



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA  
SEDE GUAYAQUIL**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOCONTROLADOR DE HONGOS  
ASEXUALES AISLADOS DE PLANTAS DE BANANO (*MUSA SPP. L.*)  
FRENTE A NEMATODOS FORMADORES DE AGALLAS DEL GÉNERO  
*MELOIDOGYNE SPP***

*Trabajo de titulación previo a la obtención  
del título de Ingeniera en Biotecnología*

**AUTOR:**

GIOVANNA ABIGAIL CARPIO PONCE

**TUTORES:**

MSc. MARÍA ALEJANDRA DE LA CRUZ MORA

**GUAYAQUIL - ECUADOR**

**2025**


**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

Yo, **Giovanna Abigail Carpio Ponce**, con documento de identificación N°0927709717, manifiesto que:

Soy el autor y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Guayaquil, 08 de agosto del año 2025

Atentamente,



Giovanna Abigail Carpio Ponce

CI: 0927709717

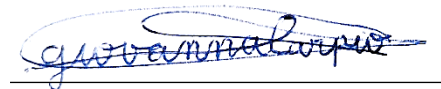
**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, **Giovanna Abigail Carpio Ponce**, con documento de identificación N°0927709717, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo experimental, **EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOCONTROLADOR DE HONGOS ASEXUALES AISLADOS DE PLANTAS DE BANANO (*MUSA SPP. L.*) FRENTE A NEMATODOS FORMADORES DE AGALLAS DEL GÉNERO *MELOIDOGYNE SPP***, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniera en Biotecnología*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 08 de agosto del año 2025

Atentamente,



Giovanna Abigail Carpio Ponce

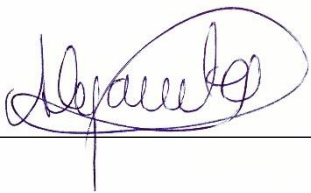
CI: 0927709717

## CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, **María Alejandra de la Cruz Mora** con documento de identificación N° 1003233689, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOCONTROLADOR DE HONGOS ASEXUALES AISLADOS DE PLANTAS DE BANANO (*MUSA SPP. L.*) FRENTE A NEMATODOS FORMADORES DE AGALLAS DEL GÉNERO *MELOIDOGYNE SPP***, realizado por **Giovanna Abigail Carpio Ponce**, con documento de identificación N°0927709717, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 08 de agosto del año 2025

Atentamente,



María Alejandra de la Cruz Mora

CI: 1003233689

## CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, **María Fernanda Ratti Torres** con documento de identificación N° 0802198960, docente investigador de la Escuela Superior Politécnica (ESPOL), declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **EVALUACIÓN DEL POTENCIAL BIOCONTROLADOR DE HONGOS ASEXUALES AISLADOS DE PLANTAS DE BANANO (*MUSA SPP. L.*) FRENTE A NEMATODOS FORMADORES DE AGALLAS DEL GÉNERO *MELOIDOGYNE SPP***, realizado por **Giovanna Abigail Carpio Ponce**, con documento de identificación N°0927709717, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 08 de agosto del año 2025

Atentamente,



María Fernanda Ratti Torres

CI: 0802198960

## **Dedicatoria**

A mis amigos cercanos, quienes con su apoyo inquebrantable me han impulsado a seguir adelante en los momentos más difíciles.

A quienes me han acompañado en este viaje, por creer en mí incluso cuando yo dudaba.

A quienes me inspiraron a no rendirme, a buscar respuestas y a seguir aprendiendo.

"Quizás ayer cometí un error, pero el yo de ayer sigue siendo yo. Soy quien soy hoy, con todos mis defectos. Mañana podría ser un poco más sabio, y ese también soy yo. He llegado a amarme por quien fui, quien soy y quien espero llegar a ser." – Kim Namjoon

## **Agradecimientos**

Agradecimientos a la Universidad Politécnica Salesiana por dar paso a la realización de este proceso de integración curricular y brindarnos el apoyo durante el tiempo de su realización.

Al Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) por financiar este trabajo de investigación y a su personal por darme soporte y conocimiento para su ejecución.

A mi tutora María Alejandra de la Cruz, por tenerme en cuenta desde el principio y brindarme su soporte, su guía, sus recomendaciones para ir puliendo este trabajo de investigación.

A los analistas del CIBE María Fernanda Ratti y Marcos Vera que me acogieron en el CIBE, brindaron parte de su tiempo, conocimientos, comprensión, paciencia y la confianza para el desarrollo de este proyecto.

## Resumen

El presente estudio investigo el potencial biotecnológico de especies fúngicas aisladas de suelo de banano (*Musa* spp. L) infestado por *Meloidogyne* spp. para el control biológico de plagas fitopatógenas. El objetivo fue de identificar los hongos asexuales aislados, y evaluar la capacidad de sus mecanismos de captura sobre nematodos fitoparásitos. Se identificaron cuatro cepas de hongos nematófagos pertenecientes a la especie *Arthrobotrys thaumasia* (HN20, HN21, HN24, HN25), dentro de las cuales, la cepa HN20 tuvo una mayor efectividad con 75% de mortalidad en 4 días, seguida por la HN21, HN24 y HN25, esta última alcanzando un efecto antagonista del 57%, todas bajo las mismas condiciones *in vitro*. Los resultados no evidencian una diferencia significativa entre las cepas estudiadas independientemente, no obstante, existen diferencias significativas entre el tratamiento y control individual de HN20 y HN21. Por tanto, se observa cierta variabilidad entre las cepas aisladas, y a su vez existe considerable diversidad funcional dentro de *A. thaumasia* según la localización geográfica de donde ha sido aislado. Esta investigación promueve el desarrollo científico y el conocimiento de la biodiversidad funcional del suelo, aportando herramientas concretas para mejorar la sanidad de los cultivos agrícolas, reduciendo la dependencia de insumos químicos, y fomentando la agricultura sostenible.

**Palabras clave:** Nematófago; Hongo; *Meloidogyne* spp.; *Arthrobotrys thaumasia*;  
Antagonismo.

## Abstract

The present study investigated the biotechnological potential of fungal species isolated from banana (*Musa* spp. L.) soil infested by *Meloidogyne* spp. for the biological control of plant pathogenic pests. The objective was to identify the isolated asexual fungi and evaluate the efficacy of their trapping mechanisms on plant-parasitic nematodes. Four strains of nematophagous fungi belonging to the species *Arthrobotrys thaumasia* (HN20, HN21, HN24, HN25) were identified. Among these, strain HN20 showed the highest effectiveness with 75% mortality in 4 days, followed by HN21, HN24, and HN25, the latter achieving an antagonistic effect of 57%, all under the same *in vitro* conditions. The results did not show a significant difference among the studied strains independently; however, significant differences existed between the individual treatment and control of HN20 and HN21. Therefore, some variability is observed among the isolated strains, and in turn, there is considerable functional diversity within *A. thaumasia* depending on the geographical location from which it was isolated. This research promotes scientific development and the understanding of soil's functional biodiversity, providing concrete tools to improve agricultural crop health, reduce reliance on chemical inputs, and foster sustainable agriculture.

**Keywords:** Nematophagus; Fungi; *Meloidogyne* spp.; *Arthrobotrys thaumasia*;

Antagonist.

## Índice de Contenido

<b>Capítulo 1</b> .....	<b>1</b>
1.1. Introducción .....	1
1.2. Planteamiento del problema .....	3
1.3. Justificación.....	4
1.4. Objetivos .....	5
1.4.1. Objetivo General .....	5
1.4.2. Objetivos Específicos .....	5
<b>Capítulo 2</b> .....	<b>6</b>
<b>Marco Teórico</b> .....	<b>6</b>
2.1. Cultivos agrícolas .....	6
2.1.1. Principales cultivos agrícolas a nivel mundial .....	7
2.1.2. Principales cultivos a nivel de Ecuador.....	8
2.1.3. Influencia del cambio climático .....	10
2.2. Enfermedades en cultivos.....	10
2.2.1. Parásitos .....	12
2.2.2. Fitoparásitos .....	13
2.2.3. Nematodos.....	13
2.3. Revolución verde.....	15
2.3.1. Agroquímicos .....	15
2.3.2. Efectos de los agroquímicos en la salud humana y el ecosistema.....	17
2.4. Revolución biotecnológica .....	18
2.4.1. Herramientas desarrolladas .....	18
2.5. Técnicas de identificación y aislamiento de hongos .....	26
2.5.1. Aislamiento .....	27
2.5.2. Identificación.....	28
<b>Capítulo 3</b> .....	<b>30</b>
<b>Materiales y Métodos</b> .....	<b>30</b>
3.1. Obtención de la muestra .....	30
3.1.1 Ubicación .....	30
3.1.2 Técnica de muestreo .....	32
3.2. Procesamiento de la muestra. ....	33
3.3. Conservación de muestras .....	36
3.4. Identificación de hongos asexuales .....	37
3.4.1. Descripción morfológica .....	37

3.4.2. Caracterización molecular .....	38
3.5. Ensayo de antagonismo .....	43
3.5.1 Extracción de huevos maduros de nematodos.....	43
3.5.2 Desinfección y siembra de huevos maduros de nematodos .....	44
3.5.3 Extracción de nematodos juveniles en estadio 2.....	45
3.5.4 Ensamble de ensayo antagonista .....	46
3.6. Diseño experimental.....	48
3.6.1 Modelo lineal.....	48
3.6.2 Hipótesis.....	49
3.7. Índice de quimiotaxis .....	49
<b>Capítulo 4 .....</b>	<b>50</b>
<b>Resultados y Discusiones .....</b>	<b>50</b>
4.1 Aislamiento de especies de hongos nematófagos.....	50
4.1.1. Caracterización morfológica .....	50
4.1.2. Caracterización molecular.....	52
4. 2. Identificación de especies fúngicas aisladas .....	55
4.3. Evaluación de ensayo antagonista <i>in vitro</i> . .....	57
4.3.1. Análisis estadístico .....	57
4.3.2. Índice de quimiotaxis .....	60
<b>Capítulo 5 .....</b>	<b>63</b>
<b>Conclusiones y Recomendaciones .....</b>	<b>63</b>
5.1. Conclusiones .....	63
5.2. Recomendaciones.....	65
<b>Referencias Bibliográficas .....</b>	<b>66</b>
Anexos.....	79

## Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
CMA	Agar harina de maíz
EDTA	Ácido Etilendiaminoteracético
IDE	Entorno de desarrollo integrado
IRS	Resistencia sistémica inducida
ITS	Espacio interno transcrito
ITS1	Iniciador upstream
ITS4	Iniciador downstream
Loading buffer	Loading dye xylene cyanol FF (XCFF) + Orange G
MALDI-TOF MS	Espectrometría de masas con desorción/ionización láser asistida por matriz
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PHB	Polihidroxibutirato
PIB	Producto Interno Bruto
PLA	Ácido poliláctico
Primers	Cebador o iniciador

## Simbología

°C            grados Celsius

μl            microlitros

h             hora

g             gramo

mg           miligramo

(t)           toneladas

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> <i>Aporte del sector agrícola al % PIB por país</i> .....	7
<b>Figura 2.</b> <i>Exportaciones de productos orgánicos, en toneladas, otras frutas y sus procesados, enero a diciembre de 2024</i> .....	9
<b>Figura 3.</b> <i>Mecanismos de captura de hongos nematófagos</i> .....	25
<b>Figura 4.</b> <i>Principales métodos de identificación de hongos</i> .....	27
<b>Figura 5.</b> <i>Esquema metodológico</i> .....	31
<b>Figura 6.</b> <i>Mapa de ubicación geográfica de sitio de muestreo</i> .....	32
<b>Figura 7.</b> <i>Técnica de muestreo de suelo</i> .....	33
<b>Figura 8.</b> <i>Preparación de agar-agar suplementado con antibiótico</i> .....	34
<b>Figura 9.</b> <i>Preparación de medio agar harina de maíz (CMA)</i> .....	35
<b>Figura 10.</b> <i>Aislamiento de hongos asexuales de interés</i> .....	36
<b>Figura 11.</b> <i>Conservación de cepas fúngicas</i> .....	37
<b>Figura 12.</b> <i>Protocolo de extracción de ADN fúngico</i> .....	40
<b>Figura 13.</b> <i>Técnica para la cuantificación, análisis y verificación del ADN fúngico extraído</i> .....	42
<b>Figura 14.</b> <i>Técnica para la extracción de huevos maduros de nematodos</i> .....	44
<b>Figura 15.</b> <i>Técnica para la siembra y eclosión de huevos maduros de nematodos viables</i> .....	45
<b>Figura 16.</b> <i>Técnica de extracción para juveniles estadio 2 de nematodos</i> .....	46
<b>Figura 17.</b> <i>Metodología para ensayo antagonista</i> .....	47
<b>Figura 18.</b> <i>Hongos nematófagos aislados</i> .....	50
<b>Figura 19.</b> <i>Estructuras internas de hongos nematófagos aislados</i> .....	52
<b>Figura 20.</b> <i>Amplicones de cepas en electroforesis de gel de agarosa 1.5%</i> .....	53
<b>Figura 21.</b> <i>Árbol filogenético de hongos asexuales aislados</i> .....	54
<b>Figura 22.</b> <i>Estructuras características de A. thaumasia</i> .....	55
<b>Figura 23.</b> <i>Mecanismo de captura de nematodos</i> .....	56
<b>Figura 24.</b> <i>Gráfico de barras Captura de nematodos Vs. Cepas</i> .....	57
<b>Figura 25.</b> <i>Gráfico de barras de Mortalidad nematodos vs. Cepas</i> .....	59

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> <i>Tipos de hongos y las enfermedades agrícolas que combaten</i> .....	3
<b>Tabla 2.</b> <i>Productos agrícolas más consumidos globalmente</i> .....	8
<b>Tabla 3.</b> <i>Principales enfermedades en cultivos agrícolas a nivel mundial</i> .....	11
<b>Tabla 4.</b> <i>Principales enfermedades en cultivos agrícolas de importancia en Ecuador</i> .....	12
<b>Tabla 5.</b> <i>Principales grupos químicos encontrados en agroquímicos</i> .....	16
<b>Tabla 6.</b> <i>Agroquímicos prohibidos en Ecuador</i> .....	17
<b>Tabla 7.</b> <i>Controles biológicos más utilizados y sus mecanismos de control</i> .....	26
<b>Tabla 8.</b> <i>Primers utilizados</i> .....	41
<b>Tabla 9.</b> <i>Programa de PCR para amplificación de ADN fúngico empleado</i> .....	41
<b>Tabla 10.</b> <i>VARIABLES del diseño experimental</i> .....	48
<b>Tabla 11.</b> <i>VARIABLES del modelo lineal</i> .....	48
<b>Tabla 12.</b> <i>Hipótesis planteadas para el diseño experimental</i> .....	49
<b>Tabla 13.</b> <i>Medias de las mediciones de estructuras internas de cepas</i> .....	51
<b>Tabla 14.</b> <i>Taxonomía de <i>Arthrobotrys thaumasia</i></i> .....	55
<b>Tabla 15.</b> <i>Prueba de Tukey Tratamiento vs. Control por cepa</i> .....	59
<b>Tabla 16.</b> <i>Índice de quimiotaxis obtenido en cada cepa</i> .....	60

## Índice de Anexos

<b>Anexo 1.</b> <i>Sitio de muestreo</i> .....	79
<b>Anexo 2.</b> <i>Tabla de resumen de estructuras internas cepa HN20</i> .....	79
<b>Anexo 3.</b> <i>Tabla de resumen de estructuras internas cepa HN21</i> .....	80
<b>Anexo 4.</b> <i>Tabla de resumen de estructuras internas cepa HN24</i> .....	80
<b>Anexo 5.</b> <i>Tabla de resumen de estructuras internas cepa HN25</i> .....	81
<b>Anexo 6.</b> <i>Tabla de resumen de datos ensayo antagonista</i> .....	81
<b>Anexo 7.</b> <i>Estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de dispersión.</i>	82
<b>Anexo 8.</b> <i>Prueba de Tukey sobre cepas y tratamiento vs. Control</i> .....	82
<b>Anexo 9.</b> <i>Prueba de Kolmogórov-Smirnov con corrección de Lilliefors</i> .....	82
<b>Anexo 10.</b> <i>Q-Q Plot Residuos</i> .....	83
<b>Anexo 11.</b> <i>Histograma de residuos</i> .....	83
<b>Anexo 12.</b> <i>Prueba de Levene</i> .....	84
<b>Anexo 13.</b> <i>Gráfico Residuos vs. Valores ajustados de dispersión</i> .....	84
<b>Anexo 14.</b> <i>Prueba Post-Hoc de Tukey para Tratamientos vs. Control por cepas</i> .....	84
<b>Anexo 15.</b> <i>Tabla de mortalidad por cepas</i> .....	85

## Capítulo 1

### 1.1. Introducción

La Revolución Industrial transformó la agricultura al introducir la mecanización y la química agrícola, marcando el inicio de los agroquímicos modernos (Valenzuela-García et al., 2022). Antes de este período, los agricultores dependían de abonos orgánicos y métodos tradicionales de control de plagas (Lahlali et al., 2022). Sin embargo, el crecimiento demográfico y la demanda de alimentos impulsaron la búsqueda de soluciones más eficientes; los avances en química, como el proceso Haber-Bosch, permitieron la producción masiva de fertilizantes sintéticos, revolucionando la productividad agrícola pero también generando problemas como la contaminación por nitratos (Endara et al., 2020).

Durante los siglos XIX y XX, se desarrollaron los primeros pesticidas sintéticos, desde compuestos tóxicos como el arsénico hasta el DDT, que se popularizó en la década de 1940 por su efectividad contra insectos, sin embargo, el uso indiscriminado de estos químicos llevó a graves consecuencias ambientales y de salud, como la resistencia de plagas, bioacumulación de toxinas en la cadena alimentaria y enfermedades crónicas en trabajadores agrícolas; de esta forma, la publicación de *Primavera Silenciosa* (1962) por Rachel Carson expuso estos riesgos, impulsando regulaciones y la búsqueda de alternativas más seguras (Schmidt et al., 2022).

La prevalencia de enfermedades por agrotóxicos se ve influenciada según su disposición geográfica, en países de América Latina como Brasil, Ecuador, México o de Asia como India y China, esta problemática es significativa debido a la alta exposición por la relación que existe con su producción agrícola y la falta de regulaciones de estas sustancias, a comparación de Europa o Estados Unidos donde estos compuestos siguen un reglamento más riguroso y su producción no es tan alta al ser principales importadores; la exposición directa y continua a agroquímicos aumenta la posibilidad de padecer de cáncer, trastornos endocrinos y

neurrológicos, enfermedades respiratorias, problemas reproductivos e intoxicaciones agudas (da Silva et al., 2024; Fucic et al., 2021; Gomez-Arroyo, 2011; Upadhayay et al., 2020)

El legado de la Revolución Industrial en la agroquímica es ambivalente, por un lado, permitió alimentar a una población en crecimiento, pero por otro, generó dependencia de insumos sintéticos con impactos negativos; la historia de los agroquímicos refleja así el equilibrio entre progreso tecnológico y responsabilidad ambiental (Castillo, 2020).

Esto ha llevado al surgimiento de movimientos como la agricultura orgánica y el control biológico, los cuales han surgido como una alternativa sostenible a los agroquímicos, utilizando organismos vivos para regular plagas y enfermedades como hongos, bacterias, virus o insectos; a través de diversos estudios se demuestra su eficacia en la reducción de poblaciones de insectos, nematodos, hongos patógenos y malezas, minimizando el impacto ambiental y la resistencia de plagas (Garza-Sánchez et al., 2023).

El estudio de hongos empieza con Linneo durante el siglo XVIII, de los cuales se le dio gran reconocimiento al filo Ascomycota, siendo esta la división de hongos más usada para investigaciones fúngicas (Naranjo-Ortiz & Gabaldón, 2019). Con el tiempo, se han descubierto hongos entomopatógenos con potencial fitocontrolador y su importancia de estudio ha ascendido tras los efectos adversos de agroquímicos en el ambiente (Lacey et al., 2015). Uno de los primeros hongos con potencial biocontrolador estudiados fueron del género *Arthrobotrys*, ya que presentan mecanismos específicos para la captura de fitonematodos, además de ser el microorganismo modelo para hongos nematófagos (Yang et al., 2011).

**Tabla 1.** Tipos de hongos y las enfermedades agrícolas que combaten

Hongo	Enfermedad/Plaga	Referencia
<i>Beauveria bassiana</i>	Pulgones, escarabajos, moscas blancas, etc.	(Zelaya-Molina et al., 2022)
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Termitas, escarabajos, pulgones, etc.	(Rajput et al., 2024)
<i>Trichoderma spp.</i>	Marchitez vascular, podredumbre de la raíz, mildiu, blight.	(Cortés-Hernández et al., 2023)
<i>Coniothyrium minitans</i>	Podredumbre blanca (raíz y tallo)	(Han et al., 2023)
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	Nematodos y “gallina de raíz”	(Yi et al., 2021)
<i>Aspergillus spp.</i>	Enfermedades de la raíz	(Herrera et al., 2023)
<i>Clonostachys rosea</i>	Pudrición de la raíz, moho blanco, marchitamiento, tizón	(Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden et al., 2021)
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	Nematodos	(Salas et al., 2024)
<i>Gliocladium virens</i>	Podredumbre de raíz, cuello, parda, tizón foliar	(Palmieri et al., 2022)
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	Nematodos	(Rigobelo et al., 2024)

## 1.2. Planteamiento del problema

Anualmente, las pérdidas generadas por fitoparásitos se estiman en 157 mil millones mundialmente. (Mendoza-de Gives, 2022). Para hacer frente a esta problemática, se emplea convencionalmente el uso de productos químicos, sin embargo, estos suelen ser tóxicos y perjudiciales hacia el suelo, provocando una bioacumulación en los seres humanos (Dávila et al., 2022).

Durante años, los fitonematodos han sido controlados a través de agroquímicos tóxicos para el ambiente y sus consumidores, de esta manera, la acumulación de metales pesados y plaguicidas organoclorados, generan eutrofización en ríos y lagos, bioacumulación en la cadena trófica, emisiones de gases de efecto invernadero, entre otros, los cuales han sido una problemática de carácter global en las últimas décadas (García-Hernández et al., 2025).

Por lo que resulta esencial el desarrollo de controles biológicos, usando microorganismos y estudiando su interacción en los medios; explorando el uso de bacterias y hongos para el biocontrol de estos endoparásitos (Garza-Sánchez et al., 2023). Dentro del género *Meloidogyne*, se han realizado varias investigaciones usando estos microorganismos, haciendo énfasis en los hongos nematófagos (Tazi et al., 2021).

### **1.3. Justificación**

El uso excesivo e incorrecto de pesticidas, fertilizantes sintéticos y herbicidas en el suelo, ha logrado contaminar gravemente el suelo, agua, aire y una pérdida en biodiversidad nativa de flora y fauna (Cajamarca et al., 2020). En términos de salud humana, se garantiza una mayor seguridad alimentaria al producir alimentos sin residuos tóxicos de agroquímicos, lo que permite reducir la población con enfermedades crónicas asociadas a plaguicidas y fertilizantes como el cáncer, trastornos neurológicos, malformaciones genéticas y problemas de fertilidad (Weisenburger, 2021).

Se estiman cientos de millones en pérdidas anuales dentro del sector agrícola ecuatoriano por plagas o enfermedades que afectan a cultivos de importancia económica externa e interna tales como el banano, café, cacao, plátano, maíz, entre otros (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2020). No existen reportes oficiales por entidades en el país que reporten casos de muertes o afecciones crónicas de personas afectadas por estas sustancias químicas nocivas lo que indica la falta de seguimiento y estudio hacia esta problemática a nivel nacional, sin embargo, el Ministerio de Salud Pública (2024) expone un total de 146 casos reportados durante el año de intoxicaciones por plaguicidas, principalmente fungicidas y herbicidas seguido por organofosforados y carbamatos con una prevalencia de hombres entre 20 a 49 años el grupo más afectado.

Esta investigación impulsa el conocimiento sobre la biodiversidad funcional de los hongos nematófagos y de la microbiota benéfica del suelo, potenciando el uso de biocontroladores y aportando herramientas para reducir la dependencia de agroquímicos, mejorando la sanidad de los cultivos de manera sostenible; por lo cual esta investigación sustenta que el uso de controles biológicos no son solo una alternativa ecológica, sino también una herramienta necesaria para una agricultura limpia y resiliente.

## **1.4. Objetivos**

### **1.4.1. *Objetivo General***

Evaluar el potencial biocontrolador de hongos asexuales aislados de plantas de banano (*Musa* spp. L.) frente a nematodos formadores de agallas del género *Meloidogyne* spp.

### **1.4.2. *Objetivos Específicos***

Aislar especies de hongos nematófagos a partir de muestras de suelo de plantas de banano con antecedentes de infestación por *Meloidogyne* spp.

Identificar las especies fúngicas aisladas para determinar su taxonomía mediante la descripción morfológica y molecular.

Evaluar la efectividad de las estructuras de captura de los hongos nematófagos mediante ensayo de antagonismo *in vitro*.

## Capítulo 2

### Marco Teórico

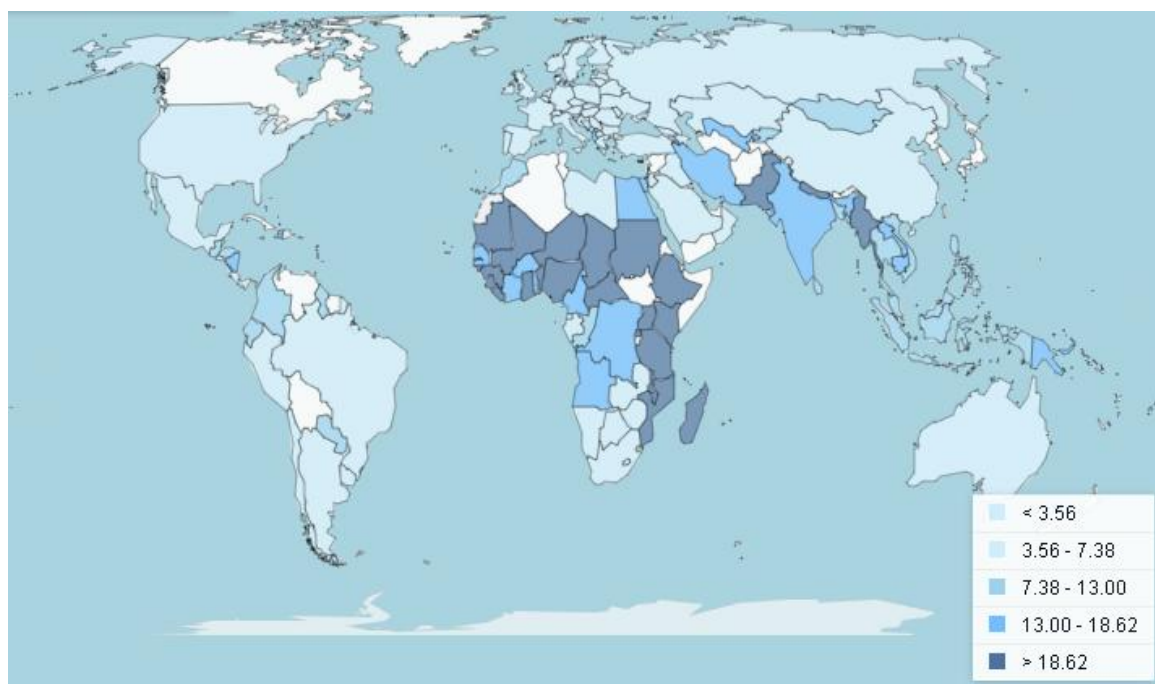
#### 2.1. Cultivos agrícolas

La agricultura forma parte de una pieza fundamental en la economía, la seguridad alimenticia y el medio ambiente, no obstante estos se ven gravemente afectados por desafíos globales como el cambio climático, generando una reducción considerable de alimentos y por consecuencia, muchos países o sectores sociales se ven afectados negativamente; a su vez se intenta tecnificar el sector agrícola mediante la agricultura de precisión, uso de cultivos transgénicos y drones que ayudan a mejorar la productividad de cosecha con el fin de lograr reducir el uso de pesticidas y emisiones de metano para alcanzar una sostenibilidad a largo plazo y revertir el daño causado al ecosistema (Pörtner et al., 2022).

El sector agrícola incluye actividades como los cultivos, ganadería, pesca y silvicultura, este representó el 4% del PIB mundial durante el 2024 según reporta el World Bank Open Data (2025), aunque este valor puede aumentar en países que son dependientes de la agricultura o en desarrollo (**Figura 1**).

Esta actividad humana se ve amenazada por varios problemas y su efecto varía dependiendo de la región y los cultivos afectados, siendo el cambio climático de los principales exponentes de los estragos evidenciados a nivel mundial al aumentar la temperatura y causar sequías o lluvias intensas que desencadenan en fenómenos extremos como tormentas o inundaciones, seguido por las plagas o enfermedades que afectan a la calidad y producción agrícola, degradación del suelo, escasez de agua y entre otros (IPCC, 2019).

**Figura 1.** *Aporte del sector agrícola al % PIB por país*



*Nota:* Ilustración obtenida de World Bank Open Data (2025)

### **2.1.1. Principales cultivos agrícolas a nivel mundial**

Los cultivos agrícolas forman parte de la dieta y alimentación humana, los cuales pueden ser consumidos de forma directa como los granos o tubérculos, o indirecta mediante productos derivados como aceites y harinas; como por ejemplo el maíz (*Zea mays*), el cual es el cultivo más producido del mundo por sus usos como harina, aceite, alimento para ganado o biocombustible (Zambrano Mendoza et al., 2019).

**Tabla 2.** *Productos agrícolas más consumidos globalmente*

<b>Alimentos de origen vegetal</b>	<b>Productos</b>	<b>Principal productor</b>	<b>Producción (t)</b>
Cereales	Maíz	EE. UU., China, Brasil	1,2 mil millones
	Trigo	China, India, Rusia	780 millones
	Arroz	China, India	520 millones
Oleaginosas	Soja	Brasil, EE. UU., Argentina	350 millones
	Palma aceitera	Indonesia, Malasia	77 millones
Tubérculos	Papa	China, India, Ucrania	370 millones
Raíces	Yuca	Nigeria, África, Latinoamérica	300 millones
Frutas y hortalizas	Tomate	China, India, Turquía	180 millones
	Banano	India, China, Ecuador	120 millones
Cultivos comerciales	Caña de azúcar	Brasil, India, Tailandia	1,9 mil millones
	Café	Brasil, Vietnam, Colombia	10 millones
	Algodón	China, India, EE. UU.	25 millones

*Nota:* Información obtenida y adaptada de FAO (2025); Willer et al. (2025)

### **2.1.2. Principales cultivos a nivel de Ecuador**

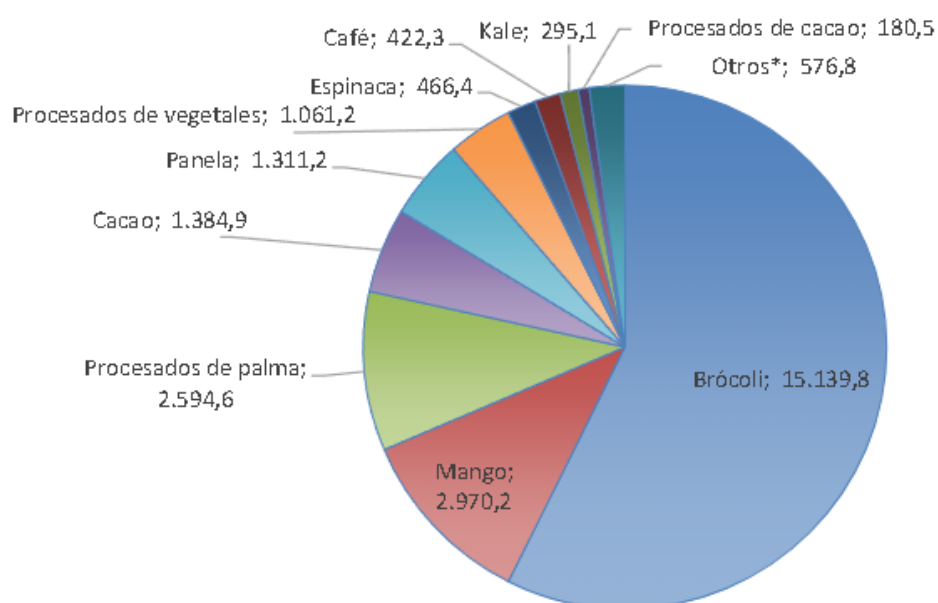
De acuerdo al Banco Central del Ecuador (2025), durante el 2024 el sector de la agricultura, ganadería y silvicultura tuvo un crecimiento anual del 3,1% y representó un 9,5% del PIB del país (World Bank Open Data, 2025). Los cultivos más importantes para la economía ecuatoriana por exportación son el banano, cacao y flores, mientras que para consumo interno la papa, maíz y arroz son esenciales en la alimentación y comercio interno (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2025).

Los cultivos de arroz, cacao, banano, maíz y café son sensibles a cambios bruscos de temperatura, una problemática presente en la región debido al cambio climático evidente dada

la diversidad geográfica del territorio, de esta forma, la agricultura local no solo sufre de condiciones adversas climáticas, sino también de interrupciones en el microbioma nativo del suelo debido a estos cambios, haciéndolo susceptible a la proliferación de plagas o enfermedades fitosanitarias, a ello se le suma la erosión y agricultura en masa en las regiones de la Sierra y Amazonía que contribuyen a la reducción de fertilidad y nutrientes esenciales por la dependencia de monocultivos a través del territorio que domina en ciertas áreas (Cañas Suárez et al., 2024; Grijalva et al., 2017; Suquilanda Valdivieso & Villamar, 2017).

La Dirección de Orgánicos Agrocalidad, Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (2025) reporta que en el año 2024, el banano fue el producto agrícola más exportado del país con una cantidad de 659,488.50 toneladas, seguido por los productos expuestos en la **Figura 2**.

**Figura 2.** Exportaciones de productos orgánicos, en toneladas, otras frutas y sus procesados, enero a diciembre de 2024



*Nota:* Ilustración obtenida de Dirección de Orgánicos Agrocalidad - Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario (2025)

### ***2.1.3. Influencia del cambio climático***

El cambio climático no solo representa una amenaza ambiental general para el planeta, sino que también afecta directamente la productividad del suelo, la calidad de los alimentos, la distribución geográfica de cultivos y por consecuencia la seguridad alimentaria a nivel mundial (Goud et al., 2022).

El aumento de temperatura afecta directamente al crecimiento y desarrollo de plantas y dependiendo del cultivo las temperaturas altas pueden disminuir el rendimiento agrícola en cultivos sensibles como el arroz, trigo o maíz, además nos enfrentamos a una variabilidad climática con sequías frecuentes o lluvias excesivas, provocando una inestabilidad en el crecimiento de cultivos y disminuyendo la disponibilidad de agua para riego agrícola; de esta forma, se crean condiciones propicias para la proliferación de plagas y enfermedades en cultivos por la humedad y calidez en el ambiente, lo que se ve reflejado en un aumento del uso de pesticidas para intentar disminuir las incidencias en la producción (Castellanos, E et al., 2023; Tonnang et al., 2022). Al contrario, la fotosíntesis puede ser estimulada por el aumento de CO<sub>2</sub> atmosférico y por consiguiente aumentar el rendimiento de ciertos cultivos, sin embargo, esto se ve limitado por la cantidad de nutrientes y agua en el suelo (Ainsworth & Long, 2021).

## **2.2. Enfermedades en cultivos**

Los cultivos son susceptibles a enfermedades causadas por microorganismos como hongos, bacterias o virus, los insectos suelen actuar como vectores para la difusión de estas, aunque ciertos grupos se consideran plagas que causan devastaciones a los cultivos (**Tabla 3**).

**Tabla 3.** Principales enfermedades en cultivos agrícolas a nivel mundial

Organismo	Patógeno	Cultivo afectado	Enfermedades	Pérdidas anuales estimadas (\$)	Referencias
Hongos	<i>Puccinia spp.</i>	Trigo y cebada	Roya del tallo	5 mil millones	(McCallum et al., 2024)
	<i>Fusarium oxysporum</i>	Banano, tomate	Fusarium R4T	10 mil millones	(Adhikary et al., 2024)
Bacterias	<i>Clavibacter michiganensis</i>	Tomate	Cáncer bacteriano	80~150 millones	(Osdaghi et al., 2025)
	<i>Pectobacterium spp.</i>	Papa, zanahoria	Pudrición blanca	1 billón en papa	(Charkowski et al., 2020)
Virus	<i>Tobamovirus</i>	Tomate	Virus del mosaico	500~1,000 millones	(Turina & Salem, 2020)
	<i>Closterovirus</i>	Cítricos	Virus de la tristeza	2,000 ~ 3,000 millones	(Tatineni & Hein, 2023)
Insectos	<i>Schistocerca gregaria</i>	Cereales (arroz, maíz, trigo, etc)	Plaga polífaga devastadora	8.5 mil millones	
	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Maíz, arroz, sorgo, etc	Perforación de cogollos	13 mil millones	(CABI, 2024)
	<i>Bemisia tabaci</i>	Hortalizas (tomate, pimiento, berenjena)	Vector virus del rizado amarillo	1.5 mil millones	
Gusanos	<i>Meloidogyne spp.</i>	Tomate, papa, frijol, etc	Agallas en raíces	157 mil millones	(Feyisa, 2021)

Syngenta es una empresa multinacional que opera en más de 90 países, con enfoque en el desarrollo de tecnología y prácticas agrícolas sustentables, pioneros en la protección de cultivos, semillas transgénicas, biocontrol, bioestimulantes y biofertilizantes (Syngenta, 2024). Además, se han estado desarrollando y realizando pruebas de campo en territorio nacional para el uso de hongos y bacterias como biocontrol para enfermedades como la Sigatoka

negra en banano (El Productor, 2024). En Ecuador, las principales enfermedades asociadas a los cultivos de importancia económica se exponen en la **Tabla 4**.

**Tabla 4.** Principales enfermedades en cultivos agrícolas de importancia en Ecuador

Cultivo afectado	Patógeno	Enfermedades	Pérdidas anuales estimadas (%)	Referencias
Banano	<i>Fusarium oxysporum</i> R2	Fusariosis,	15%	(Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario, 2025)
	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Marchitez bacteriana	20% ~ 100%	(An & Zhang, 2024)
	<i>Mycosphaerella fijiensis</i>	Sigatoka negra	50%	(Vera-Velez et al., 2024)
Cacao	<i>Moniliophthora roreri</i>	Moniliasis	90%	
	<i>Phytophthora palmivora</i>	Pudrición del cogollo	30%	(Anzules-Toala et al., 2022)
	<i>Moniliophthora perniciosa</i>	Escoba de bruja	1.2%	
Arroz	<i>Pyricularia oryzae</i>	Quemazón		
	<i>Sarocladium oryzae</i>	Pudrición de la vaina	85%	(Iglesias et al., 2018)
	<i>Gaeumannomyces graminis</i>	Pudrición negra	10%	

### 2.2.1. Parásitos

Los parásitos se definen como organismos que se benefician de un hospedero; como relación ecológica, se trata de una forma de simbiosis donde el parásito vive dentro o sobre el huésped causando perjuicio sobre este (CDC, 2024).

Estos organismos se clasifican según el sitio en el que parasitan, se denominan endoparásitos cuando viven dentro del cuerpo del huésped y ectoparásitos cuando es en la superficie externa, a su vez se pueden separar según su ciclo de vida, los parásitos obligados no

pueden completar su ciclo de vida sin un huésped y los facultativos tienen la capacidad de ser independientes o de parasitar (Musselman & Rodenburg, 2023).

### **2.2.2. Fitoparásitos**

En plantas, los parásitos obtienen nutrientes y agua del tejido vegetal, muchas veces causando el deterioro y muerte de la misma; estos organismos pueden ser plantas, hongos o nematodos fitoparásitos y se clasifican según el sitio donde parasitan, siendo raíces o tallos y a su vez si son holoparásitos o hemiparásitos dependiendo de su capacidad fotosintética (Smith et al., 2024).

En el Ecuador, el banano es afectado principalmente por hongos fitoparásitos como *Fusarium oxysporum* provocando marchitez, necrosis vascular o la muerte de la planta, o la Sigatoka negra (*Mycosphaerella fijiensis*) y por fitonematodos como *Radopholus similis*, *Meloidogyne* spp. y *Pratylenchus* spp. (Aguirre et al., 2016; An & Zhang, 2024).

### **2.2.3. Nematodos**

Los nematodos son gusanos redondos pertenecientes al cuarto filo más grande del reino animal y estos pueden ser de vida libre o parásitos dependiendo de su especie (*Numbers of Living Species in Australia and the World - DCCEEW*, 2021).

Los de vida libre no causan daño directo a las plantas y forman parte de la microbiota nativa del suelo cumpliendo funciones ecológicas benéficas, algunos ejemplos son *Caenorhabditis elegans* o del género *Rhabditis* (Sprunger & Martin, 2023). Por otro lado, los nematodos plaga se alimentan de los tallos, raíces, hojas o flores de plantas, causando daños directos y transmitiendo patógenos secundarios, tales como *Meloidogyne* spp., *Radopholus similis* y *Pratylenchus* spp. provocando agallas en raíces, necrosis, pudrición radicular y lesiones necróticas en raíces respectivamente (Guzmán-Piedrahita et al., 2020).

Los nematodos cuentan con enemigos naturales como bacterias, hongos, ácaros, colémbolos, tardígrados e incluso otros grupos de nematodos predadores que pueden utilizarse para su manejo y control (Vera-Morales et al., 2022).

### ***Meloidogyne spp.***

Los endoparásitos formadores de agallas *Meloidogyne* spp. forman un género cosmopolita de fitonematodos biótrofos encontrados en casi todas las regiones agrícolas alrededor del mundo, son uno de los patógenos más destructivos de cultivos hortofrutícolas, principalmente infectando plantas vasculares, estos se caracterizan por formar agallas en el sistema radicular, causando deterioro y eventualmente el marchitamiento de la planta (Ali et al., 2020).

### ***Radopholus similis***

Uno de los principales nematodos fitoparásitos migratorios encontrados en el Ecuador y climas tropicales en general, conocido como nematodo barrenador, es causante de necrosis, pérdida de raíces funcionales y deficiencia en la absorción de agua y nutrientes en cultivos como banano, plátano y café; adicionalmente su presencia aumenta la susceptibilidad de infecciones secundarias por bacterias u hongos como *Fusarium*, lo que afecta al rendimiento y las exportaciones de productos afectados (Pires et al., 2022).

### ***Pratylenchus spp.***

Este género de nematodos migratorios es de los más comunes y dañinos dada su amplia variedad de hospederos como cereales, vegetales, frutas y tubérculos (Bucki et al., 2020). *Pratylenchus* penetra las raíces funcionales ocasionando pérdidas y necrosis en la corteza, generando enanismo, marchitez y clorosis foliar en los cultivos afectados; al igual que

*Radopholus* da paso a pudriciones por hongos o bacterias, generando pérdidas agrícolas estimadas en 1.5 mil millones anuales a nivel global (Orlando et al., 2020).

### **2.3. Revolución verde**

Tras los estragos causados por las guerras y enfrentamientos bélicos suscitados a inicios y mediados del siglo XX, se volvió de suma importancia el desarrollar nuevas herramientas y tecnologías que permitieran un incremento en la producción y calidad de alimentos que abastecieran la creciente población y reducir la hambruna mundial; a raíz de esta problemática, entre la década de 1940 a 1970, surgieron nuevas técnicas de cultivo reemplazando a las tradicionales, que incluían el uso de variedades de cultivos más resistentes y con alto rendimiento y un mejor aprovechamiento de los suelos, además de la mecanización agrícola que permitió una cosecha y un trabajo de tierras más rápido y eficiente a los agricultores (Sobalvarro et al., 2018).

El uso de fertilizantes y pesticidas químicos fue esencial e intenso durante esta época para lograr un mejor rendimiento de cultivos y protegerlos de enfermedades fitosanitarias, por lo que trajo consigo un grave impacto ambiental contaminando el agua y suelo, además de generar una gran pérdida de biodiversidad y dependencia a insumos químicos agrícolas; se argumenta que se priorizó el beneficio a corto plazo sin considerar el impacto a largo plazo en el medio ambiente y salud humana (Molina-Zapata, 2021).

#### **2.3.1. Agroquímicos**

Según Schmidt et al. (2022), los agroquímicos se definen como sustancias químicas variadas que ayudan a mejorar el rendimiento de cultivos, brindan protección a plantas y manejar plagas que los afectan, dentro de los cuales encontramos fertilizantes, herbicidas, insecticidas, fungicidas, pesticidas, entre otros; es por ello que estos juegan un papel

fundamental en la agricultura moderna, aunque su potencial positivo se ve afectado por la contaminación ambiental y humana producida por el uso indiscriminado que se les ha dado.

**Tabla 5.** *Principales grupos químicos encontrados en agroquímicos*

<b>Función</b>	<b>Grupos químicos</b>
Herbicidas	Glisofato, triazinas, ureas sustituidas, ácidos ariloxiacéticos, inhibidores de ALS
Insecticidas	Organofosforados, carbamatos, piretroides, neonicotinoides, avermectinas
Fungicidas	Triazoles, estrobilurinas, ditiocarbamatos, ftalimidias, benzimidazoles
Nematicidas	Organofosforados, carbamatos,
Raticidas	Anticoagulantes, fosfuros metálicos, alcaloides

*Nota.* Información adaptada de (FAO & WHO, 2022)

### **Clasificación de agroquímicos**

Los agroquímicos pueden clasificarse según su función, modo de acción, origen, toxicidad, persistencia en el ambiente y forma de presentación Ministerio de Agricultura y Ganadería (2020). En el Ecuador se empezaron a aplicar medidas rigurosas y controles contra estas sustancias desde el 2017, según la Dirección de Orgánicos Agrocalidad (2025), actualmente se encuentran prohibidos 54 productos de plaguicidas en el país.

**Tabla 6.** *Agroquímicos prohibidos en Ecuador*

<b>Función</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Efecto</b>	<b>Toxicidad (OMS)</b>
Fungicida	Benomil	Potencial tóxico hepático y reproductivo, posible mutágeno y teratógeno	Poco peligroso (III)
Fungicida	Carbendazim	Tóxico para la reproducción, bioacumulación	Moderadamente peligrosa (II)
Nematicida/Insecticida	Aldicarb	Neurotóxico en humanos y animales	Extremadamente peligrosa (Ia)
Fungicida/COP	Hexaclorobenceno	Disruptor endocrino, bioacumulación, probable cancerígeno	Altamente peligrosa (Ib)
Insecticida	Dieldrín	Neurotóxico, persistente	Altamente peligrosa (Ib)
Insecticida	Endrín	Convulsiones, coma y muerte en alta exposición, tóxico para aves y peces	Extremadamente peligrosa (Ia)
Insecticida	Lindano	Daño neurológico y hepático, bioacumulativo	Moderadamente peligrosa (II)
Insecticida	Clordano	Potencial cancerígeno, trastornos hormonales y hepáticos	Moderada a alta (II/Ib)

*Nota.* Información adaptada de (Agrocalidad, 2025; Chemical Safety and Health Unit et al., 2019; Chemical Safety and Health Unit & WHO, 2020; Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2020)

### **2.3.2. Efectos de los agroquímicos en la salud humana y el ecosistema**

De acuerdo a Dávila et al. (2022), la exposición a estas sustancias aumenta la posibilidad de desarrollar cánceres y trastornos neurológicos, además de ser disruptores endocrinos y de neurogénesis. En la investigación de Castillo (2020), se evidencia la reducción en la diversidad de cultivos, ganadería y ecosistemas agrícolas a raíz de la salinización, poca disponibilidad de agua y degradación de los suelos. Por otro lado, en la fauna es preocupante la pérdida extensiva

de diversidad; es por ello, la importancia del Convenio de Estocolmo sobre los Contaminantes Orgánicos Persistentes que entró en vigor en 2004.

## **2.4. Revolución biotecnológica**

Como una solución a los efectos adversos causados tras la revolución verde, surge la revolución biotecnológica en la cual se busca alcanzar una agricultura sostenible a largo plazo, mitigando las consecuencias creadas a nivel agrícola (Alborno Jover, 2020). Como herramientas

Según DeBach (1973), durante el siglo XX se dieron los primeros inicios de herramientas biotecnológicas como el uso de *Bacillus thuringiensis* para el control de larvas de mariposas, la liberación de avispas parasitoides del género *Trichogramma* contra polillas en cultivos y el desarrollo de los primeros bioinsecticidas a base del hongo *Beauveria baussiana*.

### **2.4.1. Herramientas desarrolladas**

El principal objetivo de estas estrategias es de disminuir los efectos nocivos en el medio ambiente ocasionado por el uso indiscriminado de agrotóxicos, la pérdida económica ocasionada por enfermedades o plagas, la incidencia de casos clínicos por exposición a químicos tóxicos y mejorar la salud en trabajadores y consumidores, así como también optimizar estrategias de control para una efectividad mayor (Fernando et al., 2020).

### **Ingeniería genética**

Esta rama de la biotecnología apareció en la década de 1970, basada en el aislamiento y clonación de genes, modificación y edición genética; durante esta época se desarrollaron herramientas que, en el presente, son de vital importancia para el desarrollo e investigación de productos y fármacos dirigidos hacia la mejora humana y ambiental permitiendo un diagnóstico más veraz y rápido de enfermedades, destacándose la creación de cultivos transgénicos

resistentes a plagas, enfermedades o condiciones adversas, producción de insulina humana y las terapias génicas (Burraco, 2019; Molina, 2020; Morales, 2024).

CRISPR-Cas9 es una herramienta de edición genética la cual permite de forma precisa y eficiente el material genético de los microorganismos, de esta forma ha permitido obtener productos o servicios a partir de organismos modificados (Zurita, 2021).

- **Producción de enzimas y hormonas vegetales**

La introducción de genes codificantes de enzimas de interés permite obtener de manera eficiente enzimas específicas de organismos mejorados genéticamente mediante técnicas de ADN recombinante, es ampliamente aplicable y utilizado en la industria textil, alimentaria, farmacéutica, agrícola, papelería y energética; de tal manera, se logra reducir el uso de métodos tradicionales contaminantes o que involucran animales, una mayor pureza del producto final y por consiguiente una producción a mayor escala a menor costo (Kumar et al., 2022; Papamichael & Stergiou, 2020)

Las hormonas vegetales juegan un papel fundamental en la producción agrícola de cultivos alrededor del mundo, entre ellas las más importantes por sus propiedades son las auxinas, giberelinas, citocininas, ácido abscísico y etileno, a estas se les modifican genes que están involucrados la síntesis, transporte, señalización o degradación de fitohormonas, algunos cultivos modificados han sido el tomate variedad *Flavr Savr* a través de la supresión del gen ACO responsable de sintetizar el etileno que retrasa la maduración y mejora la vida post cosecha del producto o el maíz y arroz resistentes a la sequía por su aumento a la tolerancia al estrés hídrico por la sobreexpresión de genes reguladores ABA (Ahammed et al., 2023; Aydin et al., 2025; Chakraborty et al., 2025; Mas-ud et al., 2025)

### **Producción de biocombustibles y bioplásticos**

Se han desarrollado cepas modificadas de *Saccharomyces cerevisiae* con la capacidad de tolerar a un nivel más alto el etanol y a su vez de fermentar pentosas, logrando una mayor eficiencia en el proceso biológico de estos organismos (Andrade et al., 2022). También se han realizado investigaciones utilizando microalgas mutadas como *Phaeodactylum tricorutum* para mejorar y aumentar la producción natural de lípidos para su uso en biocombustibles o suplementos alimenticios (Zhang et al., 2023).

El desarrollo de polímeros biodegradables para hacer frente a la contaminación mundial de plásticos ha tenido un gran impacto en la producción de biomateriales y crecimiento exponencial en las últimas décadas, a partir de organismos modificados para una mayor producción como *Azotobacter vinelandii* utilizando como sustrato la caña de azúcar se ha sintetizado bioplásticos como el PHB, comúnmente usado en empaques u aplicaciones médicas; así como también la producción de PLA a partir del ácido láctico fermentado por bacterias modificadas como *Saccharomyces cerevisiae* y cepas de *Lactobacillus* o *Bacillus* (Huang et al., 2021).

- **Bioestimulantes y bioplaguicidas**

Los bioestimulantes se definen como microorganismos o sustancias que mejoran el crecimiento vegetal, absorción de nutrientes, eficiencia fotosintética y la tolerancia al estrés biótico o abiótico (Rouphael & Colla, 2020). La ingeniería genética permite el aumento en la síntesis de fitohormonas, mejor fijación del nitrógeno, adaptación a condiciones extremas y la producción de metabolitos para la defensa de las plantas, también las plantas han sido modificadas para responder mejor y producir bioestimulantes naturales in situ o exudados radiculares bioactivos (Chaudhary et al., 2020; Khan et al., 2023; Taheri et al., 2025)

Por su parte, los bioplaguicidas o biopesticidas se basan en agentes biológicos que controlan malezas, enfermedades o plagas sin irrumpir en el ambiente o la salud humana

mediante mecanismos naturales, Estos pueden ser de tipo microbianos, botánicos, semioquímicos y bioquímicos (Hezakiel et al., 2024). Gracias a la modificación genética surgen los organismos modificados genéticamente (OMG) y con ello se han desarrollado plantas transgénicas con genes de virus o bacterias, con la capacidad de producir sus propios plaguicidas, como por ejemplo la inserción del gen *cry3A* de *Bacillus thuringensis* en la papa Bt para controlar el escarabajo de la papa (Narandžić et al., 2025; Singh et al., 2024).

- **Biocontroles**

El biocontrol dentro de la agricultura sostenible se refiere a el aprovechamiento de organismos antagonistas naturales o productos derivados de ellos para el control de enfermedades y plagas, con el fin de reducir progresivamente la dependencia de los agroquímicos sintéticos tóxicos con el medio ambiente y la salud humana, entre ellos se encuentran virus, bacterias y hongos (Vinchira-Villarraga et al., 2019).

El uso de controles biológicos como reemplazo de los métodos tradicionales, ha ganado auge en los últimos años debido a varios estudios realizados a nivel global sobre los peligros y efectos negativos de los agroquímicos en el ambiente como en los seres vivos (Lahlali et al., 2022); la eficacia del control biológico depende en gran medida de la adaptación de los agentes al ecosistema agrícola.

Existen tres tipos de controles biológicos, siendo estos el clásico, el cual implica la introducción de un enemigo natural a una plaga específica para que se establezca y controle la plaga a largo plazo, el aumentativo que consiste en la liberación de grandes cantidades de antagonistas para suprimir rápidamente una plaga existente, y de conservación, centrado en crear un entorno favorable para los organismos controladores nativos y mejorar la eficacia del biocontrol (Fernando et al., 2020).

## **Bacterias**

El uso de bacterias como control biológico funciona a través de los mecanismos naturales como la competencia por espacio y nutrientes, producción de antibióticos o enzimas líticas, inducción de resistencia sistémica a la planta, parasitismo directo o toxicidad hacia patógenos, las cuales a su vez pueden utilizarse como parte del manejo integrado de plagas (MIP) (Carranza-Patiño et al., 2023; Ferreira et al., 2019). Bacterias del género *Bacillus* y *Pseudomonas* son de los principales utilizados para el biocontrol por sus propiedades de producción de lipopéptidos, antibiosis e inducción de resistencia contra hongos como *Fusarium*, *Rhizoctonia* o *Botrytis* y mediante sideróforos, antibiosis y producción de enzimas degradativas para el control de *Phyitium*, *Phytophthora* o bacterias fitopatógenas respectivamente (Ajesh et al. (2025); Wang et al. (2025); Wu et al. (2025)

## **Virus**

A diferencia de las bacterias, el uso de los virus como biocontrol se enfoca más hacia las plagas de insectos, su tiempo de acción es más lento pero efectivo y altamente específico al replicarse dentro del huésped, y ser inocuos para humanos, animales o plantas; el mecanismo de acción empieza tras la ingesta del cultivo tratado con el virus, este se libera y replica, invadiendo las células del hospedero lo que conduce a la muerte y la liberación del virus al ambiente permitiendo la reinfección hacia nuevos insectos (Sharma & Gaur, 2021). El *Baculovirus* es un virus de doble cadena altamente específico y es el más utilizado a nivel comercial por su alta seguridad ambiental y su rango dentro de los lepidópteros, de igual forma se encuentra el *Densovirus* que infecta hemípteros y dípteros o *Iflavirus* produciendo infecciones latentes o crónicas en algunos insectos aunque tiene poca aplicación agrícola directa (Issa et al., 2021; Rohrmann, 2019; Soukhovolsky et al., 2023).

## **Insectos**

Los insectos como control biológico se enfocan en el aprovechamiento de organismos parasitoides, depredadores o competidores para la reducción de forma natural y sostenible de insectos plaga; como ejemplos comunes encontramos a *Coccinella septempunctata*, un depredador de la plaga de pulgones encontrada en cultivos hortofrutícolas y *Encarsia Formosa* es un endoparásito cuya plaga objetivo es la mosca blanca; su estrategia de aplicación inicia con la liberación inoculativa para establecer la población, seguida por la liberación inundativa en campo para efecto inmediato y la conservación para la protección de enemigos naturales presentes en el ecosistema (Clemente-Orta & Álvarez, 2019; Pérez-Hedo et al., 2023; U.R. Vianna et al., 2021)

## **Hongos**

Los hongos se definen como organismos eucariotas heterótrofos, los cuales pueden ser unicelulares o pluricelulares; estos toman un nombre diferente dependiendo de la fase en su ciclo de vida, teleomorfos durante su fase perfecta o sexual y anamorfos durante la fase asexual o imperfecta, los anamorfos se caracterizan por presentar estructuras reproductivas como conidios mientras que las estructuras sexuales son ascosporas o basidiosporas (Zúñiga-Castro & Quirós-Cedeño, 2021)

Estos son utilizados como control de plagas, nematodos, enfermedades fúngicas, inducción de resistencia, mejora de salud del suelo y una alternativa sostenible a los pesticidas químicos, debido a sus mecanismos de acción como la producción de enzimas o antibióticos, competencia por nutrientes o micoparasitismo (Barragán et al., 2022; Krystal Zúñiga-Castro & Gerald Quirós-Cedeño, 2021; Martínez, 2019).

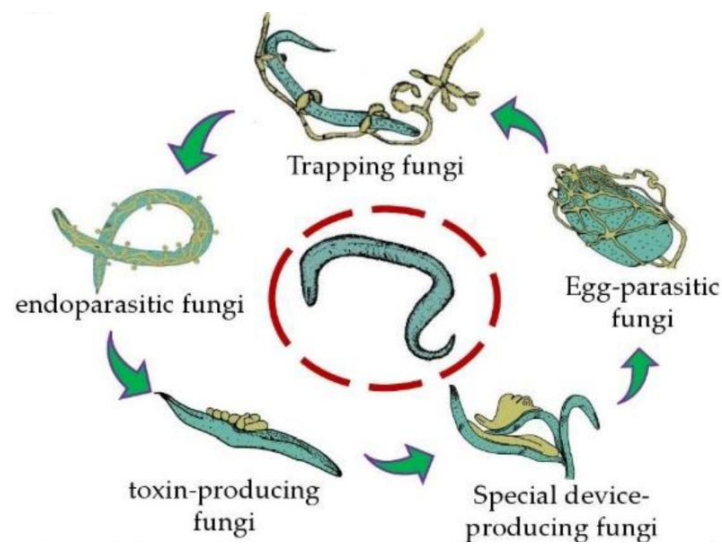
Los hongos entomopatógenos son organismos que causan enfermedades letales en insectos o arácnidos, por otro lado, los endófitos son organismos que establecen una relación simbiótica mutualista con la planta hospedera; bajo estos conceptos, estudiar hongos que posean estas propiedades resulta esencial para su uso como control biológico inocuo para el ambiente (Delgado et al., 2021; Mata & Torres, 2022).

Dentro de las especies más estudiadas con este fin se encuentran *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, hongos patógenos que parasitan a diferentes ordenes de insectos tales como al orden Hemiptera, Coleoptera o Lepidóptera, esta última además posee un amplio espectro de toxicidad que abarca a varios taxones (Pacheco Hernández et al., 2019). Por otro lado, *Trichoderma* spp., un hongo antagonista, es de los principales hongos utilizados para la comercialización de productos derivados debido a sus propiedades fitosanitarias, junto con *Bacillus subtilis* el cual forma el 53% de los bioproductos generados para el biocontrol en el Ecuador (Fernando et al., 2020).

#### *Hongos nematófagos*

Los hongos nematófagos son un grupo diverso de microorganismos con la capacidad de capturar, parasitar o producir toxinas contra nematodos fitopatógenos, estos modifican sus hifas en estructuras especializadas de captura, tales como redes, anillos, botones y columnas adhesivas que se adhieren a la cutícula de los nematodos; de esta forma se clasifican en hongos predadores, parásitos, parásitos de huevos de nematodos, productores de toxinas y de dispositivos especiales. (Rahman et al., 2023)

**Figura 3.** Mecanismos de captura de hongos nematófagos



*Nota.* Ilustración obtenida de Vera-Morales et al. (2023)

*Arthobotrys* es un género de hongos entomopatógenos y endófitos que se caracteriza por colonizar internamente al nematodo mediante esporas, logrando que sus hifas crezcan desde dentro del mismo; por otro lado, el género *Pleurotus* destaca por su producción de toxinas que inmovilizan a los nematodos y *Trichoderma*, el cual es el principal exponente de estudio para este mecanismo directo de acción nematocida (Fernández-Jiménez et al., 2019).

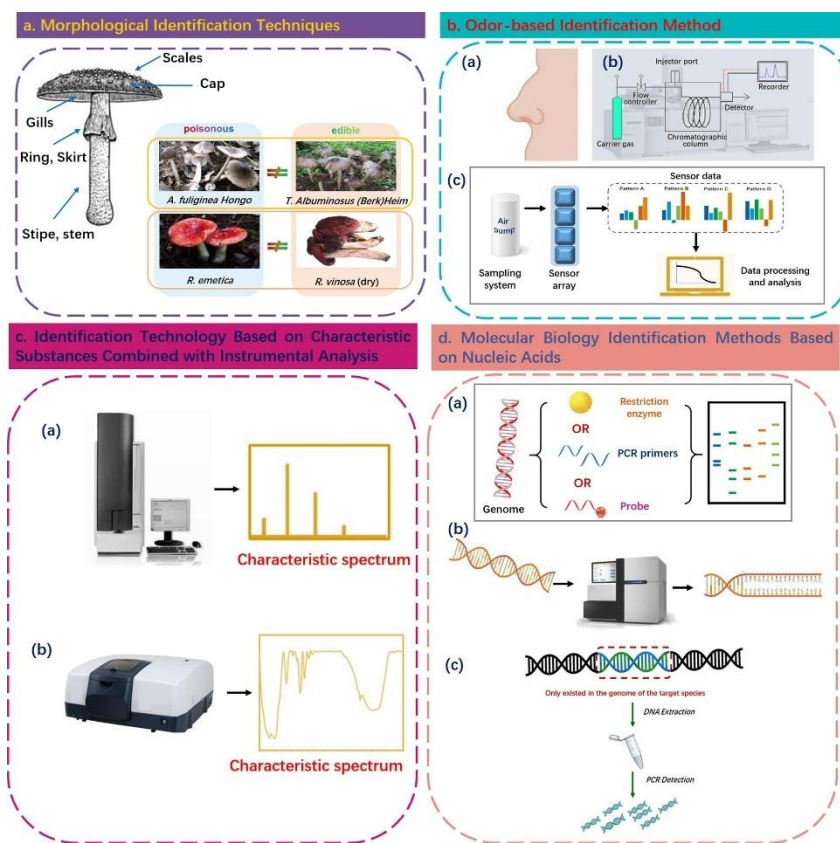
**Tabla 7.** *Controles biológicos más utilizados y sus mecanismos de control*

Biocontrol	Organismo	Patógeno	Mecanismo de control	Referencias
	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Lepidópteros	Producción de toxinas	(Ehling-Schulz et al., 2019)
Bacterias	<i>Pseudomona fluorescens</i>	<i>Pythium</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Ralstonia</i> , <i>Fusarium</i>	Producción de antibióticos, ISR	(S. et al., 2023)
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Botrytis</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Xanthomonas</i>	Producción de lipopeptidos, ISR	(Ajesh et al., 2025)
Virus	<i>Baculovirus</i>	Gusano cogollero, <i>Helicoverpa armigera</i>	Infección oral, muerte por lisis	(Bandi et al., 2019)
Insectos	<i>Trichogramma spp.</i>	<i>Spodoptera</i> , <i>Helicoverpa</i> , <i>Chilo</i>	Parasitismo de huevos	(U.R. Vianna et al., 2021)
	<i>Encarsia formosa</i>	Mosca blanca	Parasitismo de ninfas	(Koller et al., 2023)
	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Chizas, termitas, escarabajos	Infección cuticular, producción de enzimas y toxinas	(McGuire & Northfield, 2020)
Hongos	<i>Trichoderma spp.</i>	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Pythium</i> , <i>Sclerotinia</i>	Micoparasitismo, antibiosis, competencia por nutrientes	(Sood et al., 2020)
	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Bemisia</i> , <i>Thrips</i> , <i>Spodoptera</i> , escarabajos	Penetración cuticular, crecimiento interno, toxinas	(Dannon et al., 2020)

## 2.5. Técnicas de identificación y aislamiento de hongos

Estas técnicas permiten la identificación de hongos por medio de su patogenicidad, beneficio o producción de compuestos útiles, contribuyendo a su caracterización morfológica, genética y funcional (Oliveira & Azevedo, 2022).

**Figura 4.** Principales métodos de identificación de hongos



*Nota.* Ilustración obtenida de Wei et al. (2022)

### 2.5.1. Aislamiento

#### Aislamiento directo

Las muestras vegetales pasan por un proceso de lavado y esterilización superficial, usando agua estéril para eliminar residuos en la superficie de los tejidos y soluciones como cloro 1% para eliminar microorganismos no deseados, es importante recordar que la solución variará conforme el tejido al que se vaya a aplicar; posterior a ello, se colocan trozos del tejido en un medio de cultivo nutritivo con características similares al sitio del cual fue extraída la muestra y se espera a que haya algún crecimiento micelial; a partir de ello, se empieza el proceso de purificación de la cepa, donde se toma una muestra del hongo y se realiza un subcultivo, el

cual se deja esporular, estos se realizan cuantas veces sean necesarias hasta aislar de forma pura el hongo de interés. (Aragón & Beltrán-Acosta, 2018; Sakshi Gurunath Pednekar et al., 2025)

### **Diluciones seriadas**

Se toma una muestra de 1g del suelo o material orgánico y se suspende en una solución con agua peptona, solución salina o de sacarosa dependiendo de la muestra, se homogeniza la solución y se toma 1ml de la solución madre para realizar diluciones seriadas hasta alcanzar la concentración deseada, se toman 100 µl de las diluciones deseadas y se inoculan placas con medio de cultivo por extensión usando un asa de Drigalsky ; las placas se revisan a partir de las 24 horas para identificar crecimiento micelial de interés y se aíslan individualmente en nuevas placas (Santander-Cortés & Castro-Rosas, 2024)

### **Cámara húmeda**

Esta técnica toma fragmentos vegetales de materia orgánica, del propio hongo de interés o incluso insectos colonizados por hongos, los cuales se colocan en cajas Petri con gotas de agua o trozos de algodón húmedos e incuban en este ambiente húmedo para favorecer la esporulación, cuando estos crecen y esporulan lo suficiente, se toma un conidio de cada uno y se siembran en nuevas cajas para empezar el aislamiento individual de los organismos. (Alcantara-Vargas et al., 2020).

## **2.5.2. Identificación**

### **Micro y macro morfológica**

El uso de claves dicotómicas resulta en una herramienta útil y eficiente para la identificación, ya que de forma sistemática logra reducir opciones en base a características físicas o propiedades observables (Rúa-Giraldo, 2023). En la caracterización morfológica se analiza el crecimiento, la forma, color, textura, márgenes y la elevación del microorganismo,

esta a su vez se puede complementar con la observación microscópica en donde se tiñen las estructuras de los hongos para una mejor visualización bajo el microscopio (Sakshi Gurunath Pednekar et al., 2025).

También se pueden realizar pruebas complementarias fisiológicas como la tolerancia a sales, temperaturas o pH, así como pruebas bioquímicas de degradación de celulosa, lignina, entre otros (Escobar-Alonso et al., 2019; Hernández et al., 2024; Lara Icaza, 2019; Ospina et al., 2020)

### **Molecular**

Entre ellos se encuentran técnicas como la PCR convencional que permite la detección específica de grupos o especies usando las regiones ITS y los genes  $\beta$ -tubulina y TEF1- $\alpha$  (Salazar-Villa et al., 2025). La PCR-RFLP y q-PCR utilizan las regiones ITS también, con la diferencia que realiza el análisis de patrones de fragmentos y cuantifica el ADN fúngico en tejidos o suelo respectivamente (Oliveira & Azevedo, 2022). La secuenciación Sanger por otro lado, compara sus resultados en bases de datos como GenBank o UNITE mediante la región ITS (Wei et al., 2022).

## Capítulo 3

### Materiales y Métodos

El presente estudio fue parte integrante del proyecto de investigación CIBE-12-2023 titulado “Caracterización de la biodiversidad biológica de microorganismos asociados a plantas vasculares y no vasculares antárticas con fines de bioprospección”. La metodología mencionada a continuación se llevó a cabo en el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) en el área de Fitopatología. La metodología empleada en la investigación se ilustra en la **Figura 5**.

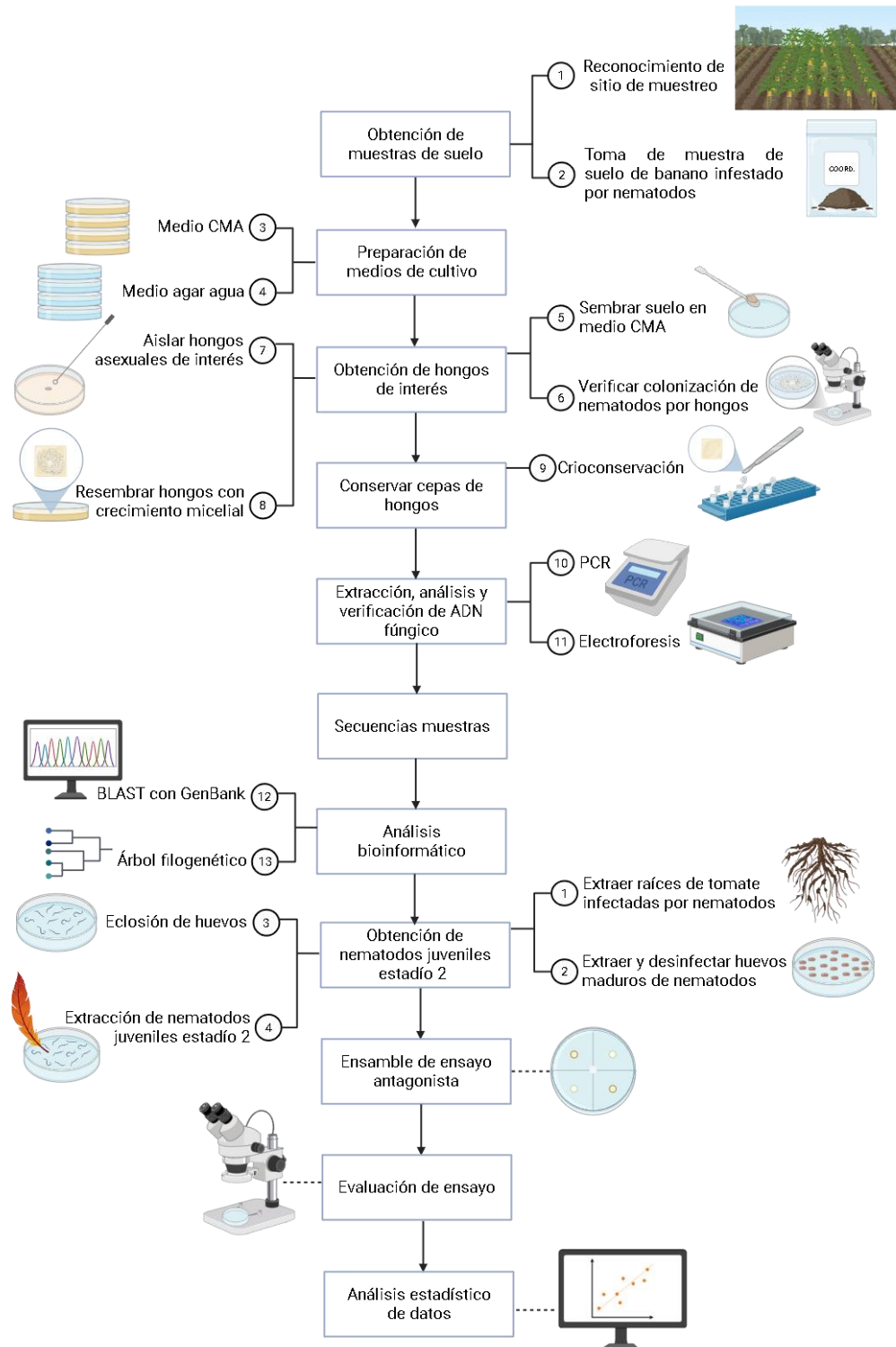
#### 3.1. Obtención de la muestra

##### 3.1.1 Ubicación

Las muestras de suelo utilizadas para el aislamiento de nematodos fueron recolectadas en una plantación de banano (*Musa* spp. L.) ubicada en la Granja Experimental Agrícola (GEA) de la Escuela Superior Politécnica de Litoral (ESPOL), en el campus Gustavo Galindo en el Km 30.5 Vía Perimetral, Guayaquil-Ecuador (**Figura 6**) (**Anexo 1**). Esta zona se caracteriza por presentar un ecosistema de bosque seco tropical y suelo de tipo arcilloso, condiciones propicias para el desarrollo de cultivos musáceos y la proliferación de fitonematodos.

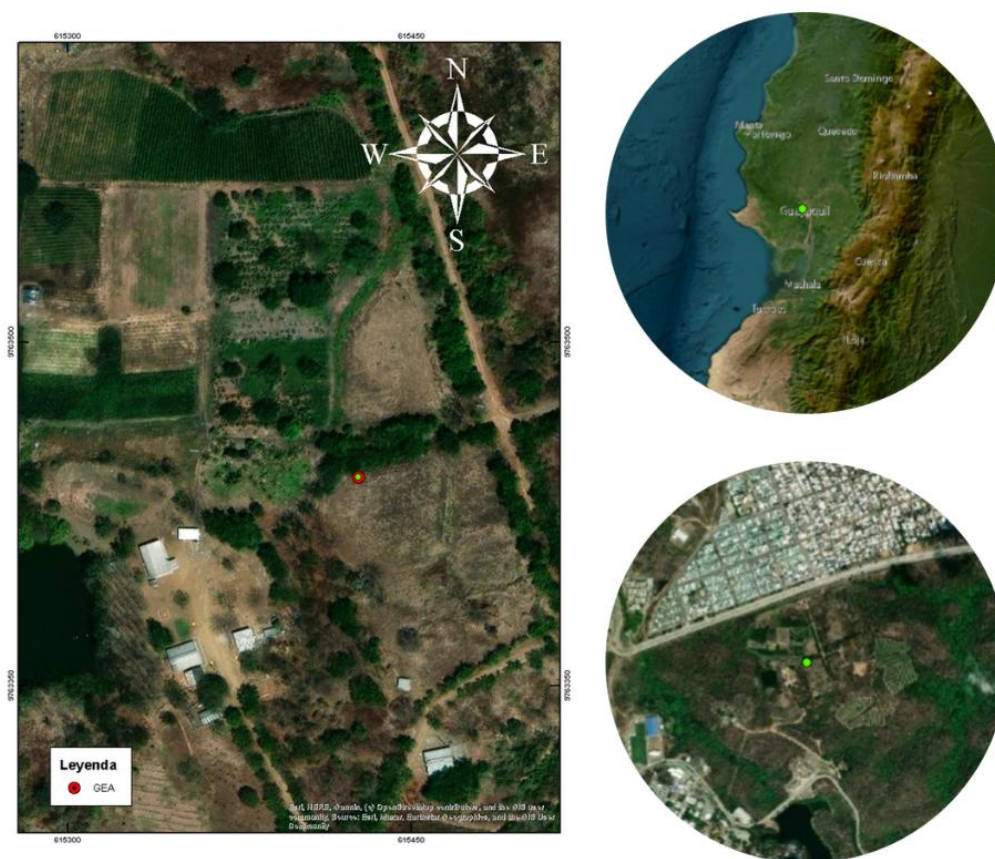
La parcela seleccionada tiene antecedentes de infestación por nematodos formadores de agallas (*Meloidogyne* spp.), evidenciados por síntomas observables como engrosamientos radiculares y reducción en el vigor de las plantas. El sitio se encuentra georreferenciado con coordenadas aproximadas DMS 2°08'23.5"S 79°57'43.3"W.

**Figura 5. Esquema metodológico**



*Nota.* Ilustración creada con BioRender.com, por el autor (2025).

**Figura 6.** Mapa de ubicación geográfica de sitio de muestreo

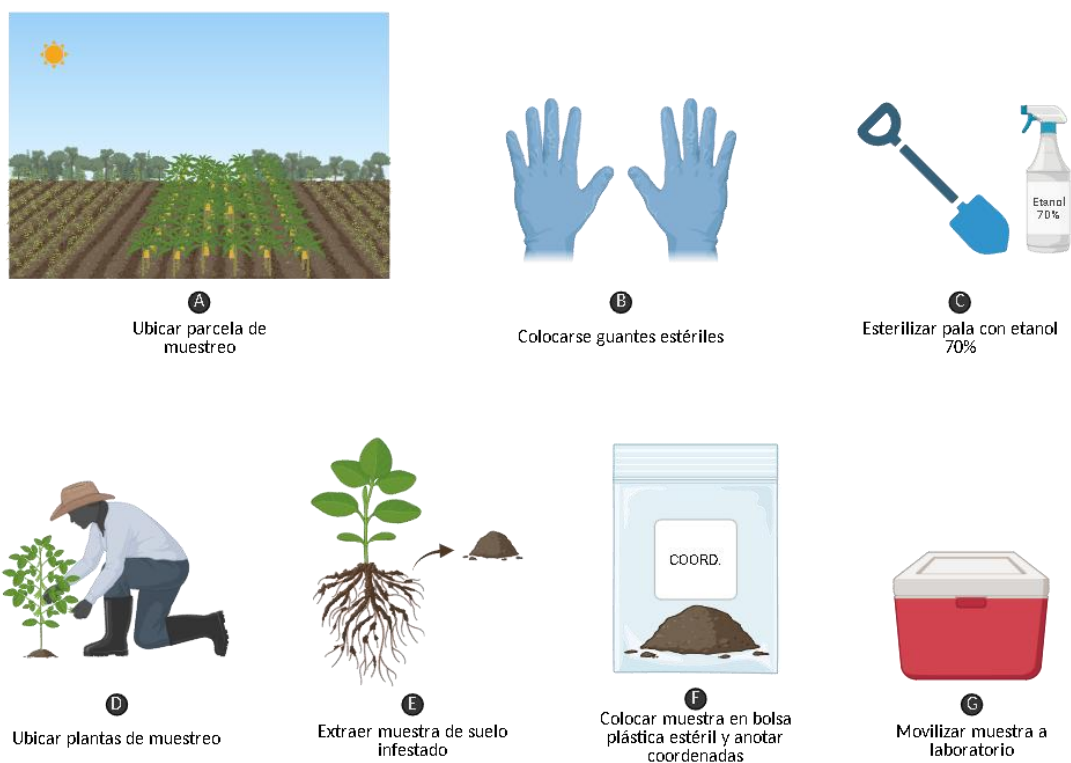


*Nota.* Ilustración creada con ArcGis, por el autor (2025).

### 3.1.2 Técnica de muestreo

Siguiendo el protocolo de Moreno Rodríguez et al. (2020), las muestras se recolectaron con guantes estériles y una pala desinfectada con alcohol 70%. Luego fueron llevadas al laboratorio en bolsas plásticas estériles, empleando una hielera.

**Figura 7. Técnica de muestreo de suelo**



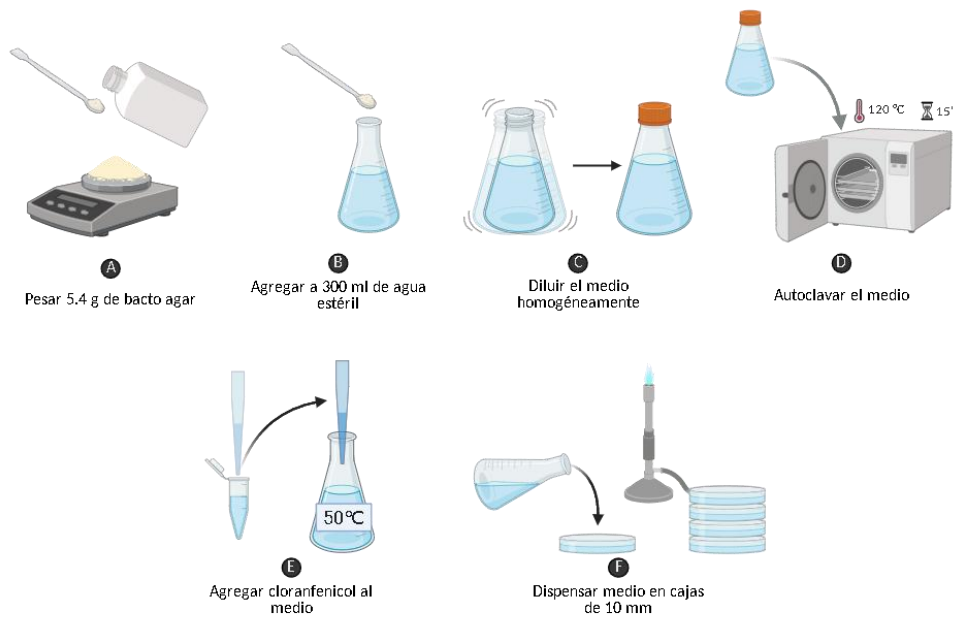
*Nota.* Ilustración creada con BioRender.com, por el autor (2025).

### 3.2. Procesamiento de la muestra.

Previo al procesamiento de las muestras se preparó medio agar-agar suplementado con antibiótico de amplio espectro (cloranfenicol 10mg/L) (**Figura 8**), para evitar el crecimiento de bacterias., y medio de cultivo agar harina de maíz (CMA) (**Figura 9**). El medio de cultivo natural fue elaborado con harina de maíz. Se peso 30 g/L de harina de maíz y se añadió 15g/L de BD Difco™ Bacto™. Luego se calentó hasta hervir, se filtró y se autoclavó a 121°C y 1 atmósfera de presión.

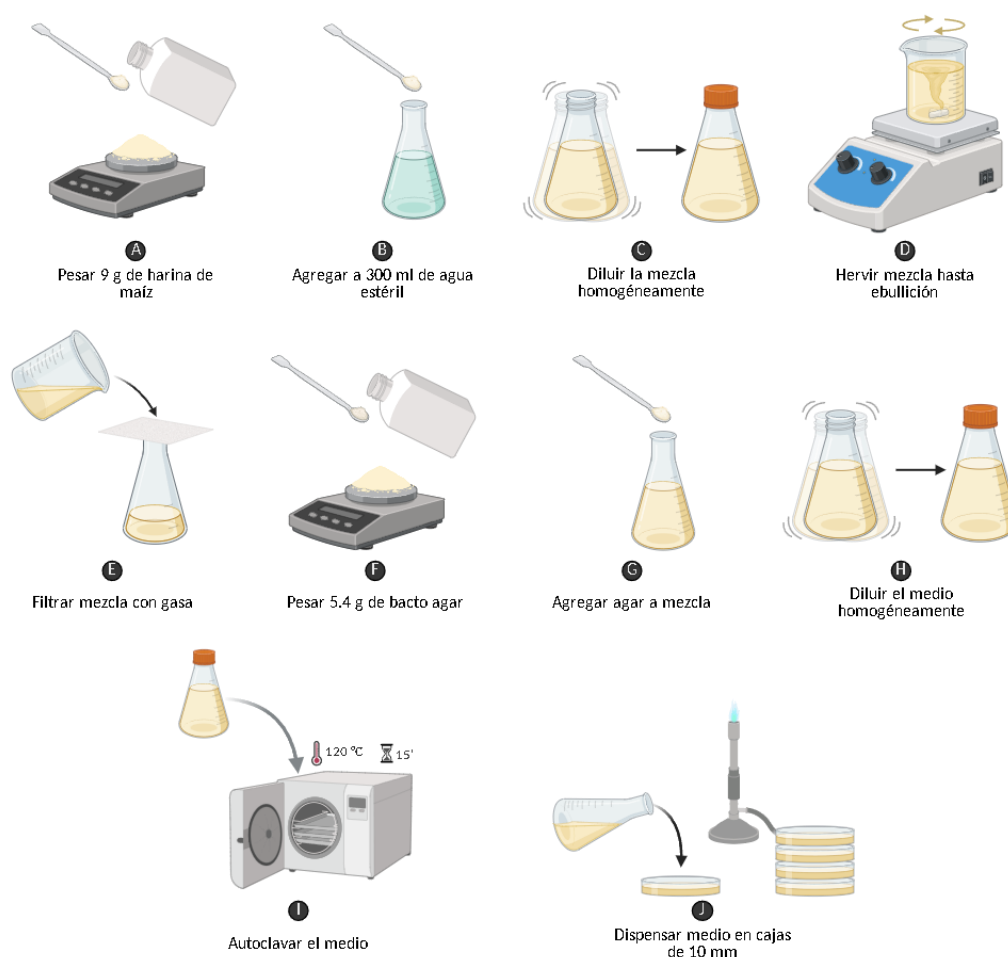
Se inoculó el suelo siguiendo la metodología de Rodríguez Ríos (2019).

**Figura 8.** Preparación de agar-agar suplementado con antibiótico



*Nota.* Ilustración creada con BioRender.com, por el autor (2025).

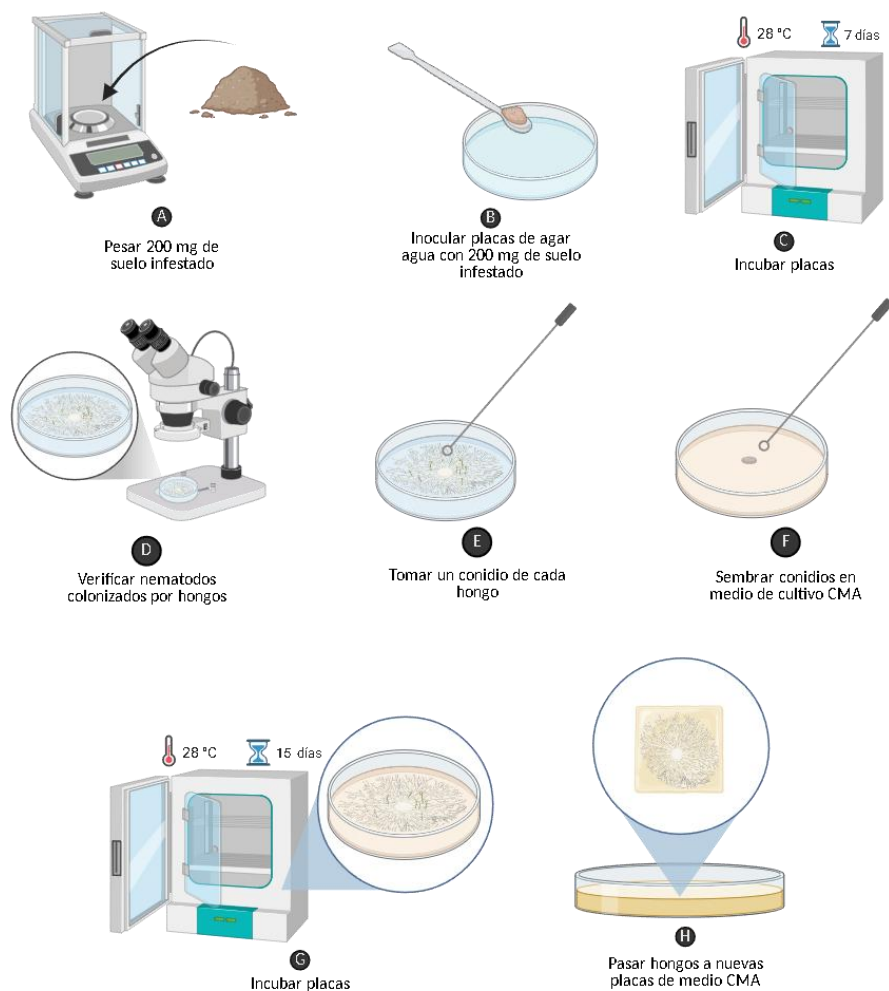
**Figura 9.** Preparación de medio agar harina de maíz (CMA)



*Nota.* Ilustración creada con BioRender.com, por el autor (2025).

De acuerdo a Wang et al. (2019), en cada una de las placas de Petri se inocularon 200 mg de suelo de banano dentro de la cámara de flujo laminar. Luego se sellaron las placas y se incubaron a 28°C por siete días. Después de los siete días, se revisaron las placas de Petri bajo un estereomicroscopio Motic SMZ-171-TLED y se verificaron que los nematodos estén colonizados con hongos asexuales. Con la ayuda de agujas de siembra se tomó un conidio de cada hongo y se sembraron en medio de cultivo natural (CMA) previamente elaborado. Los hongos aislados se revisaron diariamente hasta los 15 días después de su siembra. Luego de detectar crecimiento micelial, fueron pasados a nuevos medios de cultivo de agar harina de maíz.

**Figura 10.** Aislamiento de hongos asexuales de interés

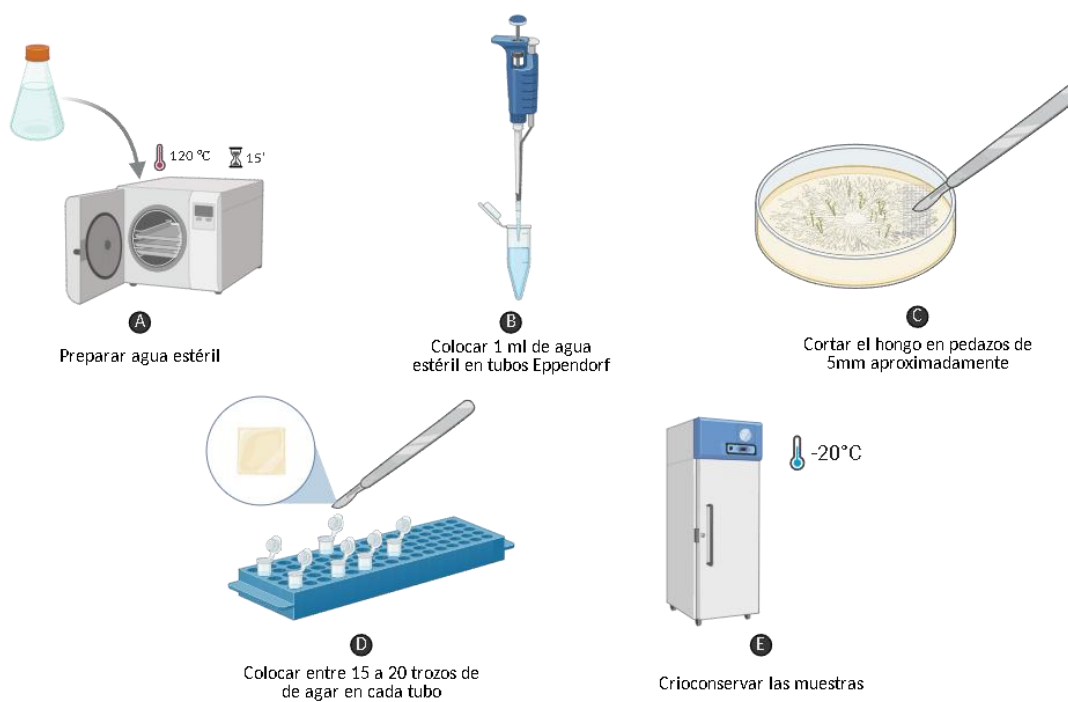


*Nota.* Ilustración creada con BioRender.com, por el autor (2025).

### 3.3. Conservación de muestras

Luego de crecer en el medio, se conservaron los hongos según la metodología de Escalante et al. (2023) y se emplearon tubos Eppendorf de 1.5mL con 1 mL de agua estéril. Se cortó el hongo con el agar en cuadrados de aproximadamente 5 mm cada uno, y se introdujeron de 15 a 20 trozos en cada tubo. Los tubos fueron crioconservados a  $-20^{\circ}\text{C}$  para futuras investigaciones.

**Figura 11.** *Conservación de cepas fúngicas*



*Nota.* Ilustración creada con BioRender.com, por el autor (2025).

### 3.4. Identificación de hongos asexuales

#### 3.4.1. Descripción morfológica

Se analizó la apariencia general macromorfológica del hongo tras su crecimiento aislado en medio CMA, entre ellas características como su forma, color, textura y tamaño. Para la descripción micromorfológica de los hongos, se realizó una preparación de impresión con cinta adhesiva y una preparación en fresco de muestras en portaobjetos con tinción de azul de algodón para observar la morfología y estructura de los hongos de interés. Se contabilizaron y fotografiaron 20 conidios y 10 ramas terminales de conidióforos respectivamente en cada hongo, las cuales serán analizadas con el programa Fiji para las mediciones respectivas de las estructuras.

De acuerdo a Smith et al. (2022), estos resultados fueron comparados mediante revisión bibliográfica en bases de datos de hongos, tales como Fungorumy MycoBank para realizar la identificación mediante claves dicotómicas.

### **3.4.2. Caracterización molecular**

#### **Extracción de ADN fúngico**

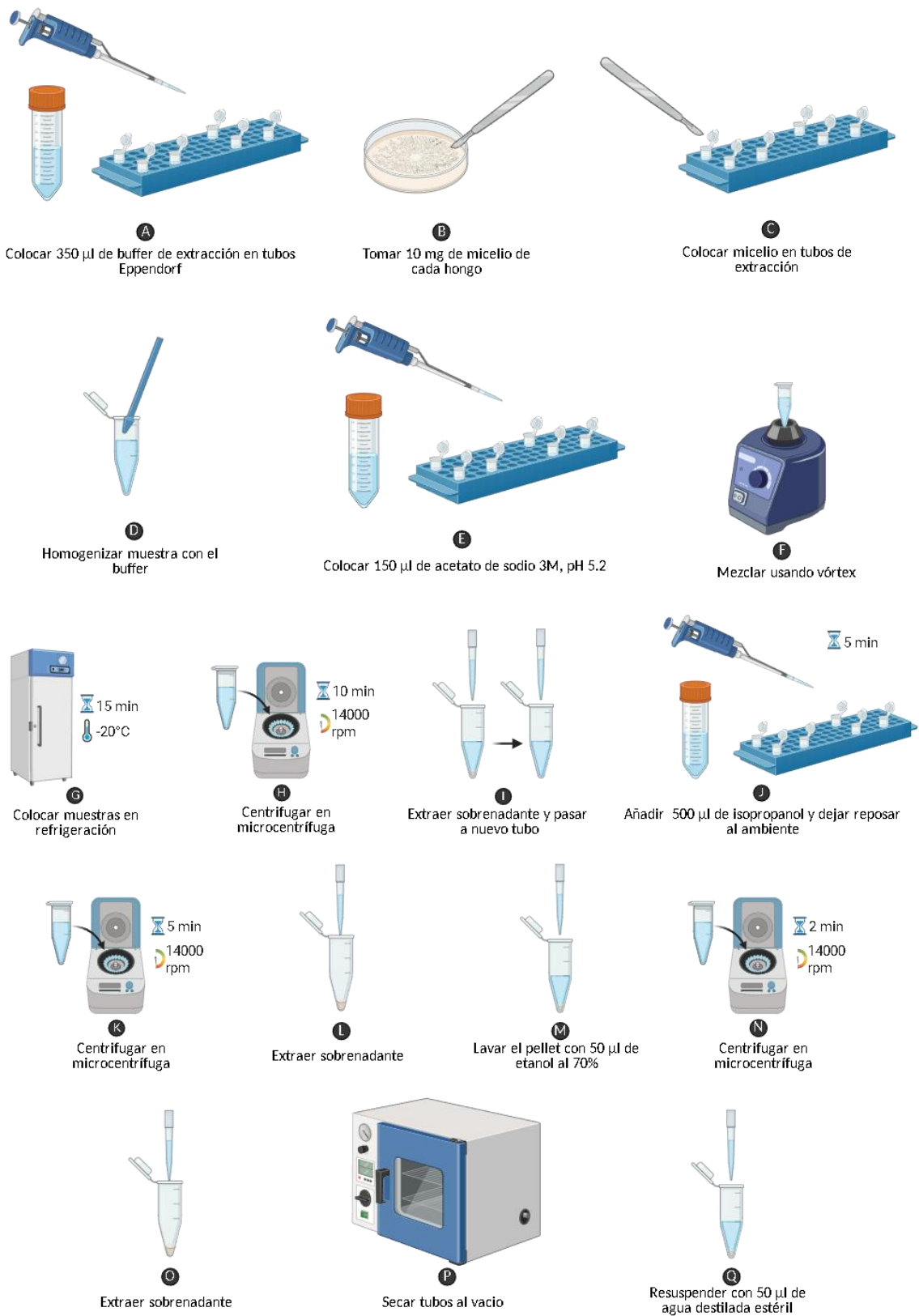
Para la extracción de ADN de hongos, se siguió el protocolo de Cenis (1992), para el cual se requirió un buffer de extracción de hongos, que está compuesto de Tris HCl 1M, NaCl 5M, EDTA 200mM, SDS 10% y agua libre de nucleasas o grado biología molecular. A su vez, las soluciones fueron preparadas individualmente de la siguiente manera:

Para la preparación del Tris HCl 1M se disolvieron 12,1 g de Tris base en 80 ml de agua libre de nucleasas y se ajustó el pH a 8.5 agregando HCl concentrado. Se ajusto el volumen de la solución a 100 ml y se filtró con un filtro estéril de 0,22  $\mu$ m. Para el NaCl 5M se pesaron 29,2 g de cloruro de sodio y se añadieron 80 ml de agua ultrapura, se disolvió el NaCl con un agitador magnético y se ajustó el volumen a 100ml para luego ser autoclavado por 20 min a 15 psi. Para el EDTA 200mM se disolvió 1,7 g de EDTA en 80 ml de agua destilada y luego se aforo hasta 1000 mL. Para preparar el SDS 10% se agregaron 10 g de SDS en 80 ml de agua desionizada, se calentó la solución a 40 C – 50 C hasta que se disolvió completamente y se ajustó el volumen final a 100 ml. Es importante recordar que esta solución no debe ser autoclavada. Por último, para preparar el acetato de sodio 3M (pH 5.2) se añadieron 24,61 g de acetato de sodio en 80 ml de agua destilada e inmediatamente se ajustó el pH a 5.2. Se dejó reposar la solución por la noche y se verificó el pH 5.2 por la mañana. La solución se ajustó a 100 ml, para poder ser filtrada y esterilizada.

Se tomaron alrededor de 10 mg de micelio de los hongos, y se colocaron en tubos de 1.5 ml con 350  $\mu$ l de buffer de extracción de ADN de hongos. Usando un micropistilo estéril

se homogenizaron las muestras y luego se añadieron 150  $\mu$ l de acetato de sodio 3M, pH 5.2 y se mezclaron completamente usando un vórtex. Se colocaron las muestras en el refrigerador - 20°C durante 15 minutos, y posteriormente se centrifugaron en una microcentrífuga durante 10 min a 14000 rpm. Tras culminar el ciclo, se extrajo el sobrenadante y se colocó en un nuevo tubo de 1.5 ml. A estos se añadieron 500  $\mu$ l de isopropanol y se dejaron reposar durante 5 min a temperatura ambiente, luego se centrifugaron durante 5 min a 14000 rpm. Se extrajo el sobrenadante y se realizó un lavado al pellet con 50  $\mu$ l de etanol al 70%, para el cual se realizó una última centrifugación durante 2 min a 14000 rpm. Finalmente, se extrajo y desecho el sobrenadante, los tubos se secaron al vacío y el ADN se resuspendió con 50  $\mu$ l de agua destilada estéril.

**Figura 12.** *Protocolo de extracción de ADN fúngico*



*Nota.* Ilustración creada con BioRender.com, por el autor (2025).

### **Análisis, verificación y secuenciación de ADN fúngico**

Siguiendo el protocolo de Akwa et al. (2020), la calidad del ADN fúngico, por su concentración y pureza, fueron confirmados mediante cuantificación en espectrofotómetro Nanodrop 2000 ThermoScientific™. El ADN fúngico se amplificó empleando el protocolo de PCR, usando los cebadores de la **Tabla 8** y el termociclador Aeris™ (ESCO).

**Tabla 8.** *Primers utilizados*

<b>Primers</b>	<b>Secuencia</b>
ITS1	(5'TCC GTA GGT GAA CCT GCG G 3')
ITS4	(5'TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3')

*Nota.* Por el autor (2025).

Se preparó un buffer de reacción de 200 µl para 8 muestras, utilizando 100 µl de Thermo Scientific™ DreamTaq™, 84 µl de Thermo Scientific™ agua libre de nucleasas y 25 µl de cada cebador respectivamente; se colocaron 24 µl de buffer en cada tubo junto con 1 µl de ADN fúngico extraído previamente. Se siguió el programa en termociclador expuesto en la **Tabla 9**.

**Tabla 9.** *Programa de PCR para amplificación de ADN fúngico empleado*

<b>Temperatura</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Ciclos</b>
94°C	4 min	1
94°C	30 s	
60°C	30 s	35
72°C	1 min	
72°C	10 min	1

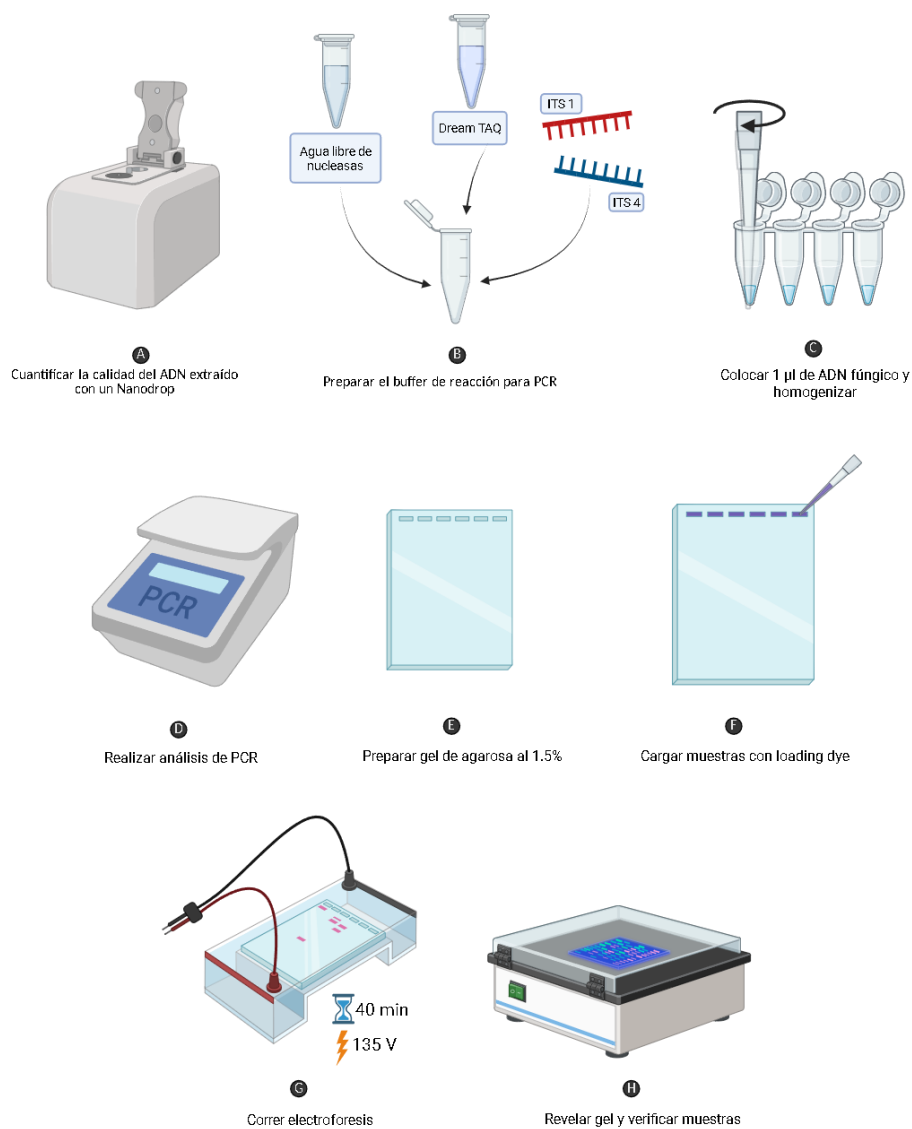
*Nota.* Por el autor (2025).

Los productos de PCR se confirmaron mediante electroforesis en gel de agarosa (1.5 %), utilizando Invitrogen™ Tinte de gel de ADN SYBR™ Safe para ayudar a la visualización de

los fragmentos de ADN. Se cargaron 5  $\mu$ l de cada muestra de hongos con 1  $\mu$ l de TrackIt™ Cyan/Orange Loading Buffer junto con un blanco y TrackIt™ 1 Kb Plus DNA Ladder como marcador molecular.

Posteriormente, las muestras fueron enviadas a *Psomagen*, Estados Unidos (<https://www.psomagen.com/>), para ser secuenciadas utilizando la técnica Sanger en una secuenciación bidireccional de diferentes regiones del genoma (ITS).

**Figura 13.** Técnica para la cuantificación, análisis y verificación del ADN fúngico extraído



*Nota.* Ilustración creada con BioRender.com, por el autor (2025).

La identificación y verificación de especies de los aislamientos recolectados se realizaron mediante búsqueda de similitud de secuencias en la base de datos de BLAST de nucleótidos del GenBank, adaptado de Chethana et al. (2018), el programa de megablast para la identificación de las cepas aisladas y un discontinuous megablast para la recopilación de secuencias similares que permitan una mejor visualización de los hallazgos, se utilizó el parámetro de algoritmo generales de un máximo de 50 secuencias mostradas; las secuencias fueron seleccionadas según su porcentaje de identidad.

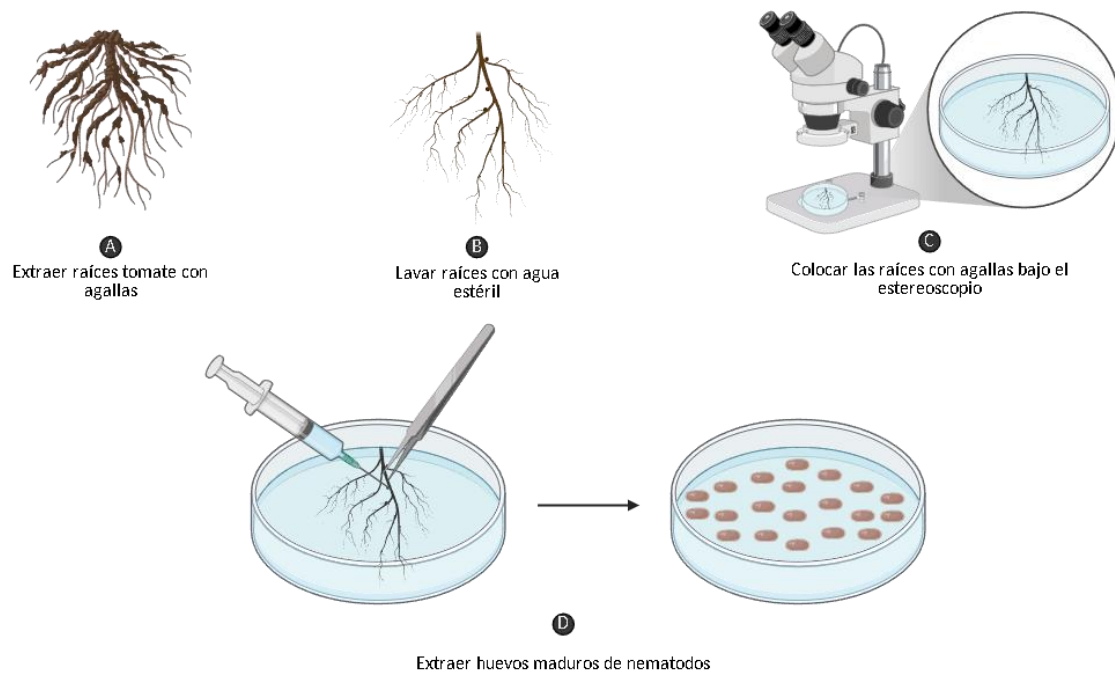
La limpieza de secuencias se realizó en el programa Geneious 10.2.6, las cuales luego fueron alineadas entre ellas para ser exportadas al programa MEGA12 y encontrar el mejor modelo de sustitución a utilizar para la construcción del árbol filogenético de acuerdo a Zou et al. (2024). Se utilizó el método de construcción de árbol de vecino más cercano (NJ), el modelo de sustitución fue de Tamura Nei (TN93+G+I) utilizando un bootstrap de 100 en el software Geneious.

### **3.5. Ensayo de antagonismo**

#### ***3.5.1 Extracción de huevos maduros de nematodos***

Según Luc et al. (1993), se extrajeron raíces de tomate infectadas con nematodos formadores de agallas y se enjuagaron con agua para eliminar el exceso de tierra. Se colocaron las raíces en una caja Petri con agua bajo el estereomicroscopio. Se realizó la extracción de huevos maduros con ayuda de pinzas para sujetar las raíces y una aguja para evitar dañar los huevos.

**Figura 14.** *Técnica para la extracción de huevos maduros de nematodos*

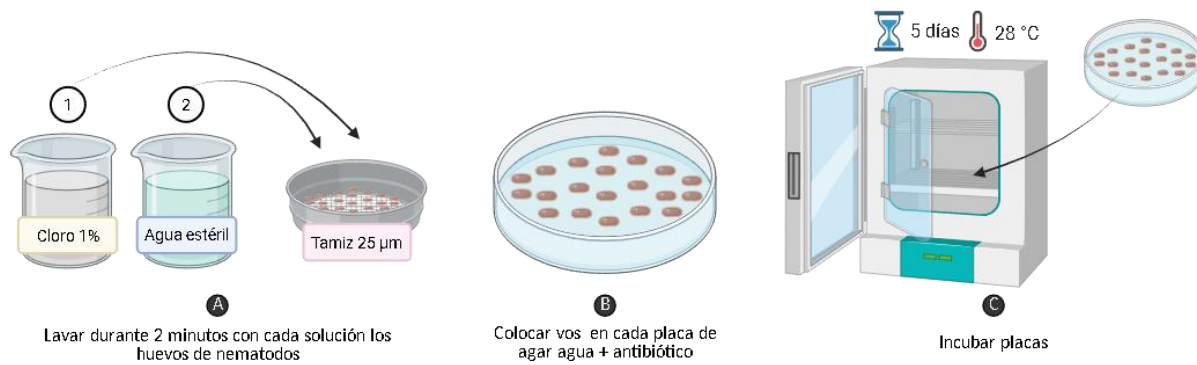


*Nota.* Ilustración creada con BioRender.com, por el autor (2025).

### 3.5.2 Desinfección y siembra de huevos maduros de nematodos

Posteriormente, se realizó la desinfección de los huevos a través de lavados de dos minutos cada uno con cloro al 1% y agua estéril usando un tamiz de 25  $\mu\text{m}$ . Seguido a esto, se colocaron 25 huevos maduros en placas con agar-agar y antibiótico. Finalmente, las placas se colocaron en una incubadora Precision Scientific Illuminated Low Temperature 818 a 28 C durante 5 días y fueron revisadas diariamente hasta que los huevos eclosionaron.

**Figura 15.** Técnica para la siembra y eclosión de huevos maduros de nematodos viables

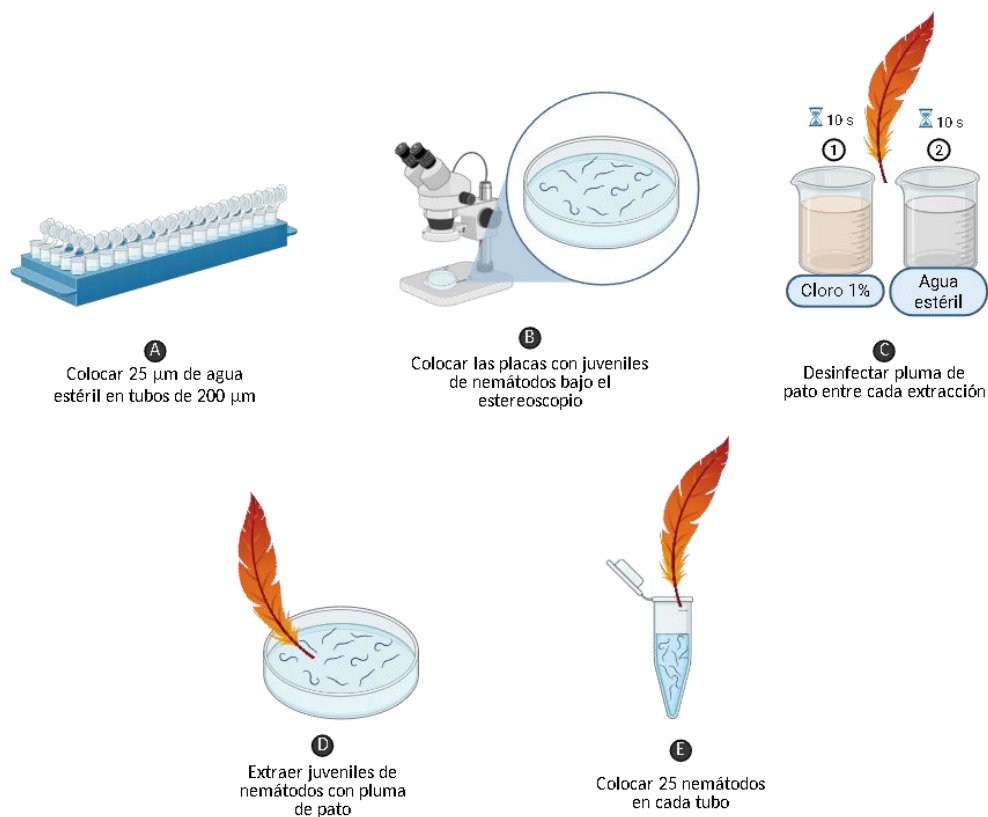


*Nota.* Ilustración creada con BioRender.com, por el autor (2025).

### 3.5.3 Extracción de nematodos juveniles en estadio 2

Continuando la metodología de Luc et al. (1993), se dispensaron 25  $\mu\text{m}$  de agua estéril en tubos de 200  $\mu\text{m}$ . Se utilizó una pluma de pato previamente cortada transversalmente en la punta para la recolección de los nematodos, esta fue desinfectada entre cada extracción con cloro 1% y agua estéril durante 10s respectivamente. Se colocaron las placas previamente incubadas con juveniles estadio 2 de nematodos bajo el estereomicroscopio y se extrajeron los nematodos, los cuales fueron colocados en los tubos con 25  $\mu\text{m}$  de agua estéril.

**Figura 16.** *Técnica de extracción para juveniles estadio 2 de nematodos*

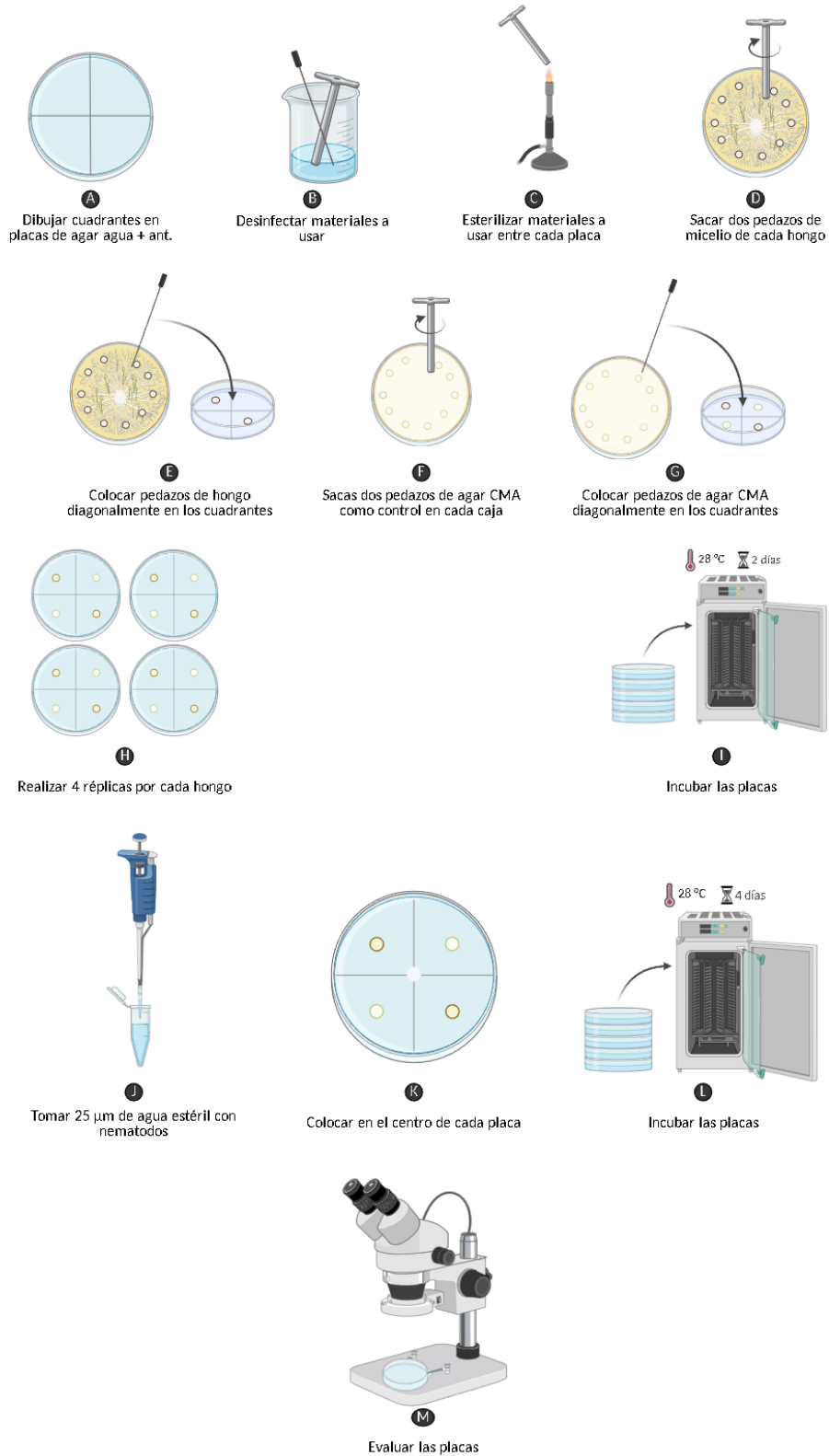


*Nota.* Ilustración creada con BioRender.com, por el autor (2025).

### 3.5.4 Ensamble de ensayo antagonista

Se siguió la metodología de Vera-Morales et al. (2024), en la que se preparó una placa de agar-agar con antibiótico y se la separó en cuadrantes, en donde el cuadrante I y III serán el tratamiento del hongo nematófago y los cuadrantes II y IV de control con discos de 0,5 mm de agar CMA. Se dejaron crecer dos días los hongos en la incubadora a 28 C y se colocó 25 µl de nematodos juveniles en estadio 2 en el centro de la placa. Se realizaron 4 réplicas por cada hongo y se evaluó la tasa de mortalidad de los nematodos en las placas a los 4 días de incubación.

**Figura 17.** Metodología para ensayo antagonista



*Nota.* Ilustración creada con BioRender.com, por el autor (2025).

### 3.6. Diseño experimental

Usando como guía el modelo de Vera Moreno et al. (2018), se siguió un Diseño Completamente al Azar (DCA) para el estudio del efecto de un factores, las cepas aisladas de hongos asexuales y sus tratamientos aplicados, sobre la variable de respuesta, la capacidad de captura de los hongos frente a nematodos; bajo la misma unidad experimental siendo cajas Petri.

**Tabla 10.** *Variables del diseño experimental*

	<b>Variable</b>	<b>Tipo</b>	<b>Réplicas</b>
<b>Cepas</b>	Independiente	Cualitativa nominal	4
<b>Tratamiento</b>	Independiente	Cualitativa nominal	2
<b>Captura</b>	Dependiente	Cuantitativa discreta	8

*Nota.* Por el autor (2025).

#### 3.6.1 Modelo lineal

Según Mohr et al. (2022), el modelo lineal aditivo de un solo factor utilizando comúnmente para el análisis ANOVA se expresa de la siguiente manera:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

**Tabla 11.** *Variables del modelo lineal*

<b>Expresión</b>	<b>Variable</b>
$Y_{ij}$	Valor observado de la variable independiente
$\mu$	Media general
$\alpha_i$	Efecto del tratamiento $i$
$\epsilon_{ij}$	Error aleatorio $\sim N(0, \sigma^2)$

*Nota.* Por el autor (2025).

Se verifico la normalidad mediante una prueba de Smirnov y una gráfica de Q-Q plot para la visualización de datos y confirmación del p-value. La homocedasticidad se evaluó utilizando la prueba de Levene y visualizada mediante un gráfico de Residuos vs Valores

ajustado de dispersión. A partir de los valores obtenidos se estableció un análisis de varianza (ANOVA) en busca de diferencias significativas entre la efectividad de las cepas, del cual luego se aplicó una prueba post-hoc de Tukey para la comparación entre el tratamiento y control de cada cepa. El análisis se realizó con la IDE para lenguaje R, Rstudio V4.5.1.

### 3.6.2 Hipótesis

Se plantean hipótesis para determinar si existen diferencias significativas entre el tratamiento y control de cada cepa, y entre cada cepa de forma independiente.

**Tabla 12.** *Hipótesis planteadas para el diseño experimental*

<b>Variabes</b>	<b>Hipótesis nula</b>	<b>Hipótesis alternativa</b>
	$(\mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D)$	$(\mu_A \neq \mu_B \neq \mu_C \neq \mu_D)$
$\alpha_i$	No hay diferencias significativas en la capacidad de captura entre hongos, las medias son iguales.	Hay diferencias significativas, al menos un hongo difiere en su capacidad de captura; las medias no son iguales.

*Nota.* Por el autor (2025).

### 3.7. Índice de quimiotaxis

Además, se tomó en consideración el índice de quimiotaxis (CI) para medir la capacidad del nematodo para moverse en respuesta a un gradiente químico producido por las cepas, siendo para encontrar o evitar estas sustancias en el ambiente; siguiendo la fórmula de Margie et al. (2013):

$$CI = \frac{(\text{Nematodos en área de tratamiento} - \text{Nematodos en área de control})}{\text{Número total de nematodos usados en el ensayo}}$$

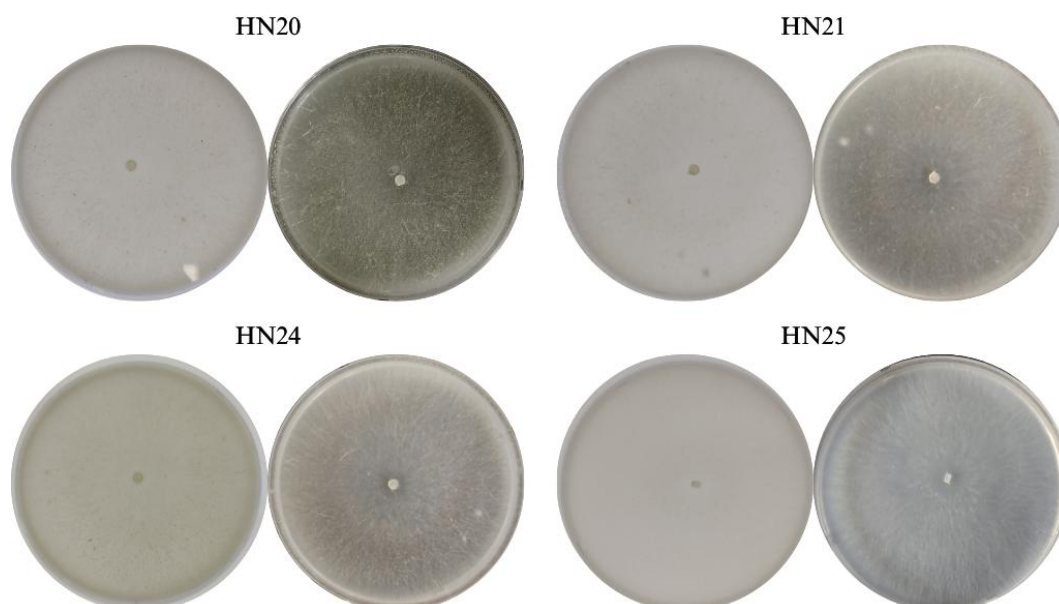
## Capítulo 4

### Resultados y Discusiones

#### 4.1 Aislamiento de especies de hongos nematófagos

Se aislaron 25 cepas de hongos asexuales, de las cuales se escogieron 4 para esta investigación, los cuales se identificaron como HN20, HN21, HN24 y HN25.

**Figura 18.** *Hongos nematófagos aislados*



*Nota.* Por el autor (2025)

##### 4.1.1. Caracterización morfológica

###### Macroscópica

Los cuatro hongos compartían las mismas características, siendo estas un crecimiento rápido, color blanco, sin elevación con bordes lisos, uniformes y de textura algodonosa (**Figura 18**).

###### Microscópica

Se utilizó un microscopio Zeiss Axioskop 2 Plus Ergonomic Trinocular - Dual View Option para la identificación microscópica de estructuras internas.

### *Mediciones estructuras internas fúngicas*

Se midieron 20 conidios y 10 ramas terminales de conidióforos de cada cepa (**Figura 19**) a los que se les aplicó una estadística de resumen de medidas (**Anexo 2, Anexo 3, Anexo 4, Anexo 5**), los resultados se evidencian en la **Tabla 13**.

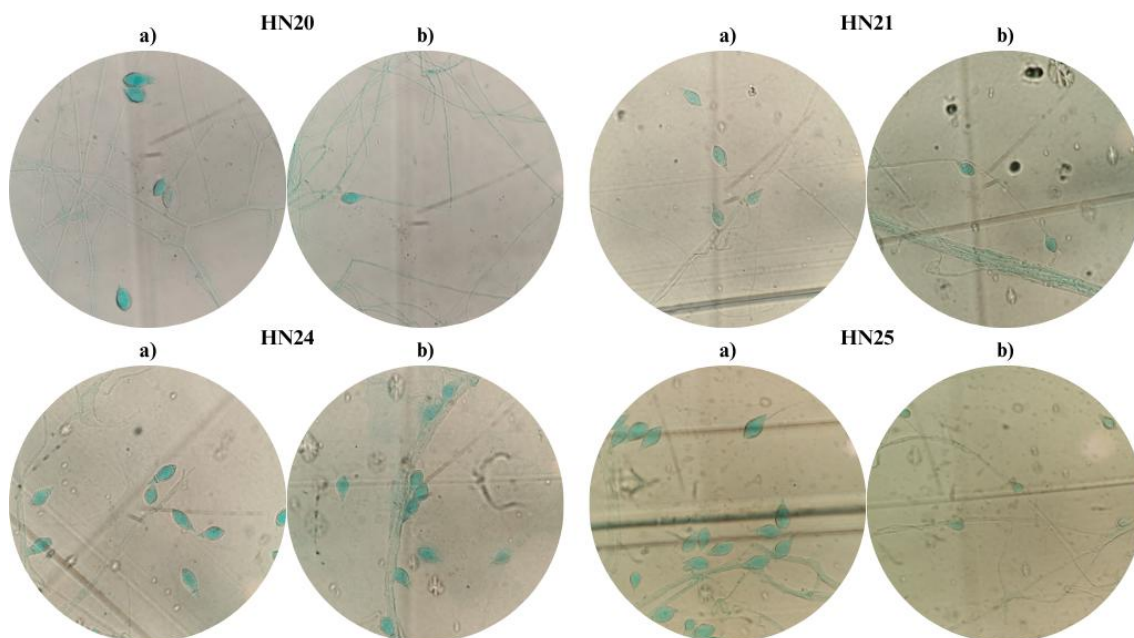
**Tabla 13.** *Medias de las mediciones de estructuras internas de cepas*

<b>Cepa</b>	<b>Estructura</b>	<b>Alto (μm)</b>	<b>Ancho (μm)</b>
<b>HN20</b>	Conidios	8.18	4.60
	Conidióforos	61.98	0.81
<b>HN21</b>	Conidios	6.15	2.90
	Conidióforos	46.40	1.07
<b>HN24</b>	Conidios	7.38	3.42
	Conidióforos	45.28	1.26
<b>HN25</b>	Conidios	7.29	3.04
	Conidióforos	50.17	0.99

*Nota.* Por el autor (2025)

Los conidios medidos se encontraban entre  $4.72 - 13.43 \times 2.96 - 7.27 \mu m$ , por otro lado, las ramas perpendiculares de los conidióforos miden de  $31.62 - 89.06 \times 0.49 - 1.81 \mu m$ .

**Figura 19.** *Estructuras internas de hongos nematófagos aislados*



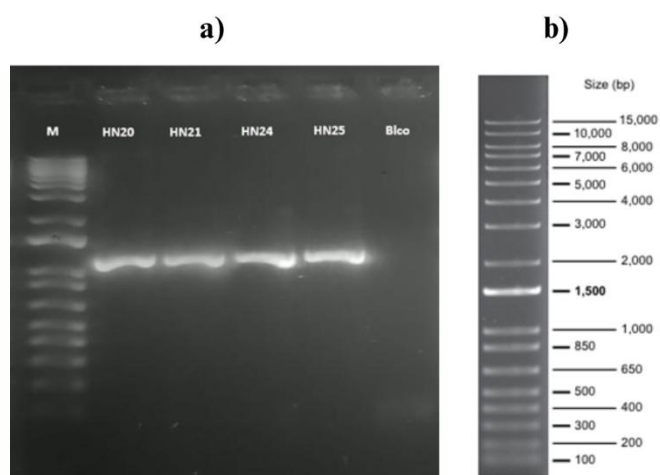
*Nota.* Aumento 40X. a) Conidios, b) Conidióforos. Por el autor (2025)

Los conidios observados son hialinos de forma obovoides y redondeados en los ápices con una estructura elipsoidal general, con 2 septos transversales en cada extremo y una célula intermediaria entre ellos, es decir son no son equidistantes. No presentan células conidiógenas, puesto a que el conidio crece directo del conidióforo. Los septos dentro del conidio dependen del estadio de maduración, estos pueden variar desde 2 septos hasta 5. Los conidióforos por su parte también son hialinos con un solo conidio terminal y presentando hasta 4 conidios por cada conidióforo, además se observan y realizaron las mediciones sobre las ramas perpendiculares de cada conidióforo.

#### **4.1.2. Caracterización molecular**

Se evaluó la calidad del ADN y se verificó el tamaño de los fragmentos extraído mediante electroforesis, permitiendo una estimación en los pares de bases de cada hongo rondando aproximadamente en 1000 pb.

**Figura 20.** Amplicones de cepas en electroforesis de gel de agarosa 1.5%

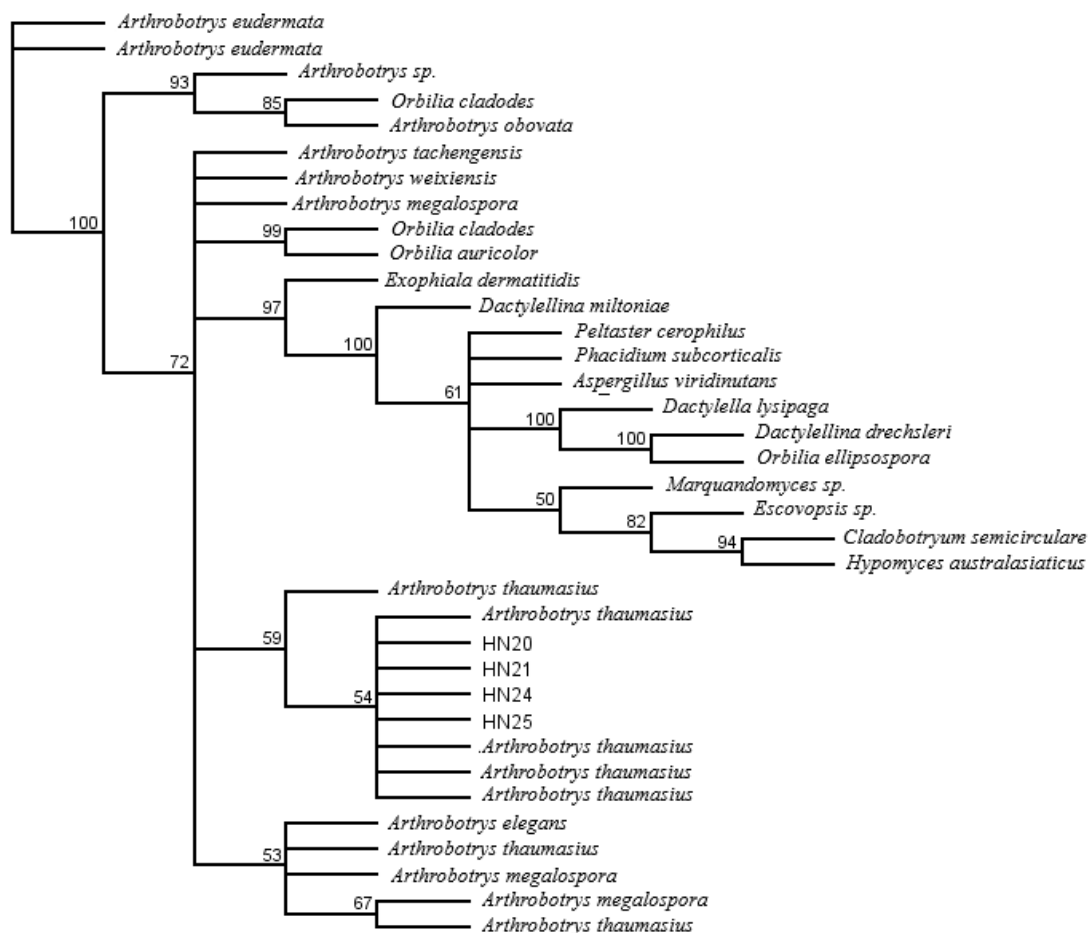


*Nota.* a) Por el autor (2025). b) Escala de marcador utilizado

### Árbol filogenético

Se realizó un cladograma representativo de las relaciones evolutivas de los hongos nematófagos obtenidos (**Figura 21**).

**Figura 21.** Árbol filogenético de hongos asexuales aislados



*Nota.* Ilustración creada con Geneious 10.2 Biomatters, por el autor (2025).

El árbol sugiere fuertemente que el género *Arthrobotrys* podría no ser monofilético, ya que especies de *Orbilia* y otros géneros se encuentran intercaladas dentro de los clados de *Arthrobotrys*; esto podría significar que el género *Arthrobotrys* necesita una revisión taxonómica o que algunos de sus caracteres definitorios son homoplásicos, además se debe tener en cuenta que muchas de las secuencias encontradas en el banco de datos no son verificadas.

Las cepas aisladas HN20, HN21, HN24, HN25 se agrupan con *Arthrobotrys thaumasia*, lo que sugiere que son cepas de esta especie o estrechamente relacionadas y su posición dentro del clado de *A. thaumasia* con soportes bajos (59, 54) indica que puede haber más variación o

complejidad en las relaciones intra-específicas de *A. thaumasia*; existen discrepancias con el nombre de *A. thaumasia* puesto a que varía frecuentemente con *Monacrosporium thaumasia*.

Es importante recalcar que los clados con valores altos de bootstrap son considerados robustos y fiables y aquellos con más bajos deben ser interpretados con precaución, ya que las relaciones en esos nodos son menos consistentes entre sus replicaciones.

#### 4. 2. Identificación de especies fúngicas aisladas

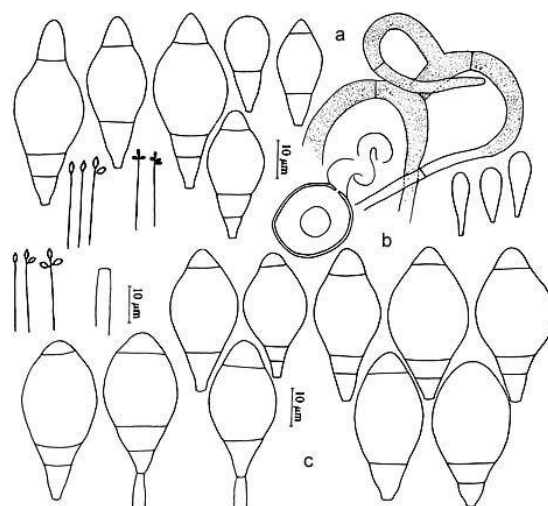
Tomando en cuenta el tipo, tamaño y forma de las estructuras internas de los hongos y los resultados obtenidos tras la secuenciación y su respectivo análisis, se clasificaron las cuatro cepas como parte de la especie de *Arthrobotrys thaumasia*.

**Tabla 14.** Taxonomía de *Arthrobotrys thaumasia*

Dominio	Eucariota
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Orbiliomycetes
Orden	Orbiliales
Familia	Orbiliaceae
Género	<i>Arthrobotrys</i>
Especie	<i>Arthrobotrys thaumasia</i>

*Nota.* Adaptada de (Schoch et al., 2020)

**Figura 22.** Estructuras características de *A. thaumasia*

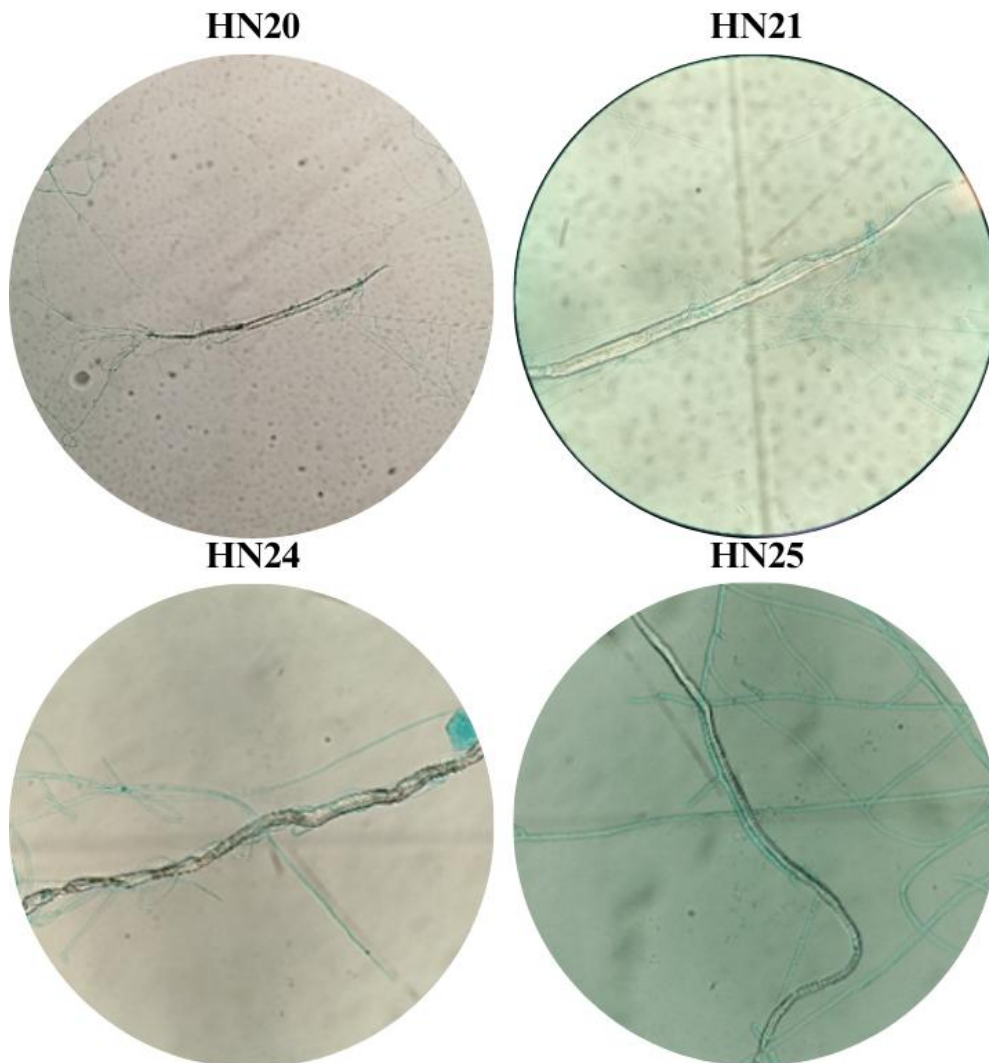


*Nota.* Ilustración obtenida de MycoBank (*Arthrobotrys thaumasia*)

Los mecanismos de captura registrados para las cepas utilizadas son de redes de hifas adhesivas, evidenciadas en la **Figura 23**, característico de hongos de la especie *A. thaumasia*. El hongo detecta la presencia de los nematodos por sustancias secretadas como los ascarósidos,

y esto activa la depredación del hongo induciendo la modificación de hifas, los nematodos son atrapados por estas estructuras y mediante hifas de penetración que atraviesan la cutícula el hongo absorbe nutrientes internos del nematodo tras la liberación de enzimas como proteasas o quinasas (Quevedo et al., 2022).

**Figura 23.** *Mecanismo de captura de nematodos*



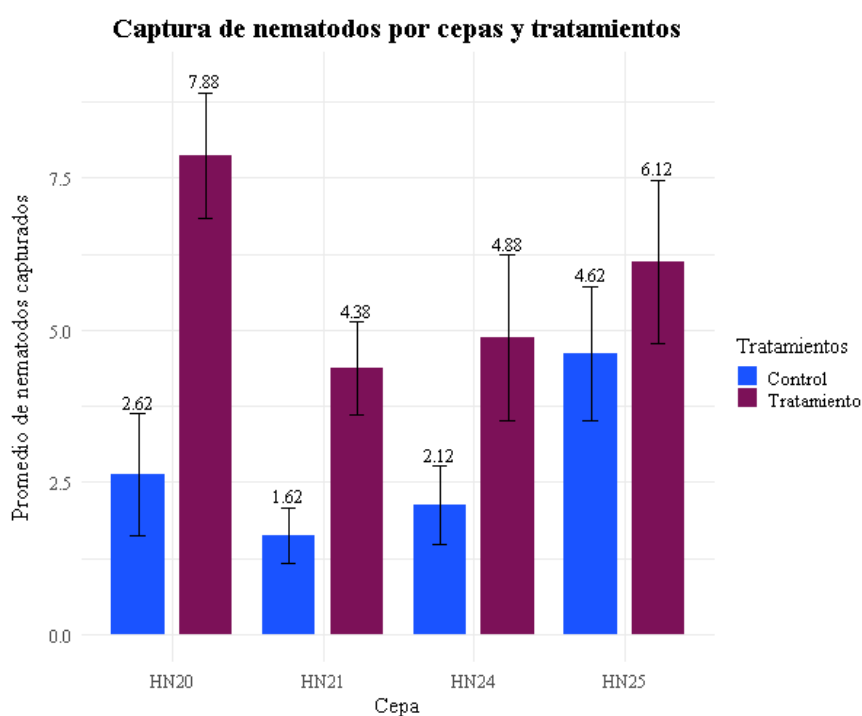
*Nota.* Por el autor (2025)

### 4.3. Evaluación de ensayo antagonista *in vitro*.

#### 4.3.1. Análisis estadístico

Para el análisis se tomaron 16 datos por cada cepa, siendo 8 de control y 8 del tratamiento aplicado (**Anexo 6**). Se aplicó una estadística de medias a los valores, los cuales fueron graficados mediante barras (**Figura 24**). Se ejecutó un análisis de varianza con una prueba de Tukey entre las cepas y el tratamiento con el control (**Anexo 8**) para obtener los residuos con los que se realizaron el resto de las pruebas.

**Figura 24.** Gráfico de barras Captura de nematodos Vs. Cepas



*Nota.* Ilustración creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

No se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las cepas en su capacidad de captura contra nematodos (5.25, 3.00, 3.50, 5.38). Sin embargo, se observan diferencias entre los tratamientos contra sus controles respectivos (2.75, 5.81).

Para verificar que se trata de una prueba paramétrica, se realizaron las respectivas pruebas para su comprobación. Se utilizó una prueba de Kolmogórov-Smirnov con corrección de Lilliefors, estableciendo la hipótesis nula donde los residuos siguen una distribución normal ( $p - value > 0.05$ ), y la alterna donde no la siguen ( $p - value \leq 0.05$ ); según los p-value obtenidos (**Anexo 9**) de (0.7492, 0.4393, 0.5877, 0.7240)  $> 0.05$ , no se rechaza la hipótesis nula, indicando normalidad en los datos. Adicionalmente se observa en el Q-Q plot (**Anexo 10**) como los datos se ajustan a la línea y se ve reflejada la distribución normal los datos por su valor de  $r = 0.987$ ; también se aprecia una forma de campana simétrica y aproximadamente normal de los datos en el histograma de residuos (**Anexo 11**).

Al confirmar la normalidad, se aplicó una prueba de Levene para la verificación de la homocedasticidad, donde se planteó la hipótesis nula que la varianza de los grupos es igual ( $p - value > 0.05$ ) y la alternativa en la que al menos una varianza es diferente ( $p - value \leq 0.05$ ); según los valores obtenidos (**Anexo 12**) de (0.4254  $> 0.05$ ).

No se rechaza la hipótesis nula, y se observa esta homocedasticidad mediante un gráfico de Residuos vs. Valores ajustados de dispersión en el cual se observa que los puntos se distribuyen de manera vertical en franjas a lo largo del rango de valores ajustados, este comportamiento es característico del ANOVA de una vía debido a que cada nivel del factor produce un valor ajustado único y la ausencia de forma de embudo sustenta la hipótesis de una varianza homogénea (**Anexo 13**).

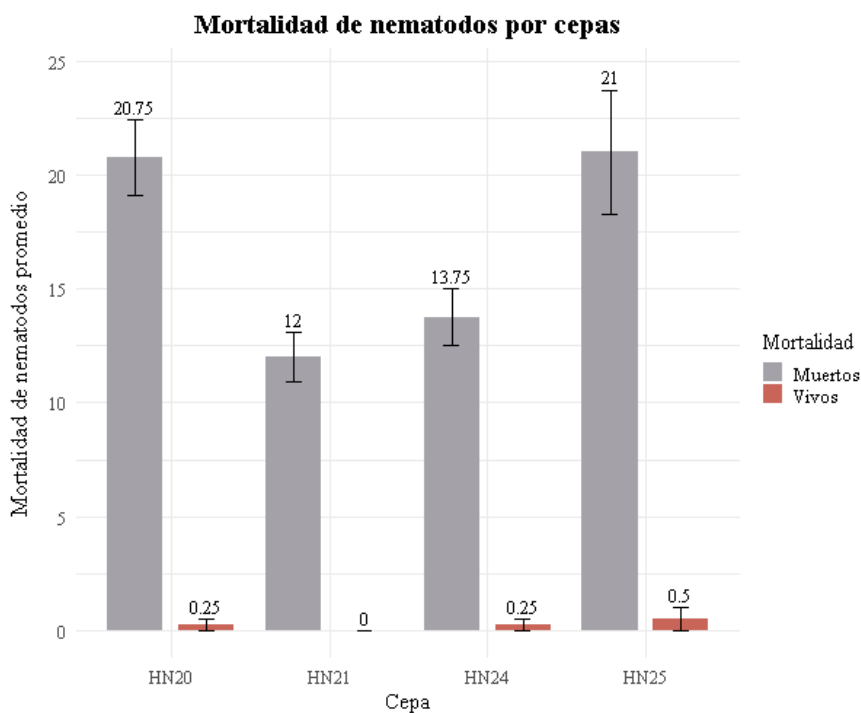
Para el análisis independiente de las cepas con sus tratamientos y controles, se realizaron pruebas post-hoc utilizando la prueba de Tukey (**Tabla 15 Anexo 14**). Las comparaciones Post-Hoc de Tukey revelaron que existen diferencias significativas entre el control y tratamiento de las cepas HN20 ( $0.0025 \leq 0.05$ ) y HN21 ( $0.0077 \leq 0.05$ ), mientras que la HN24 ( $0.0878 > 0.05$ ) y HN25 ( $0.4021 > 0.05$ ) no son significativamente diferentes.

**Tabla 15.** Prueba de Tukey Tratamiento vs. Control por cepa

		Medias	n	Categorías
HN20	Tratamiento	2.63	8	A
	Control	7.88	8	B
HN21	Tratamiento	1.63	8	C
	Control	4.38	8	D
HN24	Tratamiento	2.13	8	E
	Control	4.88	8	E
HN25	Tratamiento	4.63	8	F
	Control	6.13	8	F

Nota. Por el autor (2025).

Adicionalmente, se graficaron los datos de mortalidad de nematodos durante en el ensayo, expuestos en la **Figura 25**.

**Figura 25.** Gráfico de barras de Mortalidad nematodos vs. Cepas

Nota. Ilustración creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

### 4.3.2. Índice de quimiotaxis

Según el índice de quimiotaxis calculado, se corroboraron los resultados obtenidos en los análisis Post-Hoc sobre la efectividad de una cepa sobre otra ( $HN20 > HN1 > HN24 > HN25$ ).

**Tabla 16.** Índice de quimiotaxis obtenido en cada cepa

	HN20	HN21	HN24	HN25
CI	0.42	0.22	0.22	0.12

*Nota.* Por el autor (2025).

Se eligieron 4 cepas que tuviesen características y crecimientos similares para enfocar el estudio sobre un solo posible género, además estas cepas tienen un crecimiento rápido lo que permitió realizar varios ensayos y una fácil purificación de las cepas. Aunque lo más común es utilizar varios aislados diferentes para ampliar la posibilidad de eficacia y estudios, se han realizado investigaciones en las que hongos con varias cepas son utilizados para la evaluación de su eficacia y variabilidad como es en el caso expuesto de Adhikari et al. (2024) en el que usaron varias cepas nativas de *Trichoderma* aisladas para el biocontrol de *Sclerotium rolfsii*, y determinaron que aquellas aisladas de suelos forestales tenían un mayor potencial antagónico con respecto a las otras cepas.

Las 4 cepas involucradas comparten las mismas características macro morfológicas, principalmente el crecimiento blanco hialino y algodonoso tras el paso de 14 días de incubación. En comparación con estudios realizados en India por Kassam et al. (2021) con cepas nativas aisladas en el mismo medio CMA, las cuales expresaron un color blanco hialino en su

crecimiento durante un periodo aproximado de 12 días, lo cual se ve reflejado en la ausencia de crecimiento micelial en forma algodonosa sobre la placa.

Es importante destacar la clasificación de *Arthrobotrys* como hongo nematófago con redes adhesivas como mecanismo de captura de nematodos caracterizado por sus conidios con 0 a 3 septos, forma ovoide y claviforme (Swe A et al., 2011).

El análisis filogenético de las cuatro cepas se construyó usando la secuencia de genes ITS, un marcador molecular general para especies fúngicas. Estas se agrupan en conjunto dentro de un mismo clado, siendo *A. thaumasia* la especie más relacionada entre ellas. A pesar de ellos, el bootstrap para estas relaciones es de 54 y 59 están bajo el umbral de confianza, lo que indica una tendencia de agrupación a la cual se debe aplicar un análisis a profundidad. Estos valores sugieren la presencia de variabilidad genética baja entre las cepas para distinguir relaciones evolutivas con primers generales. Se pueden considerar como hallazgos iniciales hasta ser completamente validadas utilizando diferentes marcadores moleculares que permitan la identificación específica.

A pesar de que no todas las cepas fueron significativamente diferentes entre ellas, existe una diferencia significativa entre el control y los tratamientos aplicados; todas las cepas evaluadas (HN20, HN21, HN24, HN25) exhiben altos niveles de captura (75.0%, 72.9%, 69.6%, 57.0%), efecto también observado en investigaciones realizadas en Turquía sobre este hongo con un rango de actividad nematófaga de 45% – 77% sobre especies de *Meloidogyne* (Eken et al., 2024).

La cepa HN20 fue la más efectiva con respecto a su mecanismo de captura, provocando una mortalidad del 75% en un periodo de 4 días. Con la consideración que a pesar de ser la cepa menos efectiva en términos de estructuras (57.0%), se evidencio que HN25 tiene la capacidad

de degradar y digerir la cutícula del nematodo y parasitarlo, lo que dificulta su visualización al camuflarse entre las propias hifas del hongo; esto puede suponer que se producen ciertos compuestos que permiten esta interacción como sideróforos aunque en bajas cantidades, no se han realizado suficientes investigaciones para caracterizar los metabolitos producidos por esta especie (Kuo et al., 2020).

En un estudio realizado por Purba et al. (2022), se utilizaron cepas de *Arthrobotrys thaumasia* provenientes de Indonesia para el estudio contra *Meloidogyne* spp. y se evidenció que, a comparación con un estudio realizado con una cepa nativa de Corea, demostró una mayor efectividad. Es decir, que la actividad fúngica dependerá de la cepa y el lugar geográfico de extracción, a pesar de ser la misma especie; es por ello que se encuentra información variada en cuanto a las mediciones de estructuras internas y efectividad en cepas de *A. thaumasia*; de esta manera se espera poder añadir significativamente información, utilizando cepas nativas del Ecuador contra esta plaga fitosanitaria ya que el uso de hongos con propiedades nematocidas ha mostrado resultados prometedores en la reducción de poblaciones de *Meloidogyne* spp. en varios cultivos. (Vera-Morales et al., 2022)

## Capítulo 5

### Conclusiones y Recomendaciones

#### 5.1. Conclusiones

El objetivo de este estudio fue de aislar e identificar cuatro hongos asexuales obtenidos de plantaciones de banano (*Musa* spp. L.) y evaluar la capacidad de sus estructuras de captura contra nematodos del género *Meloidogyne* spp.

Mediante técnicas de aislamiento como la de cámara húmeda modificada para utilizar medio natural como sustrato promotor de la esporulación seguido por subcultivos para la purificación de las cepas, se lograron aislar hongos asexuales de las muestras de suelo infestado por nematodos formadores de agallas. Esto confirmó la presencia de microbiota nativa con propiedades nematocidas, lo que respalda su potencial uso como controles biológicos accesibles en el territorio nacional.

La identificación de especies fúngicas a partir de las muestras de suelo se realizó a través de la combinación de análisis morfológicos y moleculares de los mismos. La caracterización de las colonias a través de sus estructuras internas como conidios y conidióforos permitieron la comparación con literatura científica hacia ciertos morfotipos y realizar una identificación preliminar del género. Por otro lado, la secuenciación molecular de la región ITS de los hongos seleccionados complementó las suposiciones al englobar las secuencias con mayor identidad dentro del clado de la especie *Arthrobotrys thaumasia*. De esta forma, se confirmó la presencia de la especie *A. thaumasia*, un hongo perteneciente al género *Arthrobotrys* el cual es clasificado como principal especie nematófaga en investigaciones, en el suelo recolectado.

Los resultados obtenidos evidencian la habilidad de *A. thaumasia* para capturar y controlar nematodos en condiciones *in vitro*. En este se destaca la variabilidad dentro una misma especie en cuanto a su capacidad como agentes de biocontrol contra plagas fitopatógenas,

observando rangos medios a altos (57% – 75%) en cuanto a la mortalidad generada por *A. thaumasia* sobre este género de nematodos, siendo a su vez dependientes de la ubicación geográfica en la que se aíslan estos microorganismos.

Los hongos nematófagos del género *Arthrobotrys* tienen como principal exponente a *A. oligospora*, debido a lo cual el estudio a profundidad de esta especie en cuanto a su potencial biotecnológico para disminuir y reemplazar el uso de agroquímicos tóxicos tales como el 1,3 Dicloropropeno o Cloropicrina, en los cultivos agrícolas del Ecuador; además estos conocimientos abren las puertas al desarrollo de productos biológicos más específicos y ajustados a las condiciones locales usando especies nativas, lo que representa una herramienta valiosa para el manejo integral de estos fitoparásitos de forma más sostenible y amigable con el ambiente.

## 5.2. Recomendaciones

En futuras investigaciones, se plantea el utilizar primers LSU y Elongation factor para la secuenciación de las cepas identificadas, puesto a que las secuencias ITS pueden tener similitudes entre sí, por lo que para una mayor veracidad es recomendable realizar secuenciaciones más específicas que permitan al ADN elongarse de mejor manera.

En cuanto a los ensayos *in vitro* en placas de agar sólido, se obtendría más información acerca del tiempo óptimo de acción de su mecanismo agregando una variable controlada, para evaluar la progresión de estructuras y captura de los nematodos. A ello se puede añadir el análisis de metabolitos producidos por los hongos tras un ensayo en medio líquido para su identificación y cuantificación, expandiendo el potencial de estos organismos con la finalidad de establecer controles biológicos eficaces y sustentables.

De igual manera, mediante la modificación de factores ambientales como luz, temperatura, humedad y pH se buscaría encontrar las condiciones propicias para el mejor rendimiento de estos hongos, así como explorar su interacción con el suelo al llevarlo a ensayos a nivel de invernaderos.

## Referencias Bibliográficas

- Adhikari, P., Shrestha, S. M., Manandhar, H. K., & Marahatta, S. (2024). Biocontrol Efficacy Of Native Trichoderma Strains Isolated From Farm And Forest Soil Against Collar Rot (Sclerotium Rolfsii) Of Lentil. *SAARC Journal of Agriculture*, 22(1), Article 1. <https://doi.org/10.3329/sja.v22i1.68668>
- Adhikary, S., Rahman, M., Kundu, M., Hosen, Md. A. E., & Hossain, Md. M. (2024). Fusarium Wilt of Banana: Challenges and Resilience. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 24(4), 678-694. <https://doi.org/10.3844/ojbsci.2024.678.694>
- Agrocalidad. (2025). *Plaguicidas restringidos cancelados y/o prohibidos* [Portal Web]. Dirección de Registro de Insumos Agrícolas. <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2025/06/Lista-de-Plaguicidas-Prohibidos-en-el-Ecuador-12-junio-2025.pdf>
- Aguirre, O., Chávez, C., Giraud, A., & Araya, M. (2016). Frequencies and population densities of plant-parasitic nematodes on banana (Musa AAA) plantations in Ecuador from 2008 to 2014. *Agronomía Colombiana*, 34(1), 61-73.
- Ahammed, G. J., Li, X., & Yu, J. (2023). Introduction to Plant Hormones and Climate Change. En G. J. Ahammed & J. Yu (Eds.), *Plant Hormones and Climate Change* (pp. 1-16). Springer Nature. [https://doi.org/10.1007/978-981-19-4941-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-19-4941-8_1)
- Ainsworth, E. A., & Long, S. P. (2021). 30 years of free-air carbon dioxide enrichment (FACE): What have we learned about future crop productivity and its potential for adaptation? *Global Change Biology*, 27(1), 27-49. <https://doi.org/10.1111/gcb.15375>
- Ajesh, B. R., Renukadevi, P., Saranya, N., Vidhyashri, N., Varanavasiappan, S., Vellaikumar, S., Ashraf, S., Haripriya, S., Raish, M., & Nakkeeran, S. (2025). Genome-wide exploration of beneficial *Bacillus subtilis* isolate from resistant banana cultivar Anaikomban towards the management of *Fusarium* wilt in banana. *Journal of Agriculture and Food Research*, 21, 101834. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2025.101834>
- Akwa, T. E., Maingi, J. M., & Birgen, J. K. (2020). *Characterisation of Fungi of Stored Common Bean Cultivars Grown in Menoua Division, Cameroon* (p. 2020.10.31.363184). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2020.10.31.363184>
- Alborno Jover, M. S. (2020). The re-evolutions of agriculture. *Investigación Agraria*, 22(1), 1-2. <https://doi.org/10.18004/investig.agrar.2020.junio.01-02>
- Alcantara-Vargas, E., Espitia-López, J., Garza-López, P. M., & Angel-Cuapio, A. (2020). Producción y calidad de conidios de cepas de entomopatógenos del género *Metarhizium anisopliae*, aislados en zonas agrícolas del Estado de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 91, e912912-e912912. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2020.91.2912>
- An, Y., & Zhang, M. (2024). Advances in understanding the plant-*Ralstonia solanacearum* interactions: Unraveling the dynamics, mechanisms, and implications for crop disease resistance. *New Crops*, 1, 100014. <https://doi.org/10.1016/j.ncrops.2024.100014>
- Andrade, J. S., García, R. G., & Rodríguez, A. D. L. (2022). Ingeniería genética para la producción de biocombustibles. *Revista Universitarios Potosinos*, 269, Article 269.
- Anzules-Toala, V., Pazmiño-Bonilla, E., Alvarado-Huamán, L., Borjas-Ventura, R., Castro-Cepero, V., & Julca-Otiniano, A. (2022). Control of cacao (*Theobroma cacao*) diseases in Santo Domingo de los Tsachilas, Ecuador. *Agronomía Mesoamericana*, 33(1), 1-12.

- Aragón, S. M., & Beltrán-Acosta, C. (2018). *Endophytic fungi in biological control of phytopathogens and insect pests*. 2(19), 28.
- Aydin, A., Yerlikaya, B. A., Yerlikaya, S., Yilmaz, N. N., & Kavas, M. (2025). CRISPR-mediated mutation of cytokinin signaling genes (SIHP2 and SIHP3) in tomato: Morphological, physiological, and molecular characterization. *The Plant Genome*, 18(1), e20542. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20542>
- Banco Central del Ecuador. (2025). La economía ecuatoriana reportó una contracción anual de 2,0% en 2024. *Boletines de prensa*. <https://www.bce.fin.ec/la-economia-ecuatoriana-reporte-una-contraccion-anual-de-20-en-2024/>
- Bandi, S. M., Sivakumar, G., & Gandhi, B. K. (2019). Baculoviruses: Lethal pathogens of lepidopteran caterpillars. *Journal of Biological Control*, 33(4), 307-320. <https://doi.org/10.18311/jbc/2019/24077>
- Barragán, F. E., García, A. Y. B., Galicia, S. B. N., & Martínez, M. B. (2022). *Los Hongos Entomopatógenos, Aliados de la Agricultura Sustentable en el Control de Plagas*. [https://www.researchgate.net/publication/378977516\\_Los\\_Hongos\\_Entomopatogenos\\_Aliados\\_de\\_la\\_Agricultura\\_Sustentable\\_en\\_el\\_Control\\_de\\_Plagas](https://www.researchgate.net/publication/378977516_Los_Hongos_Entomopatogenos_Aliados_de_la_Agricultura_Sustentable_en_el_Control_de_Plagas)
- Bucki, P., Qing, X., Castillo, P., Gamliel, A., Dobrinin, S., Alon, T., & Braun Miyara, S. (2020). The Genus *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae) in Israel: From Taxonomy to Control Practices. *Plants*, 9(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/plants9111475>
- Burraco, A. B. (2019). *Avances recientes en biotecnología vegetal e ingeniería genética de plantas*. Reverte.
- CABI. (2024). *CABI Compendium Invasive Species*. CABI Digital Library. <https://www.cabidigitallibrary.org/product/qi>
- Cajamarca, D. I., Paredes Godoy, M. M., Cabrera Escobar, C. P., Velasco Matveev, L. A., & Vaca Cárdenas, M. L. (2020). Agroquímicos: Enemigos latentes para los polinizadores y la producción de alimentos primarios que agonizan. *Contribuciones a las Ciencias Sociales*, 3 (marzo), 31.
- Cañas Suárez, A. J., Flores Bazurto, E. E., Vélez González, R. R., & Avilés Camacho, E. J. (2024). Manejo y conservación de suelos en el Ecuador como medida de mitigación al cambio climático. *RECIMUNDO*, 8(2), 422-436. [https://doi.org/10.26820/recimundo/8.\(2\).abril.2024.422-436](https://doi.org/10.26820/recimundo/8.(2).abril.2024.422-436)
- Carranza-Patiño, M., Contreras-Mora, M., Macias-Leon, M., Pincay-Pin, P., Rendón-Margallón, E., & J, H.-F. R. (2023). Uso de los pesticidas y su efecto en el cultivo de *Zea mays*: Una revisión de la literatura. *Código Científico Revista de Investigación*, 4(E2), Article E2. <https://doi.org/10.55813/gaea/ccri/v4/nE2/219>
- Castellanos, E, M.F. Lemos, L. Astigarraga, N. Chacón, N. Cuvi, C. Huggel, L. Miranda, M. Moncassim Vale, J.P. Ometto, P.L. Peri, J.C. Postigo, L. Ramajo, L. Roco, & M. Rusticucci. (2023). Central and South America. En *Climate Change 2022 – Impacts, Adaptation and Vulnerability* (1.<sup>a</sup> ed., pp. 1689-1816). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781009325844.014>
- Castillo, G. F. S. (2020). *Efecto de los agroquímicos en salud pública y medio ambiente*. <https://doi.org/10.22490/21456453.2098>
- CDC. (2024). *About Parasites*. Parasites. <https://www.cdc.gov/parasites/about/index.html>

- Cenis, J. L. (1992). Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. *Nucleic Acids Research*, 20(9), 2380-2380. <https://doi.org/10.1093/nar/20.9.2380>
- Chakraborty, R., Rehman, R. U., Siddiqui, M. W., Liu, H., & Seth, C. S. (2025). Phytohormones: Heart of plants' signaling network under biotic, abiotic, and climate change stresses. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*, 223, 109839. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2025.109839>
- Charkowski, A., Sharma, K., Parker, M. L., Secor, G. A., & Elphinstone, J. (2020). Bacterial Diseases of Potato. En H. Campos & O. Ortiz (Eds.), *The Potato Crop: Its Agricultural, Nutritional and Social Contribution to Humankind* (pp. 351-388). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_10)
- Chaudhary, T., Dixit, M., Gera, R., Shukla, A. K., Prakash, A., Gupta, G., & Shukla, P. (2020). Techniques for improving formulations of bioinoculants. *3 Biotech*, 10(5), 199. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02182-9>
- Chemical Safety and Health Unit, Environment, Climate Change and Health, & Nutrition and Food Safety. (2019). *Exposure to highly hazardous pesticides: A major public health concern*. WHO. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CED-PHE-EPE-19.4.6>
- Chemical Safety and Health Unit & WHO. (2020). *WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification, 2019 Edition* (2nd ed). World Health Organization. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240005662>
- Chethana, B. S., Ganeshan, G., S. Rao, A., & Bellishree, K. (2018). Morphological and Molecular Characterization of Alternaria Isolates Causing Purple Blotch Disease of Onion. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(04), 3478-3493. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.704.394>
- Clemente-Orta, G., & Álvarez, H. A. (2019). La influencia del paisaje agrícola en el control biológico desde una perspectiva espacial: *Ecosistemas*, 28(3), Article 3. <https://doi.org/10.7818/ECOS.1730>
- Cortés-Hernández, F. del C., Alvarado-Castillo, G., Sánchez-Viveros, G., Cortés-Hernández, F. del C., Alvarado-Castillo, G., & Sánchez-Viveros, G. (2023). Trichoderma spp., una alternativa para la agricultura sostenible: Una revisión. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 25(2), 73-87. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v25n2.111384>
- da Silva, T. M., Seabra, L. M. J., Colares, L. G. T., de Araújo, B. L. P. C., Pires, V. C. da C., & Rolim, P. M. (2024). Risk assessment of pesticide residues ingestion in food offered by institutional restaurant menus. *PLOS ONE*, 19(12), e0313836. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0313836>
- Dannon, H. F., Dannon, A. E., Dour-Kpindou, O. K., Zinsou, A. V., Houndete, A. T., Toffa-Mehinto, J., Elegebede, I. A. T. M., Olou, B. D., & Tamò, M. (2020). Toward the efficient use of Beauveria bassiana in integrated cotton insect pest management. *Journal of Cotton Research*, 3(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s42397-020-00061-5>
- Dávila, E. L., Castro, Y. M., & Romero, O. R. (2022). Características y consecuencias adversas a la salud humana de agroquímicos usados en la agricultura cubana. *Revista Cubana de Salud Pública*, 48. <https://revsaludpublica.sld.cu/index.php/spu/article/view/2810>
- DeBach, P. (1973). *Biological Control of Insect Pests and Weeds*. Chapman and Hall.
- Delgado, B. P., Ortega, J. A., Martínez, D. Y., & Coca, B. M. (2021). *Los hongos endófitos y sus aplicaciones potenciales en la agricultura*. 36(3).

- Dirección de Orgánicos Agrocalidad. (2025). *Lista de plaguicidas prohibidos en el Ecuador* (p. 4). Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario. <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2025/06/Lista-de-Plaguicidas-Prohibidos-en-el-Ecuador-12-junio-2025.pdf>
- Dirección de Orgánicos Agrocalidad - Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario. (2025). *Informe de estadísticas de producción orgánica*. <https://agrodrive.agrocalidad.gob.ec/index.php/s/qBWZ9gPGfm2xfdZ>
- Ehling-Schulz, M., Lereclus, D., & Koehler, T. M. (2019). The *Bacillus cereus* Group: *Bacillus* Species with Pathogenic Potential. *Microbiology Spectrum*, 7(3), 10.1128/microbiolspec.gpp3-0032-2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0032-2018>
- Eken, C., Uysal, G., Demir, D., Çalışkan, S., Sevindik, E., & Çağlayan, K. (2024). First report of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys thaumasia* in Türkiye and its biocontrol potential against *Meloidogyne incognita*. *Journal of Phytopathology*, 172(4), e13354. <https://doi.org/10.1111/jph.13354>
- El Productor. (2024). Biocontroladores: Hongos y bacterias sirven para combatir plagas en Ecuador [Periódico]. *El Productor*. <https://elproductor.com/2023/12/biocontroladores-hongos-y-bacterias-sirven-para-combatir-plagas-en-ecuador/>
- Endara, A. de las M. G., Heinert, M. E. J., & Solórzano, H. X. P. (2020). Contaminación del agua y aire por agentes químicos. *Recimundo*, 4(4), Article 4. [https://doi.org/10.26820/recimundo/4.\(4\).octubre.2020.79-93](https://doi.org/10.26820/recimundo/4.(4).octubre.2020.79-93)
- Escalante, J. P. A., Olivares, C. A. Y., & Rozo, L. Y. M. (2023). Aplicación y evaluación de métodos de conservación a corto y mediano plazo para hongos filamentosos y levaduras de interés industrial, agroindustrial y biotecnológico. *Cuaderno activa*, 15(1), Article 1. <https://doi.org/10.53995/20278101.1064>
- Escobar-Alonso, S., Rodríguez Trejo, D. A., Escobar-Alonso, S., & Rodríguez Trejo, D. A. (2019). Estado del arte en la investigación sobre calidad de planta del género *Pinus* en México. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(55), 4-38. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i55.558>
- FAO. (2025). *Crops and livestock products*. FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>
- FAO, & WHO. (2022). *Manual on the development and use of FAO and WHO specifications for chemical pesticides*. FAO; WHO; <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cb8401en>
- Fernández-Jiménez, M. A., Bulla-Castañeda, D. M., Sanabria-Villate, A. M., & Pulido-Medellín, M. O. (2019). Implementación de hongos nematófagos para el control de parásitos gastrointestinales. *Pensamiento y Acción*, 27, Article 27.
- Fernando, V.-A. W., Margarita, T.-T. C., Arturo, M.-S. A., Fernando, N.-S. D., Anabel, M.-R. L., Gabriel, D.-P. A., Estefanía, P.-Q. C., Katherine, P.-V. A., Javier, B.-C. F., Arturo, V.-C. W., & Trevor, J. (2020). *Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador Biological Control: A tool for sustainable agriculture, a point of view of its benefits in Ecuador*. 8(2).
- Ferreira, C. M. H., Soares, H. M. V. M., & Soares, E. V. (2019). Promising bacterial genera for agricultural practices: An insight on plant growth-promoting properties and microbial

- safety aspects. *Science of The Total Environment*, 682, 779-799. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.225>
- Feyisa, B. (2021). Review on Root Knot Nematodes (Rkns): Impact and Methods For Control. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 12(4), 1-4. <https://doi.org/10.35248/2157-7471.21.12.547>
- Fucic, A., Duca, R. C., Galea, K. S., Maric, T., Garcia, K., Bloom, M. S., Andersen, H. R., & Vena, J. E. (2021). Reproductive Health Risks Associated with Occupational and Environmental Exposure to Pesticides. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(12), 6576. <https://doi.org/10.3390/ijerph18126576>
- Garza-Sánchez, J., Coronado-Blanco, J. M., Rodríguez-Del-Bosque, L. Á., Osorio-Hernández, E., Estrada-Drouaillet, B., & Khalaim, A. I. (2023). El control biológico en la educación agrícola: Una alternativa sustentable. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 9(1), Article 1. <https://aap.uaem.mx/index.php/aap/article/view/509>
- Gomez-Arroyo, S. (2011). *Pesticides: Genotoxic Risk of Occupational Exposure*. IntechOpen.
- Goud, E. L., Singh, J., & Kumar, P. (2022). Chapter 19—Climate change and their impact on global food production. En A. Kumar, J. Singh, & L. F. R. Ferreira (Eds.), *Microbiome Under Changing Climate* (pp. 415-436). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90571-8.00019-5>
- Grijalva, G., Burbano, J., Palacios, M., Valenzuela, G., Guzmán, D., Salinas, K., & Manasfi, A. S. A. y N. (2017). *Buenas prácticas agrarias para enfrentar al cambio climático en Ecuador*. <https://biblio.flacsoandes.edu.ec/libros/149744-opac>
- Guzmán-Piedrahita, Ó. A., Zamorano-Montañez, C., López-Nicora, H. D., Guzmán-Piedrahita, Ó. A., Zamorano-Montañez, C., & López-Nicora, H. D. (2020). Interacciones fisiológicas de plantas con nematodos fitoparásitos: Una revisión. *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, 24(2), 190-205. <https://doi.org/10.17151/bccm.2020.24.2.13>
- Han, V.-C., Michael, P. J., Swift, B., & Bennett, S. J. (2023). Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum*: Modes of action of biocontrol agents, soil organic amendments, and soil microbiome manipulation. *Biological Control*, 186, 105346. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105346>
- Hernández, M. del S. J., Pérez, C. R., Ruiz, S. D. C., Martínez, L. D. J., & Ojeda, R. F. O. (2024). Técnicas Convencionales y Moleculares en la Identificación de Hongos Microscópicos de Importancia Médica. Revisión Sistemática. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 8(6), Article 6. [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v8i6.15362](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i6.15362)
- Herrera, R., Chong, M. de V., Artola, A., Tuñón, J., Cruz, A., Camargo, V., González, F., & Mejía, F. (2023). Caracterización de microorganismos benéficos para el control biológico de patógenos de arroz. *Ciencia Agropecuaria*, 37, Article 37.
- Hezakiel, H. E., Thampi, M., Rebello, S., & Sheikhmoideen, J. M. (2024). Biopesticides: A Green Approach Towards Agricultural Pests. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(8), 5533-5562. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04765-7>
- Huang, S., Xue, Y., Yu, B., Wang, L., Zhou, C., & Ma, Y. (2021). A Review of the Recent Developments in the Bioproduction of Polylactic Acid and Its Precursors Optically Pure Lactic Acids. *Molecules*, 26(21), Article 21. <https://doi.org/10.3390/molecules26216446>

- Iglesias, D. C. H. I. P., Delgado, Ms. I. R., & Batista, D. C. R. M. G. (2018). Principales enfermedades que afectan al cultivo del arroz en Ecuador y alternativas para su control. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(1), Article 1.
- IPCC. (2019, febrero 15). *Special Report on Climate Change and Land*. <https://www.ipcc.ch/srccl/>
- Issa, P. P., Garvey, M., Grimmell, S., Pantha, P., Dassanayake, M., & Elder, B. D. (2021). Hitching a Ride: Examining the Ability of a Specialist Baculovirus to Translocate through Its Insect Host's Food Plant. *Pathogens*, 10(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111500>
- Kassam, R., Yadav, J., Chawla, G., Kundu, A., Hada, A., Jaiswal, N., Bollinedi, H., Kamil, D., Devi, P., & Rao, U. (2021). Identification, Characterization, and Evaluation of Nematophagous Fungal Species of Arthrobotrys and Tolypocladium for the Management of Meloidogyne incognita. *Frontiers in Microbiology*, 12, 790223. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.790223>
- Khan, A., Singh, A. V., Gautam, S. S., Agarwal, A., Punetha, A., Upadhyay, V. K., Kukreti, B., Bundela, V., Jugran, A. K., & Goel, R. (2023). Microbial bioformulation: A microbial assisted biostimulating fertilization technique for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1270039. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1270039>
- Koller, J., Sutter, L., Gonthier, J., Collatz, J., & Norgrove, L. (2023). Entomopathogens and Parasitoids Allied in Biocontrol: A Systematic Review. *Pathogens*, 12(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/pathogens12070957>
- Kumar, R., Kumar, A., & Kaur, J. (2022). *Protein engineering strategies for tailoring the physical and catalytic properties of enzymes for defined industrial applications*. <https://www.authorea.com/users/462191/articles/557680-protein-engineering-strategies-for-tailoring-the-physical-and-catalytic-properties-of-enzymes-for-defined-industrial-applications?commit=55baa750ec4ef5a36a04bd70b34dd52d852c8276>
- Kuo, T.-H., Yang, C.-T., Chang, H.-Y., Hsueh, Y.-P., & Hsu, C.-C. (2020). Nematode-Trapping Fungi Produce Diverse Metabolites during Predator–Prey Interaction. *Metabolites*, 10(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/metabo10030117>
- Lacey, L. A., Grzywacz, D., Shapiro-Ilan, D. I., Frutos, R., Brownbridge, M., & Goettel, M. S. (2015). Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology*, 132, 1-41. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.009>
- Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Kenfaoui, J., Esmael, Q., El Hamss, H., Belabess, Z., & Barka, E. A. (2022). Biological Control of Plant Pathogens: A Global Perspective. *Microorganisms*, 10(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030596>
- Lara Icaza, J. D. (2019). Cepas de Candida albicans en pacientes con diabetes mellitus. *Recimundo*, 3(1), 1306-1339. [https://doi.org/10.26820/recimundo/3.\(1\).enero.2019.1306-1339](https://doi.org/10.26820/recimundo/3.(1).enero.2019.1306-1339)
- Luc, M., Sikora, R. A., & Bridge, J. (Eds.). (1993). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture* (Repr). C.A.B. International Institute of Parasitology.
- Margie, O., Palmer, C., & Chin-Sang, I. (2013). C. elegans Chemotaxis Assay. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 74, 50069. <https://doi.org/10.3791/50069>
- Martínez, M. E. E. (2019). Utilización de hongos entomopatógenos para el control biológico de artrópodos plagas agrícolas. *Revista Científica Agroecosistemas*, 7(1), Article 1.

- Mas-ud, Md. A., Juthee, S. A., Chowdhury, Md. R., Hosenuzzaman, Md., Hossain, Md. F., Zaki, R. M., Rabbee, M. F., & Matin, M. N. (2025). Correction: Biosynthesis, Signaling, Homeostasis, Transport, and Regulatory Mechanisms of Cytokinin in Rice and Arabidopsis Response to Heat Stress. *Journal of Plant Growth Regulation*. <https://doi.org/10.1007/s00344-025-11751-2>
- Mata, D. A. H., & Torres, C. M. T. (2022). *Manual para la producción de hongos entomopatógenos y análisis de calidad de bioformulados*. [https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5950/1/Manual%20para%20la%20producci%C3%B3n%20de%20hongos%20entomopat%C3%B3genos%20y%20an%C3%A1lisis%20de%20calidad%20de%20bioformulados%20\(2\).pdf](https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5950/1/Manual%20para%20la%20producci%C3%B3n%20de%20hongos%20entomopat%C3%B3genos%20y%20an%C3%A1lisis%20de%20calidad%20de%20bioformulados%20(2).pdf)
- McCallum, B., Hiebert, C., Wang, X., & Bakkeren, G. (2024). Wheat Leaf Rust, Caused by *Puccinia triticina*, and Mitigation Through Host Genetic Resistance. *Plant Health Cases, 2024*, phcs20240023. <https://doi.org/10.1079/planthealthcases.2024.0023>
- McGuire, A. V., & Northfield, T. D. (2020). Tropical Occurrence and Agricultural Importance of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Frontiers in Sustainable Food Systems, 4*. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00006>
- Mendoza-de Gives, P. (2022). Soil-Borne Nematodes: Impact in Agriculture and Livestock and Sustainable Strategies of Prevention and Control with Special Reference to the Use of Nematode Natural Enemies. *Pathogens, 11*(6), 640. <https://doi.org/10.3390/pathogens11060640>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2020). *Comportamiento de insumos agrícolas*. Ministerio de Agricultura y Ganadería. <https://online.fliphtml5.com/ijja/sxlw/>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2025). *Cifras Agroproductivas*. Información productiva territorial. <https://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/cifras-agroproductivas>
- Ministerio de Salud Pública. (2024). *Intoxicación por plaguicidas* (p. 3). [https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2024/04/Efecto\\_toxico\\_SE\\_14.pdf](https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2024/04/Efecto_toxico_SE_14.pdf)
- Mohr, D. L., Wilson, W. J., & Freund, R. J. (2022). Chapter 10—Design of Experiments. En D. L. Mohr, W. J. Wilson, & R. J. Freund (Eds.), *Statistical Methods (Fourth Edition)* (pp. 493-546). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823043-5.00010-2>
- Molina, J. L. M. (2020). *110 problemas resueltos de Ingeniería Genética*. Universidad Miguel Hernández.
- Molina-Zapata, J. E. (2021). Revolución verde como revolución tecnocientífica: Artificialización de las prácticas agrícolas y sus implicaciones. *Revista Colombiana de Filosofía de la Ciencia, 21*(42). <https://doi.org/10.18270/rcfc.v21i42.3477>
- Morales, M. R. S. (2024). Tendencias de futuro de la ingeniería genética y la biotecnología. *Revista Española de Investigaciones Sociológicas, 187*, Article 187. <https://doi.org/10.5477/cis/reis.187.147-158>
- Moreno Rodríguez, J. M., Gelvez Pardo, I. M., & Santos Díaz, A. M. (2020). *Guía de muestreo de suelo para análisis microbiológico* (Primera). Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia). <https://doi.org/10.21930/agrosavia.nbook.7404098>
- Musselman, L. J., & Rodenburg, J. (2023). Introduction to Parasitic Plants. En *Parasitic Plants in African Agriculture* (pp. 1-12). <https://doi.org/10.1079/9781789247657.0001>

- Mycobank. (s. f.). *Arthrobotrys thaumasius*. Recuperado 23 de julio de 2025, de <https://www.mycobank.org/details/708/595541>
- Narandžić, T., Šarac, V., Rodić, V., Vukelić, N., Lukač-Bulatović, M., Bijelić, S., & Ljubojević, M. (2025). Exploring the Known and Mapping Future Directions in Biopesticides Research: A Bibliometric Analysis. *Horticulturae*, *11*(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11010097>
- Naranjo-Ortiz, M. A., & Gabaldón, T. (2019). Fungal evolution: Diversity, taxonomy and phylogeny of the Fungi. *Biological Reviews*, *94*(6), 2101-2137. <https://doi.org/10.1111/brv.12550>
- Numbers of Living Species in Australia and the World—DCCEEW*. (2021). <https://www.dcceew.gov.au/science-research/abrs/publications/other/numbers-living-species/discussion-invertebrates#nematoda>
- Oliveira, M., & Azevedo, L. (2022). Molecular Markers: An Overview of Data Published for Fungi over the Last Ten Years. *Journal of Fungi*, *8*(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/jof8080803>
- Orlando, V., Grove, I. G., Edwards, S. G., Prior, T., Roberts, D., Neilson, R., & Back, M. (2020). Root-lesion nematodes of potato: Current status of diagnostics, pathogenicity and management. *Plant Pathology*, *69*(3), 405-417. <https://doi.org/10.1111/ppa.13144>
- Osdaghi, E., Abachi, H., & Jacques, M. (2025). *Clavibacter michiganensis* Reframed: The Story of How the Genomics Era Made a New Face for an Old Enemy. *Molecular Plant Pathology*, *26*(5), e70093. <https://doi.org/10.1111/mpp.70093>
- Ospina, B. G., Marín, J. C. G., Grajales, Á. M. G., Herrera, D. E., Giraldo, L. A. M., & Castaño, S. C. G. (2020). Evaluación de diferentes métodos de aislamiento de *Malassezia* spp. causante de fungemia: Una revisión sistemática. *Biosalud*, *19*(1), Article 1. <https://doi.org/10.17151/biosa.2020.19.1.4>
- Pacheco Hernández, M. de L., Reséndiz Martínez, J. F., Arriola Padilla, V. J., Pacheco Hernández, M. de L., Reséndiz Martínez, J. F., & Arriola Padilla, V. J. (2019). Organismos entomopatógenos como control biológico en los sectores agropecuario y forestal de México: Una revisión. *Revista mexicana de ciencias forestales*, *10*(56), 4-32. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i56.496>
- Palmieri, D., Ianiri, G., Del Grosso, C., Barone, G., De Curtis, F., Castoria, R., & Lima, G. (2022). Advances and Perspectives in the Use of Biocontrol Agents against Fungal Plant Diseases. *Horticulturae*, *8*(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8070577>
- Papamichael, E. M., & Stergiou, P.-Y. (2020). Chapter 12—Enzyme immobilization strategies and bioprocessing applications. En S. P. Singh, A. Pandey, R. R. Singhanian, C. Larroche, & Z. Li (Eds.), *Biomass, Biofuels, Biochemicals* (pp. 217-241). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819820-9.00012-0>
- Pérez-Hedo, M., Ortells Fabra, R., morales Amezcua, P., Granero García, B., Martínez Sañudo, I., & Urbaneja, A. (2023). Avances recientes en el control biológico de plagas en cultivos de invernadero: El cultivo del tomate como caso práctico. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, *353*, 37-41.
- Pires, D., Vicente, C. S. L., Menéndez, E., Faria, J. M. S., Rusinque, L., Camacho, M. J., & Inácio, M. L. (2022). The Fight against Plant-Parasitic Nematodes: Current Status of Bacterial and Fungal Biocontrol Agents. *Pathogens*, *11*(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/pathogens11101178>

- Pörtner, H.-O., Roberts, D. C., Tignor, M. M. B., Poloczanska, E. S., Mintenbeck, K., Alegría, A., Craig, M., Langsdorf, S., Löschke, S., Möller, V., Okem, A., & Rama, B. (Eds.). (2022). *Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*.
- Purba, R. T. T., Fauzi, F., Sari, R. W., Naibaho, D. C., Putri, Q. A., Maulana, A., Hastuti, L. D. S., & Punnapayak, H. (2022). Arthrobotrys thaumasia and Arthrobotrys musiformis as biocontrol agents against Meloidogyne hapla on tomato plant. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(7). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230743>
- Quevedo, A., Magdama, F., Castro, J., Vera-Morales, M., Quevedo, A., Magdama, F., Castro, J., & Vera-Morales, M. (2022). Interacciones ecológicas de los hongos nematófagos y su potencial uso en cultivos tropicales. *Scientia Agropecuaria*, 13(1), 97-108. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2022.009>
- Rajput, M., Sajid, M. S., Rajput, N. A., George, D. R., Usman, M., Zeeshan, M., Iqbal, O., Bhutto, B., Atiq, M., Rizwan, H. M., Daniel, I. K., & Sparagano, O. A. (2024). Entomopathogenic Fungi as Alternatives to Chemical Acaricides: Challenges, Opportunities and Prospects for Sustainable Tick Control. *Insects*, 15(12), 1017. <https://doi.org/10.3390/insects15121017>
- Rigobelo, E. C., Nicodemo, D., Babalola, O. O., & Desoignies, N. (2024). Purpureocillium lilacinum as an Agent of Nematode Control and Plant Growth-Promoting Fungi. *Agronomy*, 14(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/agronomy14061225>
- Rohrmann, G. F. (2019). Baculoviruses as insecticides: Four examples. En *Baculovirus Molecular Biology [Internet]. 4th edition*. National Center for Biotechnology Information (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK543459/>
- Rouphael, Y., & Colla, G. (2020). Editorial: Biostimulants in Agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040>
- Rúa-Giraldo, Á. L. (2023). Taxonomía de los hongos: Un rompecabezas al que le faltan muchas piezas. *Biomédica*, 43(Sp. 1), 288-311. <https://doi.org/10.7705/biomedica.7052>
- S., N. M., A.W., M. Z., & Sapak, Z. (2023). The potential of Pseudomonas fluorescens as biological control agent against sheath blight disease in rice: A systematic review. *Food Research*, 7(Supplementary 2), 46-56. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.7\(s2\).11](https://doi.org/10.26656/fr.2017.7(s2).11)
- Sakshi Gurunath Pednekar, Bhakti Suresh Baing, & Amita Madhukar Kocharekar. (2025). A review on the isolation techniques and functional role of microbial endophytes from medicinal plants of India. *International Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 95-104. <https://doi.org/10.22271/27893065.2025.v5.i1b.122>
- Salas, A., Rusconi, J. M., Eliceche, D. P., Rosales, M. N., Achinelly, M. F., Chaves, E. J., & Sauka, D. H. (2024). Plant-Parasitic Nematode Control in Horticultural Crops of Argentina. En *Sustainable Management of Nematodes in Agriculture, Vol.2: Role of Microbes-Assisted Strategies* (pp. 327-353). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-52557-5\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-031-52557-5_13)
- Salazar-Villa, E., Báez-Parra, K. M., Carrillo-Fasio, J. A., & Rojo-Báez, I. (2025). Identification and control of phytoparasitic nematodes associated with fruit trees in Mexisco: Current status. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 28(2), Article 2. <https://doi.org/10.56369/tsaes.5725>

- Santander-Cortés, A. I., & Castro-Rosas, J. (2024). Aislamiento de bacterias ácido lácticas con potencial probiótico de alimentos fermentados típicos de México: Una revisión. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 11(22), Article 22. <https://doi.org/10.29057/icbi.v11i22.11072>
- Schmidt, M., Castilla, M., & López, V. T. (2022). Agroquímicos/Agrotóxicos. En J. Muzlera & A. Salomón (Eds.), *Diccionario del agro iberoamericano* (73; 5a ed., p. 1347). Teseopress. [https://www.researchgate.net/profile/Paula-Lucero-2/publication/384688089\\_Concepto\\_Salud\\_Ambiental\\_America\\_Latina\\_2000-2023\\_-\\_Diccionario\\_del\\_Agro\\_Iberoamericano/links/6703a5a1f599e0392fbec858/Concepto-Salud-Ambiental-America-Latina-2000-2023-Diccionario-del-Agro-Iberoamericano.pdf#page=73](https://www.researchgate.net/profile/Paula-Lucero-2/publication/384688089_Concepto_Salud_Ambiental_America_Latina_2000-2023_-_Diccionario_del_Agro_Iberoamericano/links/6703a5a1f599e0392fbec858/Concepto-Salud-Ambiental-America-Latina-2000-2023-Diccionario-del-Agro-Iberoamericano.pdf#page=73)
- Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., Mcveigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*, 2020, baaa062. <https://doi.org/10.1093/database/baaa062>
- Sharma, P., & Gaur, N. (2021). Microbial Biopesticides Use in Insect-Pest Management: An Overview. En M. Kaushal & R. Prasad (Eds.), *Microbial Biotechnology in Crop Protection* (pp. 123-145). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-981-16-0049-4\\_5](https://doi.org/10.1007/978-981-16-0049-4_5)
- Singh, S., Puri, S., & Sohal, S. K. (2024). Chapter 13 - Alternatives to chemical pesticides: Current trends and future implications. En A. Sharma, V. Kumar, & B. Zheng (Eds.), *Pesticides in the Environment* (pp. 307-334). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99427-9.00003-3>
- Smith, D., Barkman, T. J., & dePamphilis, C. W. (2024). Hemiparasitism. En S. M. Scheiner (Ed.), *Encyclopedia of Biodiversity (Third Edition)* (pp. 112-120). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822562-2.00332-7>
- Smith, D., Ryan, M. J., & Caine, T. (2022). Chapter 9—Contribution of CABI and culture collections to a sustainable future through the utilisation of microbial genetic resources. En Í. Kurtböke (Ed.), *Importance of Microbiology Teaching and Microbial Resource Management for Sustainable Futures* (pp. 229-273). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818272-7.00010-9>
- Sobalvarro, K. K. H., Lina, M. C. A., & Garcia, E. A. P. A. P. C. (2018). La revolución verde. *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático*, 4(8), 1040-1052. <https://doi.org/10.5377/ribcc.v4i8.6717>
- Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., Araniti, F., & Sharma, A. (2020). Trichoderma: The “Secrets” of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants*, 9(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/plants9060762>
- Soukhovolsky, V. G., Г, C. B., Kurenschikov, D. K., К, К. Д., Ivanova, Y. D., Д, И. Ю., Kovalev, A. V., & B, K. A. (2023). Insect Mortality Caused by Baculovirus: A Model of Second-Order Phase Transitions. *Izvestiâ Akademii Nauk. Rossijskaâ Akademiâ Nauk. Seriâ Biologiçeskaâ*, 5, Article 5. <https://doi.org/10.31857/S1026347022600595>
- Sprunger, C. D., & Martin, T. K. (2023). Chapter Three—An integrated approach to assessing soil biological health. En D. L. Sparks (Ed.), *Advances in Agronomy* (Vol. 182, pp. 131-168). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2023.06.003>

- Suquilanda Valdivieso, M. B., & Villamar, M. D. (2017). *Manejo agroecológico de plagas*. MAGAP.
- Swe A, Li J, Zhang KQ, Pointing SB, Jeewon R, & Hyde KD. (2011). Nematode-Trapping Fungi. *ResearchGate*, 1-26.
- Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden, Funck Jensen, D., Dubey, M., Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden, Jensen, B., University of Copenhagen, Denmark, Karlsson, M., & Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden. (2021). *Clonostachys rosea* to control plant diseases. En Wageningen University & Research, The Netherlands & J. Köhl (Eds.), *Burleigh Dodds Series in Agricultural Science*. Burleigh Dodds Science Publishing. <https://doi.org/10.19103/AS.2021.0093.14>
- Syngenta. (2024). *Reporte sostenibilidad 2023*. <https://www.syngenta.com.ec/nuestras-prioridades-de-sostenibilidad>
- Taheri, P., Puopolo, G., & Santoyo, G. (2025). Plant growth-promoting microorganisms: New insights and the way forward. *Microbiological Research*, 297, 128168. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2025.128168>
- Tatineni, S., & Hein, G. L. (2023). Plant Viruses of Agricultural Importance: Current and Future Perspectives of Virus Disease Management Strategies. *Phytopathology®*, 113(2), 117-141. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-22-0167-RVW>
- Tazi, H., Hamza, M. A., Hallouti, A., Benjlil, H., Idhmida, A., Furze, J. N., Paulitz, T. C., Mayad, E. H., Boubaker, H., & El Mousadik, A. (2021). Biocontrol potential of nematophagous fungi against *Meloidogyne* spp. Infecting tomato. *Organic Agriculture*, 11(1), 63-71. <https://doi.org/10.1007/s13165-020-00325-z>
- Tonnang, H. E., Sokame, B. M., Abdel-Rahman, E. M., & Dubois, T. (2022). Measuring and modelling crop yield losses due to invasive insect pests under climate change. *Current Opinion in Insect Science*, 50, 100873. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2022.100873>
- Turina, M., & Salem, N. (2020). Tomato brown rugose fruit virus (Tomato brown rugose fruit virus). *CABI Compendium*, CABI Compendium, 88757522. <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.88757522>
- Upadhayay, J., Rana, M., Juyal, V., Bisht, S. S., & Joshi, R. (2020). Impact of Pesticide Exposure and Associated Health Effects. En *Pesticides in Crop Production* (pp. 69-88). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119432241.ch5>
- U.R. Vianna, D Pratisoli, J.C. Zanuncio, J.R.C.C. de Alencar, & F.D. Zinger. (2021). *Trichogramma spp. (Hymenoptera:Trichogrammatidae) species and strains for the control of anticarsia gemmatalis (Lepidoptera: Noctuidae)* [Dataset]. SciELO journals. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.14288567.v1>
- Valenzuela-García, J. R., Peña-Casas, B. E. de la, & Gaytán-Muñiz, T. (2022). Agricultura 4.0. *Agraria, SE1*, Article SE1. <https://doi.org/10.59741/agraria.v19iSE1.4>
- Vera Moreno, F. S., Ormaza Hugo, R. M., Coello Cabezas, J. R., Yanchapanta Bastidas, V. N., & Gusqui Macas, S. E. (2018). Aplicación de un diseño experimental completamente al azar para determinar la variabilidad de tamaños en la síntesis de nanopartículas magnéticas de hierro. *Ciencia Digital*, 2(4.1.), 125-138. <https://doi.org/10.33262/cienciadigital.v2i4.1..195>
- Vera-Morales, M., Castañeda-Ruiz, R. F., Sosa, D., Quevedo, A., Naranjo-Morán, J., Serrano, L., & Ratti, M. F. (2022). Mecanismos de captura, colonización y alimentación

- empleados por parásitos y predadores de nematodos. *Ecosistemas*, 2390. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2390>
- Vera-Morales, M., López Medina, S. E., Naranjo-Morán, J., Quevedo, A., & Ratti, M. F. (2023). Nematophagous Fungi: A Review of Their Phosphorus Solubilization Potential. *Microorganisms*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010137>
- Vera-Morales, M., Quevedo, A., Peñaherrera, S., Serrano, L., Sosa, D., Ratti, M. F., Castañeda-Ruiz, R. F., & Magdama, F. (2024). Dynamics of growth, sporulation and capture of asexual fungi on *Meloidogyne* sp., in vitro. *Scientia Agropecuaria*, 15(1), 121-132. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2024.009>
- Vera-Velez, R., Ramos-Veintimilla, R., & Grijalva-Olmedo, J. (2024). Optimizing Pathogen Control through Mixed Cocoa–Plantain Agroecosystems in the Ecuadorian Coastal Region. *Agronomy*, 14(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/agronomy14061107>
- Vinchira-Villarraga, D. M., Moreno-Sarmiento, N., Vinchira-Villarraga, D. M., & Moreno-Sarmiento, N. (2019). Control biológico: Camino a la agricultura moderna. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(1), 2-5. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.80860>
- Wang, L., Zhang, X., Lu, J., & Huang, L. (2025). Microbial diversity and interactions: Synergistic effects and potential applications of *Pseudomonas* and *Bacillus* consortia. *Microbiological Research*, 293, 128054. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2025.128054>
- Wei, Y., Li, L., Liu, Y., Xiang, S., Zhang, H., Yi, L., Shang, Y., & Xu, W. (2022). Identification techniques and detection methods of edible fungi species. *Food Chemistry*, 374, 131803. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131803>
- Weisenburger, D. D. (2021). A Review and Update with Perspective of Evidence that the Herbicide Glyphosate (Roundup) is a Cause of Non-Hodgkin Lymphoma. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia*, 21(9), 621-630. <https://doi.org/10.1016/j.clml.2021.04.009>
- Willer, H., Travnicek, J., & Schlatter, B. (2025). *The World of Organic Agriculture. Statistics and emerging trends 2025*. <https://agrodrive.agrocalidad.gob.ec/index.php/s/WixwmZFQszcqfQp?dir=undefined&openfile=4227951>
- World Bank Open Data. (2025). *Agriculture, forestry, and fishing, value added (% of GDP)*. World Bank Open Data. <https://data.worldbank.org>
- Wu, X., Liu, Y., Jia, B., Tao, L., Li, H., Wang, J., Yuan, Z., Sun, X., & Yao, Y. (2025). Four Decades of Bacillus Biofertilizers: Advances and Future Prospects in Agriculture. *Microorganisms*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13010187>
- Yang, J., Wang, L., Ji, X., Feng, Y., Li, X., Zou, C., Xu, J., Ren, Y., Mi, Q., Wu, J., Liu, S., Liu, Y., Huang, X., Wang, H., Niu, X., Li, J., Liang, L., Luo, Y., Ji, K., ... Zhang, K.-Q. (2011). Genomic and Proteomic Analyses of the Fungus *Arthrobotrys oligospora* Provide Insights into Nematode-Trap Formation. *PLOS Pathogens*, 7(9), e1002179. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002179>
- Yi, X., Guo, Y., Khan, R. A. A., & Fan, Z. (2021). Understanding the pathogenicity of *Pochonia chlamydosporia* to root knot nematode through omics approaches and action mechanism. *Biological Control*, 162, 104726. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104726>

- Zambrano Mendoza, J. L., Yáñez G., C., Sangoquiza Caiza, C. A., Limongi Andrade, R., Alarcón Cobeña, F., Zambrano Zambrano, E. E., Caicedo Villafuerte, M. B., Villavicencio Linzán, J. P., Cartagena Ayala, Y. E., Parra, R., Asaquibay Inca, C. R., Quimbiamba, V., Nieto Beltrán, M., López Guerrero, V. A., Tapia B., C., Tacán, M., Villacrés Poveda, C. E., Garcés, S., Cañarte Bermúdez, E., ... Pinargote García, L. F. (2019). *Situación del cultivo de maíz en Ecuador: Investigación y desarrollo de tecnologías en el Iniap*. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5457>
- Zelaya-Molina, L. X., Chávez-Díaz, I. F., de los Santos-Villalobos, S., Cruz-Cárdenas, C. I., Ruíz-Ramírez, S., Rojas-Anaya, E., Zelaya-Molina, L. X., Chávez-Díaz, I. F., de los Santos-Villalobos, S., Cruz-Cárdenas, C. I., Ruíz-Ramírez, S., & Rojas-Anaya, E. (2022). Control biológico de plagas en la agricultura mexicana. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13(SPE27), 69-79. <https://doi.org/10.29312/remexca.v13i27.3251>
- Zhang, K., Li, J., Cheng, J., & Lin, S. (2023). Alkaline Phosphatase PhoD Mutation Induces Fatty Acid and Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acid (LC-PUFA)-Bound Phospholipid Production in the Model Diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Marine Drugs*, 21(11), 560. <https://doi.org/10.3390/md21110560>
- Zou, Y., Zhang, Z., Zeng, Y., Hu, H., Hao, Y., Huang, S., & Li, B. (2024). Common Methods for Phylogenetic Tree Construction and Their Implementation in R. *Bioengineering*, 11(5), 480. <https://doi.org/10.3390/bioengineering11050480>
- Zúñiga-Castro, K., & Quirós-Cedeño, G. (2021). Los hongos como elementos clave en la productividad del suelo, la agricultura y el bienestar social. *Biocenosis*, 32(1), 46-58. <https://doi.org/10.22458/rb.v32i1.3548>
- Zurita, M. (2021). El sistema CRISPR/Cas, crónica de un premio Nobel anunciado. *Educación química*, 32(3), 3-13. <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2021.3.79714>

## Anexos

### Anexo 1. Sitio de muestreo



*Nota.* Escuela Superior Politécnica del litoral ESPOL, GEA. Por el autor (2025)

### Anexo 2. Tabla de resumen de estructuras internas cepa HN20

<b>Estructura</b>	<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Media</b>	<b>D.E.</b>	<b>E.E.</b>	<b>Mín</b>	<b>Máx</b>	<b>Mediana</b>
<b>Conidio</b>	Alto	20	8.18	2.65	0.59	5.43	13.43	7.14
<b>Conidio</b>	Ancho	20	4.60	1.39	0.31	2.80	7.27	4.25
<b>Septo 1</b>	Alto	18	1.19	0.52	0.12	0.55	2.27	1.10
<b>Septo 1</b>	Ancho	18	1.82	0.60	0.14	0.85	2.72	1.71
<b>Septo 2</b>	Alto	20	5.23	1.52	0.34	3.30	7.97	4.78
<b>Septo 2</b>	Ancho	20	4.43	1.61	0.36	1.09	7.25	4.12
<b>Septo 3</b>	Alto	20	1.90	0.78	0.17	0.93	4.03	1.63
<b>Septo 3</b>	Ancho	20	1.24	0.47	0.11	0.67	2.52	1.18
<b>Conidióforo</b>	Alto	10	61.98	19.08	6.03	37.69	89.06	57.08
<b>Conidióforo</b>	Ancho	10	0.81	0.23	0.07	0.57	1.14	0.73

*Nota.* Tabla creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

**Anexo 3.** *Tabla de resumen de estructuras internas cepa HN21*

<b>Estructura</b>	<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Media</b>	<b>D.E.</b>	<b>E.E.</b>	<b>Mín</b>	<b>Máx</b>	<b>Mediana</b>
<b>Conidio</b>	Alto	20	6.15	0.91	0.20	4.72	8.26	5.95
<b>Conidio</b>	Ancho	20	2.90	0.27	0.06	2.20	3.24	2.95
<b>Septo 1</b>	Alto	9	0.91	0.28	0.09	0.32	1.21	0.96
<b>Septo 1</b>	Ancho	9	0.90	0.16	0.05	0.66	1.15	0.91
<b>Septo 2</b>	Alto	20	3.99	0.41	0.09	3.16	4.89	4.08
<b>Septo 2</b>	Ancho	20	2.64	0.26	0.06	2.04	3.10	2.65
<b>Septo 3</b>	Alto	20	1.66	0.35	0.08	0.96	2.32	1.68
<b>Septo 3</b>	Ancho	20	0.80	0.16	0.03	0.58	1.10	0.75
<b>Conidióforo</b>	Alto	10	46.40	6.67	2.11	37.53	55.72	46.88
<b>Conidióforo</b>	Ancho	10	1.07	0.36	0.12	0.49	1.81	1.10

*Nota.* Tabla creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

**Anexo 4.** *Tabla de resumen de estructuras internas cepa HN24*

<b>Estructura</b>	<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Media</b>	<b>D.E.</b>	<b>E.E.</b>	<b>Mín</b>	<b>Máx</b>	<b>Mediana</b>
<b>Conidio</b>	Alto	20	7.38	0.70	0.16	5.39	8.56	7.47
<b>Conidio</b>	Ancho	20	3.42	0.25	0.06	2.96	3.90	3.50
<b>Septo 1</b>	Alto	19	0.93	0.26	0.06	0.62	1.56	0.89
<b>Septo 1</b>	Ancho	19	1.09	0.21	0.05	0.65	1.66	1.07
<b>Septo 2</b>	Alto	20	4.65	0.63	0.14	3.26	6.11	4.63
<b>Septo 2</b>	Ancho	20	4.42	4.51	1.01	2.62	23.52	3.52
<b>Septo 3</b>	Alto	20	1.84	0.44	0.10	0.95	2.69	1.81
<b>Septo 3</b>	Ancho	20	0.95	0.18	0.04	0.56	1.32	0.93
<b>Conidióforo</b>	Alto	10	45.28	8.97	2.84	31.62	60.86	43.14
<b>Conidióforo</b>	Ancho	10	1.26	0.44	0.14	0.75	2.08	1.20

*Nota.* Tabla creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

**Anexo 5. Tabla de resumen de estructuras internas cepa HN25**

<b>Estructura</b>	<b>Variable</b>	<b>n</b>	<b>Media</b>	<b>D.E.</b>	<b>E.E.</b>	<b>Mín</b>	<b>Máx</b>	<b>Mediana</b>
<b>Conidio</b>	Alto	20	7.29	0.58	0.13	5.79	8.13	7.12
<b>Conidio</b>	Ancho	20	3.04	0.34	0.08	2.12	3.54	3.09
<b>Septo 1</b>	Alto	19	0.94	0.19	0.04	0.68	1.42	0.93
<b>Septo 1</b>	Ancho	19	1.09	0.18	0.04	0.68	1.38	1.08
<b>Septo 2</b>	Alto	20	4.54	0.40	0.09	3.78	5.25	4.49
<b>Septo 2</b>	Ancho	20	3.13	0.34	0.08	2.23	3.64	3.18
<b>Septo 3</b>	Alto	20	1.88	0.32	0.07	1.34	2.54	1.89
<b>Septo 3</b>	Ancho	20	0.90	0.16	0.04	0.48	1.18	0.91
<b>Conidióforo</b>	Alto	10	50.17	12.53	3.96	35.61	72.39	47.69
<b>Conidióforo</b>	Ancho	10	0.99	0.37	0.12	0.50	1.70	0.96

*Nota.* Tabla creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

**Anexo 6. Tabla de resumen de datos ensayo antagonista**

<b>Cepa</b>	<b>Tratamientos</b>	<b>Réplica</b>	<b>Captura</b>
HN20	Control	8	21
	Captura	8	63
HN21	Control	8	13
	Captura	8	35
HN24	Control	8	17
	Captura	8	39
HN25	Control	8	37
	Captura	8	49

*Nota.* Tabla creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

**Anexo 7. Estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de dispersión**

<b>Cepas</b>	<b>n</b>	<b>Media</b>	<b>Mediana</b>	<b>D.E.</b>	<b>E.E</b>
<b>HN20</b>	16	5.25	5.50	3.87	0.97
<b>HN21</b>	16	3.00	3.00	2.22	0.56
<b>HN24</b>	16	3.50	3.00	3.22	0.81
<b>HN25</b>	16	5.38	5.00	3.44	0.86

*Nota.* Tabla creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

**Anexo 8. Prueba de Tukey sobre cepas y tratamiento vs. Control**

**DMS:** 2.67356

**Error:** 8.1811

**gl:** 59

<b>Cepa</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E</b>
<b>HN20</b>	5.25	16	0.72
<b>HN21</b>	3.00	16	0.72
<b>HN24</b>	3.50	16	0.72
<b>HN25</b>	5.38	16	0.72

**DMS:** 1.43085

**Error:** 8.1811

**gl:** 59

<b>Tratamientos</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E</b>
<b>Tratamiento</b>	2.75	32	0.51
<b>Control</b>	5.81	32	0.51*

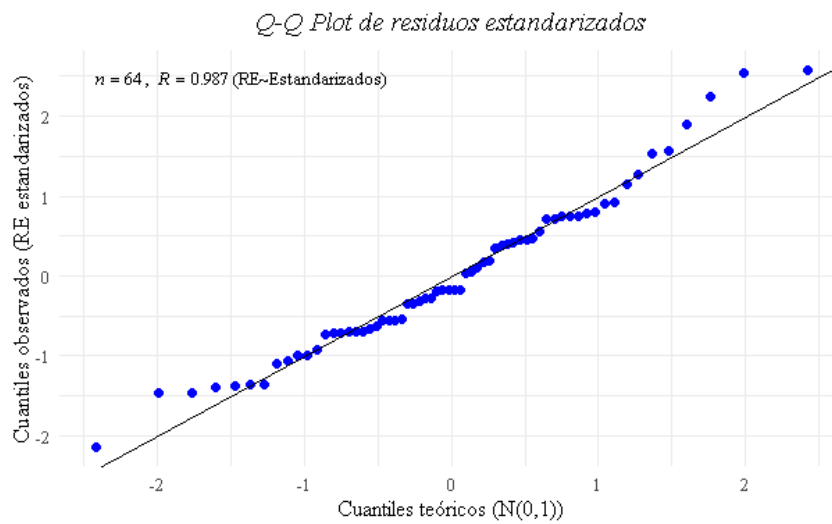
*Nota.* Tabla creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

**Anexo 9. Prueba de Kolmogórov-Smirnov con corrección de Lilliefors**

<b>Cepa</b>	<b>Variable</b>	<b>Ajuste</b>	<b>Varianza</b>	<b>n</b>	<b>Estadístico D</b>	<b>P-value</b>
<b>HN20</b>	RE Captura	Normal (0,1)	1.18	16	0.17	0.7492
<b>HN21</b>	RE Captura	Normal (0,1)	0.39	16	0.22	0.4393
<b>HN24</b>	RE Captura	Normal (0,1)	1.05	16	0.19	0.5877
<b>HN25</b>	RE Captura	Normal (0,1)	1.64	16	0.17	0.7240

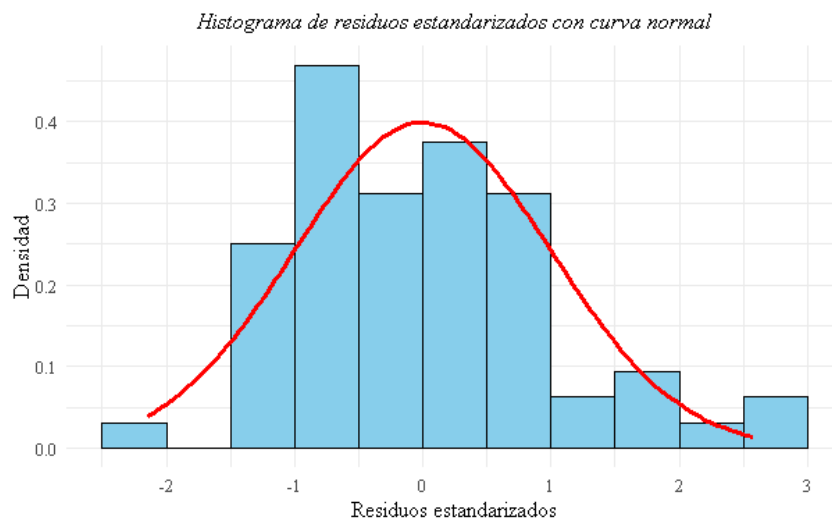
*Nota.* Tabla creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

## Anexo 10. *Q-Q Plot Residuos*



*Nota.* Ilustración creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

## Anexo 11. *Histograma de residuos*



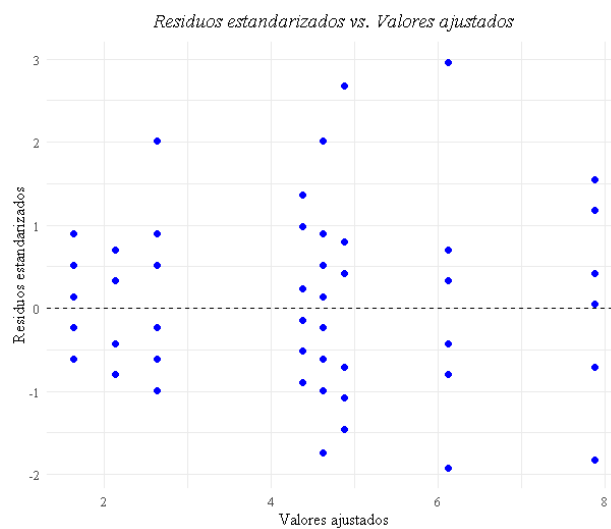
*Nota.* Ilustración creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

### Anexo 12. Prueba de Levene

	gl	Valor p	Pr(>F)
<b>Grupo</b>	7	1.0231	0.4254
	56		

Nota. Tabla creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

### Anexo 13. Gráfico Residuos vs. Valores ajustados de dispersión



Nota. Ilustración creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

### Anexo 14. Prueba Post-Hoc de Tukey para Tratamientos vs. Control por cepas

<b>HN20</b>				<b>HN21</b>			
<b>DMS: 3.07020</b>				<b>DMS: 1.89574</b>			
<b>Error: 8.1964</b>				<b>Error: 3.1250</b>			
<b>gl: 14</b>				<b>gl: 14</b>			
Tratamientos	Medias	n	E.E	Tratamientos	Medias	n	E.E
<b>Control</b>	2.63	8	1.01	<b>Control</b>	1.63	8	0.63
<b>Tratamiento</b>	7.88	8	1.01*	<b>Tratamiento</b>	4.38	8	0.63*

<b>HN24</b>				<b>HN25</b>			
<b>DMS: 3.21399</b>				<b>DMS: 3.07020</b>			
<b>Error: 8.9821</b>				<b>Error: 8.1964</b>			
<b>gl: 14</b>				<b>gl: 14</b>			
Tratamientos	Medias	n	E.E	Tratamientos	Medias	n	E.E
<b>Control</b>	2.13	8	1.06	<b>Control</b>	4.63	8	1.23
<b>Tratamiento</b>	4.88	8	1.06	<b>Tratamiento</b>	6.13	8	1.23

Nota: Tabla creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).

**Anexo 15.** *Tabla de mortalidad por cepas*

<b>Cepa</b>	<b>Mortalidad</b>	<b>Réplica</b>	<b>Conteo</b>
HN20	Libres	4	1
	Capturados	4	83
HN21	Libres	4	0
	Capturados	4	48
HN24	Libres	4	1
	Capturados	4	55
HN25	Libres	4	2
	Capturados	4	84

*Nota.* Tabla creada con RStudio 4.5.1, por el autor (2025).