación del bromuro de metilo. Foro Internacional Científico Tecnológico EEAOC. INTA, Programa Nacional Cultivos Industriales.
- Veremis J.C, Cap G.B and Roberts P,A.** 1997. A search for resistance in *Lycopersicon* spp. to *Nacobbus aberrans*. Plant Disease 81: 217-221. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.2.217>
- Verma, M.; Brar, S.K.; Tyagi, R.D.; Surampalli, R.Y.; Valéro, J.R.** 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. Biochemical Engineering J. 37:1-20.
- Vinale, F.; Marra, R.; Scala, F.; Ghisalberti, L.; Lorito, M.; Sivasithamparam, K.** 2006. Major secondary metabolites produced by two comercial *Trichoderma*


strains active against different phytopathogens. *Letters in Applied Microbiology*. 2006;43:143-148.

- Vinale, F.; Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L.; Marra, R.; Barbetti, M. J.; Li, H.; Woo, S.L.; Lorito, M.** 2008. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 72: 80-86.
- Walch-Liu, P.; Neumann, G.; Bangerth, F.; Engels, C.** 2000. Rapid effects of nitrogen form on leaf morphogenesis in tobacco. *J. Exp. Bot.* 51(343): 227–237.
- Wellburn, A.R.** 1994. The spectral determination of chlorophyll a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant. Physiol.*, 144: 307-313.
- Windham, M.T.; Elod, Y.; Baker, R.A.** 1986. Mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology*. pp;76:518-521
- Woo, L., Scala, F., Ruocco, M.; Lorito, M.** 2006. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology*. 2006;96:181-185.
- Wu, Q.; Zou, Y.** 2010. Beneficial roles of arbuscular mycorrhizas in citrus seedlings at temperature stress. *Scientia Horticulturae* 125: 289-293.
- Wyn, J.; Gorham, J.** 1983. Physiological effects of salinity: scope for genetic improvement. In: Improvement and management of winter cereals under temperature, drought and salinity stresses. Proceeding of the International Symposium, Cordoba, Spain. P.177-201.
- Yaghoobi J, Kaloshian I, Wen Y and Williamson VM.** 1995. Mapping a new nematode resistance locus in *Lycopersicon peruvianum*. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 457- 464. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00222973>
- Yang, Z.; Yu, Z.; Lei, L.; Xia, Z.; Shao, L.; Zhang, K.; Li, G.** 2012. Nematicidal effect of volatiles produced by *Trichoderma* sp. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 15(4): 647-650.
- Yao, Q.; Li, X.; Weidang, A.; Christie, P.** 2003. Bi-directional transfer of phosphorus between red clover and perennial ryegrass via arbuscular mycorrhizal hyphal links. *Eur. J. Soil Biol.*, 39, 47-54.

- Yu, T.E.; Egger, K.N.; Peterson, R.L.** 2001. Ectendomycorrhizal associations-characteristics and functions. *Mycorrhiza*, 11, 167-177. doi: 10.1007/s005720100110
- Zamudio, G.V.; Carballo, Q.A.; Marban, M.N.** 1987. Gama de hospedantes y evaluación de daño de *Nacobbus aberrans* en hortalizas comerciales. Memorias del Congreso Nacional de Fitopatología, Morelia, Michoacán, México. p.84
- Zarco-Tejada, P.J.; Miller, J.R.; Morales, A.; Berjon, A.; Aguera, J.** 2004. Hyperspectral indices and model simulation for chlorophyll estimation in open-canopy tree crops. *Remote Sens. Environ.* 90:463-476.
- Zhu, J.K.; Scumaker, K.S.; Xiong, L.** 2002. Cell signalling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell* 14, 165-183.

ANEXOS.



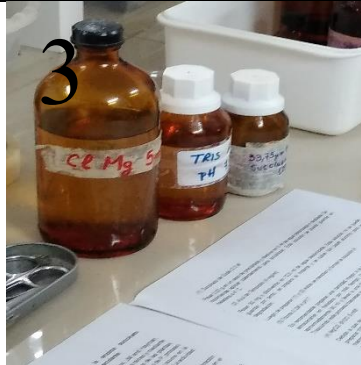



Anexo 1. Procedimiento en laboratorio para determinar prolina.

		
<p>Se pesan 100 gr, de raíz o de hoja y se coloca N líquido.</p>	<p>Se macera y se añade Ácido Sulfosalicínico al 3% (1,5 ml raíz; 2ml hojas)</p>	<p>Se pasa la solución a un tubo eppendorf de 2ml, se centrifuga por 15 min.</p>
		
<p>Se realiza una solución 1,25 gr de ninhidrina +30 ml de Acido. acético, y 20 ml de Ácido fosfórico</p>	<p>Se toma 1 ml del sobrenadante se coloca en un tubo de 5 ml+ 1 ml de solución preparada. Calentar a BM hieviendo 1 hora</p>	<p>Se enfría rápidamente usando hielo</p>
		
<p>Se agrega 2 ml de tolueno en el tubo de ensayo y se agita 15 seg usando un vórtex.</p>	<p>Se deja reposar hasta que exista separación de 2 fases</p>	<p>Se realiza la medición de absorbancia en el electrofotometro</p>

Anexo 2.. Procedimiento en laboratorio para determinar MDA.

		
<p>Se pesan 200 gr, de raíz o de hoja y se coloca N líquido.</p>	<p>Se macera y se añade TCA al 0,1% (1,2 ml raíz; 1,5ml hojas)</p>	<p>Se pasa la solución a un tubo eppendorf de 2ml, se centrifuga a 12000 rpm 15'</p>
		
<p>Se realiza una solución MDA de 50ml (20% de TCA + 0,01% BHT + 0,5% de TBA)</p>	<p>Se toma 1 ml del sobrenadante se coloca en un eppendorf + 1 ml de solución preparada.</p>	
		
<p>Se calienta en BM hirviente durante una hora</p>	<p>Se enfrían en baño de hielo</p>	<p>Se realiza la medición en de absorbancia en el electrofotómetro</p>

Anexo 3. Procedimiento en laboratorio para determinar proteína.

 <p>1</p>	 <p>2</p>	 <p>3</p>
<p>Se pesan 100 gr, de raíz o de hoja y se coloca N líquido.</p>	<p>Se macera y homogenizan en un mortero con 1 ml del buffer de extracción (TRIS 50 mM, EDTA 1mM, PVPP insoluble 1%, MeSH 0,1% a pH 7,5) a 4 °C. Se pasa la solución a un tubo eppendorf de 2ml.</p>	
 <p>4</p>		 <p>6</p>
<p>Se centrifuga 10.000 g durante 10 minutos a 4°C.</p>	<p>Se tomaron 20 µl del sobrenadante y se le agregó 1 ml del reactivo Bradford (Azul Brillante de Coomassie G-250 0,021% (p/v) etanol 4,7% (p/v) y ácido fosfórico 8,5% (p/v)) y se agita en el vórtex 15 seg. , y se realiza la lectura de absorbancia a 595 nm en el electrofotómetro</p>	

Anexo 4. Evaluación de las unidades formadoras de colonia de *T. harzianum* por gramo de suelo de la rizósfera de las plantas, mediante la técnica del suelo diluido en placa.

		
<p>Se tomó muestra de suelo de tratamientos y se dejó secar durante 72 horas,</p>	<p>Las muestras se tatan, se homogenizan y se pesan 5 gr</p>	<p>Se colocan 50 ml de agua a los 5 gr de suelo, y se agita por 15 minutos.</p>
		
<p>Se pipetea 1 mL de dilución madre 1:10,</p>	<p>Se tomó una alícuota de 1 ml de dilución madre logrando una dilución 1:100</p>	<p>Luego, de esta última dilución se realizó una nueva logrando una dilución de 1:1000, se coloca en caja Petri, y se añade 1 mL de fungicida selectivo</p>
		
<p>Se coloca el medio selectivo (TSM) en las cajas</p>	<p>Se llevan las cajas a incubar a 26 grados por 5 días para que se desarrolle el hongo, y se procede a contar las colonias de <i>Trichoderma</i>.</p>	