

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA

**ALTERNATIVAS BIOLÓGICAS PARA REEMPLAZAR LOS
PLAGUICIDAS DE MAYOR CONSUMO EN EL ECUADOR
ALTERNATIVAS BIOLÓGICAS PARA EL REEMPLAZO DE
NEMATICIDAS QUÍMICOS EN EL ECUADOR**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PRESENTADO COMO
REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA
AGROINDUSTRIAL**

MARÍA JOSÉ TORRES MENDOZA

maria.torres04@epn.edu.ec

DIRECTOR: MARY FERNANDA CASA VILLEGAS Ph.D.

mary.casa@epn.edu.ec

DMQ, marzo 2023

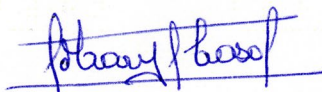
CERTIFICACIONES

Yo, María José Torres Mendoza declaro que la tesis aquí descrita es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.



MARÍA TORRES

Certifico que el presente trabajo de integración curricular fue desarrollado por María José Torres Mendoza, bajo mi supervisión.



MARY CASA VILLEGAS Ph.D.
DIRECTOR

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

A través de la presente declaración, afirmamos que el trabajo de integración curricular aquí descrito, así como el (los) producto(s) resultante(s) del mismo, son públicos y estarán a disposición de la comunidad a través del repositorio institucional de la Escuela Politécnica Nacional; sin embargo, la titularidad de los derechos patrimoniales nos corresponde a los autores que hemos contribuido en el desarrollo del presente trabajo; observando para el efecto las disposiciones establecidas por el órgano competente en propiedad intelectual, la normativa interna y demás normas.

MARÍA JOSÉ TORRES MENDOZA

MARY CASA VILLEGAS

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado para mi mamá y papá, quienes han sido mi soporte y apoyo durante toda mi carrera académica.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a mi madre y padre por su apoyo incondicional en cada etapa de mi vida y por todos sus esfuerzos para que yo cumpla cada una de mis metas. A mis hermanos Richard, Patricio y Juan Pablo por siempre apoyarme. A mis sobrinos (Alisson, Johan, Mateo, Matías, Doménica, Martín y Martina) que son las personas que me dan alegría y me llenan de cariño. Y a mi mejor amiga Emily por su amistad y apoyo.

A mi directora de este trabajo de integración curricular por toda su ayuda y paciencia durante la elaboración de este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1	DESCRIPCIÓN DEL COMPONENTE DESARROLLADO	1
1.1	Objetivo general.....	1
1.2	Objetivos específicos	2
1.3	Alcance	2
1.4	Marco teórico	2
1.4.1	Impactos Negativos de los Plaguicidas	3
1.4.2	Alternativas Biológicas	5
2	METODOLOGÍA	7
2.1	Identificación de los nematicidas en el Ecuador	7
2.2	Selección de la alternativa biológica	7
2.3	Determinación de las condiciones para la producción de la alternativa biológica y recuperación del material biológico	8
3	RESULTADOS, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	9
3.1	Nematicidas utilizados en el Ecuador.....	9
3.1.1	Dicloropropeno + Cloropicrina.....	10
3.1.2	Cadusafos.....	11
3.1.3	Etoprofos	11
3.1.4	Fenamifos	11
3.1.5	Fluopiram.....	12
3.1.6	Oxamil.....	12
3.1.7	Terbufos.....	13
3.2	Principios activos cancelados en el Ecuador.....	13
3.2.1	Bifentrina.....	13
3.2.2	Carbofurano	14
3.3	Cultivos permanentes en los que se utilizan nematicidas.....	14
3.3.1	Banano	14
3.3.2	Palma africana	17
3.3.3	Flores permanentes	18
3.4	Cultivos transitorios en los que se utilizan nematicidas	21
3.4.1	Tomate riñón.....	21
3.4.2	Tabaco.....	22
3.5	Nemátodos fitoparásitos que atacan a los cultivos en el Ecuador	22
3.5.1	<i>Meloidogyne incognita</i>	23

3.5.2	<i>Nacobbus aberrans</i>	25
3.5.3	<i>Radopholus similis</i>	25
3.6	Alternativas Biológicas para el control de nemátodos	26
3.6.1	Género <i>Paecilomyces</i>	31
3.6.2	Mecanismo de acción <i>Paecilomyces lilacinus</i> cepa 251.....	32
3.6.3	Producción de <i>P. lilacinus</i>	33
3.6.4	Recolección de esporas de <i>P. lilacinus</i>	38
3.7	Conclusiones	41
3.8	Recomendaciones	41
4	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
5	ANEXOS	48
	ANEXO I	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 Principios Activos Vigentes en el Ecuador para el control de nemátodos	9
Tabla 3.2. Alternativas biológicas para el control de <i>R. similis</i> (RS) y <i>M. incognita</i> (MI)	28
Tabla 3.3 Producción de esporas de <i>P. lilacinus</i> en sustratos sólidos a partir de residuos agroindustriales	35
Tabla I. Características de los principios activos vigentes y cancelados para el control de nemátodos en Ecuador.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 El ciclo de los plaguicidas.....	4
Figura 3.1 Superficie sembrada de banano (■) y palma africana (■).....	15
Figura 3.2 Superficie total perdida (■) y superficie perdida por plagas (⌘) de banano	15
Figura 3.3 Exportaciones de banano (■) y palma africana (■).....	16
Figura 3.4 Superficie total perdida (■) y superficie perdida por plagas (⌘) de palma africana.....	18
Figura 3.5 Superficie sembrada de Rosa (■), Hypericum (■) y Gypsophilia (■).	19
Figura 3.6 Exportaciones de flores permanentes (Gypsophilia, Hypericum y Rosa)	20
Figura 3.7 Superficie sembrada de tomate riñón (■) y tabaco (■)	21
Figura 3.8 Superficie total perdida (■) y superficie perdida por plagas (⌘) de tomate riñón.....	22
Figura 3.9 Diagrama del ciclo de vida de <i>Meloidogyne</i> J2: segundo estadio juvenil, J3: tercer estadio juvenil, J4: cuarto estadio juvenil	24
Figura 3.10 Diagrama de un apresorio penetrando la cáscara de un huevo de nemátodo. Las flechas señalan la dirección de crecimiento de la clavija de infección e indican la secreción de enzimas extracelulares.....	33
Figura 3.11 Esquema de recolección de las esporas de <i>P. lilacinus</i> desarrolladas en matraz (a) y caja Petri (b).....	40

RESUMEN

Los nemátodos fitoparásitos son una de las principales plagas que afecta a los cultivos en Ecuador. El control químico de los nemátodos se basa en el uso de nematicidas que son altamente perjudiciales para animales y humanos. En este trabajo se describen los nematicidas que se utilizan en Ecuador, los cultivos en los que se utilizan y los nemátodos que controlan. El banano y las flores, particularmente la rosa, generan altos ingresos económicos al país por concepto de exportaciones, aproximadamente 4,4 millones de dólares entre ambos. Los nemátodos que afectan al banano y a la rosa son *R. similis* y *M. incognita*, respectivamente. Una alternativa biológica que reduce infestaciones, afecciones a los cultivos y ayuda a controlar *R. similis* y *M. incognita* es *P. lilacinus*, un hongo que tiene la capacidad de infectar a los huevos, afectar a los juveniles J2 y causar mal formaciones y alteraciones con los otros estadíos. La producción de esporas de *P. lilacinus* se realiza en fermentaciones sólidas y se puede utilizar sustratos a partir de residuos agroindustriales como el afrecho de arroz, una excelente opción para alcanzar altas concentraciones de esporas ($1,79 * 10^{10}$ esporas / g de sustrato) a bajos costos.

PALABRAS CLAVE: nemátodos, nematicidas, *P. lilacinus*, esporas

ABSTRACT

Phytoparasitic nematodes are one of the main pests which affect crops in Ecuador. Chemical control of nematodes is based on the use of nematicides that are highly harmful to animals and humans. This paper describes the nematicides that are used in Ecuador, the crops that they are used and the nematodes that they control. Bananas and flowers, particularly roses, generate high economic income for the country from exports, approximately 4,4 million between them. The nematodes that affect bananas and roses are *R. similis* and *M. incognita*, respectively. A biological alternative that reduces infestations and crop damage and helps to control *R. similis* and *M. incognita* is *P. lilacinus*, a fungus that has the ability to infect eggs, affect juveniles J2 and cause malformations and alterations with the other stages. Solid fermentation is used for the production of *P. lilacinus* spores, substrates from agroindustrial wastes such as rice bran, a good alternative because it is an excellent option to achieve high spore concentrations ($1.79 * 10^{10}$ spores / g substrate) at low costs.

KEYWORDS : nematodes, nematicides, *P. lilacinus*, spores

1 DESCRIPCIÓN DEL COMPONENTE DESARROLLADO

El sector agrícola es una de las actividades económicas más destacadas y probablemente una de las menos desarrolladas en el Ecuador. Actualmente, la superficie terrestre destinada a la agricultura cubre vastas áreas para satisfacer las necesidades alimentarias de los seres humanos y animales. A causa de la alta demanda de alimentos provocada por el constante crecimiento poblacional, se desarrollaron formas de producción agrícola a partir del siglo XX para aumentar la rentabilidad de los cultivos y maximizar la productividad de los suelos agrícolas. La tecnología avanzada que se introdujo en el sector agrícola suplió las necesidades alimentarias y generó altos beneficios económicos (Tiezzi, 2008).

Desde la revolución verde se implementó el control químico, que se fundamenta en la utilización de plaguicidas para disminuir o eliminar plagas y enfermedades en las plantas. Sin embargo, las regulaciones y controles del uso de estos productos han sido deficientes en varios países en vías de desarrollo (Pérez, 2018). En muchos casos, la aplicación no se efectúa respetando las indicaciones técnicas, se convierte en un riesgo para los seres humanos, animales y medio ambiente. En este sentido, surge la importancia de incorporar nuevas alternativas de control, que conduzcan a la sustentabilidad en la agricultura para ofrecer productos de alta calidad sin comprometer los recursos del medio ambiente (Feditchkina, 2014).

Los bioplaguicidas microbianos (hongos, bacterias) son utilizados para disminuir o eliminar la población de plagas, ya sea de forma temporal o permanente. Los objetivos principales de utilizar estas alternativas naturales que se caracterizan por ser amigables con el ambiente son: limitar el uso de agroquímicos, evitar pérdidas económicas causadas por el ataque de plagas, mitigar efectos nocivos al ambiente e integrar estrategias compatibles para optimizar la efectividad del manejo integrado de plagas (MIP). Por otro lado, es importante seleccionar al microorganismo que se utilizará y las condiciones de crecimiento, propagación, adaptabilidad y recuperación, para asegurar la efectividad de este tipo de control biológico (O'Brien, 2017).

1.1 Objetivo general

Evaluar alternativas biológicas para el control de los nemátodos que atacan a los cultivos en el Ecuador.

1.2 Objetivos específicos

1. Identificar los nematicidas químicos que se utilizan en el Ecuador, los cultivos a los que se destinan y los nemátodos que controlan.
2. Analizar alternativas biológicas para el control de los nemátodos en Ecuador.
3. Establecer condiciones de propagación y formas de recuperación de la alternativa biológica.

1.3 Alcance

El presente trabajo tiene la finalidad de evaluar alternativas biológicas para el control de nemátodos en el Ecuador. Se llevará a cabo una revisión bibliográfica acerca de los nematicidas químicos que se encuentran vigentes, los cultivos en los que está permitido su uso y los nemátodos que controlan. De acuerdo a los datos obtenidos, se clasificarán los productos comerciales según su principio activo y clasificación toxicológica. Posteriormente, se investigará los potenciales géneros microbianos con potencial para controlar a los nemátodos de interés, su selección estará en función de los resultados satisfactorios que se hayan obtenido experimentalmente por otros autores. Finalmente, se identificarán las condiciones de crecimiento, propagación y formas de recuperación del material biológico de interés.

1.4 Marco teórico

El constante crecimiento demográfico ha sido la causa principal para la investigación de mejoras en la producción agrícola, con el fin de cubrir las necesidades alimentarias de los consumidores. En 1940 el mundo obtuvo una de las opciones más comprometedoras de la época, y fue denominada como revolución verde, misma que se centró en la aplicación de avances científicos y tecnológicos que se habían desarrollado hasta ese momento. Durante esta etapa el propósito era incrementar las tasas de producción agrícola, bajo una producción intensiva a gran escala, por medio de monocultivos agrícolas que en su momento fueron los cereales más consumidos (maíz y trigo) (Tiezzi, 2008). A fin de que la revolución verde logre su principal objetivo, se adicionaron paulatinamente 4 componentes claves como variedades mejoradas, fertilizantes nitrogenados (cloruro de amonio, nitrato de amonio, urea, entre otros), sistemas de riego y plaguicidas (Pazos et al., 2016).

Actualmente, la agricultura ocupa un tercio de la superficie terrestre, lo que se traduce en 15 millones de kilómetros cuadrados de cultivos agrícolas. La mayor parte son

monocultivos que demandan varios recursos como agua, energía y agroquímicos. En sus inicios, el uso de variedades mejoradas permitió obtener altos rendimientos que sirvieron para suplir la demanda de los alimentos. Sin embargo, los monocultivos son vulnerables ante plagas y enfermedades, haciéndolos altamente dependientes de los plaguicidas. Se estima que, en el 2007, se utilizaron 2,3 billones de kilogramos de ingredientes activos pertenecientes a plaguicidas en todo el mundo. A pesar de que en muchos casos el uso de productos químicos no es imprescindible, se incorporan para alcanzar altos niveles de productividad y rentabilidad. Así mismo, para varios agricultores, el uso de plaguicidas es parte de medidas preventivas. Y en países donde las regulaciones de estos productos no son eficientes, hay un manejo incorrecto de los productos químicos por parte de los agricultores que comprometen su salud y el medio ambiente (Pérez, 2018).

1.4.1 Impactos Negativos de los Plaguicidas

Aproximadamente 25 millones de agricultores en todo el mundo experimentan envenenamientos por plaguicidas cada año. Las principales causas son la exposición a productos químicos durante la mezcla y aplicación en los cultivos. En Ecuador, el uso inadecuado de productos químicos provocó 173 casos de intoxicaciones por agroquímicos en el 2021 (MSP, 2021). Por otra parte, las intoxicaciones por plaguicidas también pueden ser provocadas por el consumo de alimentos contaminados o inhalación de estos productos químicos.

A causa de la residualidad de los plaguicidas, trazas de estos productos pueden permanecer en alimentos, agua y aire; como consecuencia, la mayoría de las personas estamos expuestas a los agroquímicos, aunque no trabajemos directamente en la agricultura, como se indica en la Figura 1.1, una vez que se realizan fumigaciones en los cultivos, los agroquímicos son transportados a la atmósfera durante y después de su aplicación. Una parte de estos productos regresa a la tierra por precipitación y deposición seca, y pueden llegar a aguas subterráneas y arroyos. Las fuentes de agua generalmente son susceptibles a la contaminación por plaguicidas debido a la escorrentía y riego en las zonas agrícolas. Por lo regular, el agua es una vía a través de la cual los plaguicidas se difunden por el ambiente. En un estudio en el río Owena en Nigeria localizado cerca de una importante producción de cacao, donde se utilizan plaguicidas, se encontró una concentración entre 0,09 a 0,63 nmol de neonicotinoides por gramo de músculo de seis diferentes especies de pescado (Adegun et al., 2020).

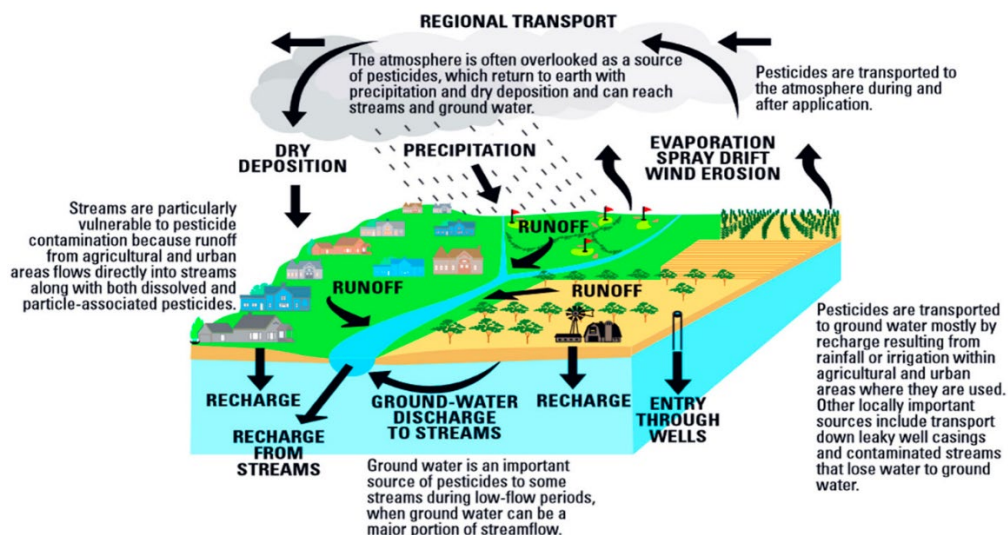


Figura 1.1 El ciclo de los plaguicidas (Adegun et al., 2020)

Por otra parte, existen diversas enfermedades que pueden relacionarse con el uso y exposición de los plaguicidas como cáncer, leucemia, asma, la enfermedad de Parkinson entre otros (González, 2019). Generalmente, los plaguicidas más peligrosos son producidos y distribuidos por empresas químicas de países desarrollados, donde su uso está prohibido. Estos productos, son destinados a países en vías de desarrollo, en los cuales las normas de regulación ambiental son deficientes o nulas (Pérez, 2018). En Ecuador, para el año 2019 las importaciones de plaguicidas representaron 268 millones de dólares; de los cuales el 44 % se destinó a funguicidas, 21 % insecticidas, 18% herbicidas, 8% desinfectantes y 6 % a otros plaguicidas como los nematocidas (Segura, 2020).

Las prácticas utilizadas desde la revolución verde provocaron el deterioro de los recursos naturales como los suelos agrícolas, en los cuales se estima una biodiversidad de 10^4 a 10^9 microorganismos de diferentes especies por gramo de suelo. Por otro lado, el uso sin criterio técnico de los plaguicidas ha derivado en afecciones a la salud humana, deterioro del ambiente, disminución de depredadores naturales y polinizadores. Asimismo, ha propiciado el desarrollo de plagas y enfermedades más resistentes y agresivas, que dificulta su control y ocasiona pérdidas en los cultivos (Pazos et al., 2016).

Ante los impactos negativos que ha causado la agricultura convencional, surge la necesidad del desarrollo de nuevos modelos de gestión, y que las nuevas labores agrícolas conduzcan a una agricultura sostenible, que aseguren una alta diversidad biológica, reducción o reemplazo de agroquímicos, y el uso de alternativas más limpias como las biológicas. Las alternativas biológicas se caracterizan por tener una excelente proyección a largo plazo, considerando que evita la dependencia de plaguicidas para el control de microorganismos e insectos que generan afecciones a los cultivos. De esta manera, es

posible minimizar el daño al medio ambiente, evitar afecciones a la salud, y conseguir una producción de alimentos libre de residuos químicos (Feditchkina, 2014).

1.4.2 Alternativas Biológicas

En el 2015, los bioplaguicidas se aplicaron en más de 30 millones de hectáreas en el mundo. Se calcula que 350 especies biológicas incluidos en más de 500 productos comerciales se utilizan como agentes para el control biológico. El mercado del control de insectos benéficos es el europeo y el de productos a partir de microorganismos es el estadounidense (Gómez et al., 2018). Los bioplaguicidas son formulaciones producidas de forma natural que controlan plagas mediante mecanismos no tóxicos y de forma ecológica; por ello, es la forma más viable para mitigar los impactos negativos causados principalmente por los plaguicidas. Los bioplaguicidas pueden derivarse de animales (nemátodos), plantas (*Chrysanthemum*), microorganismos (*Bacillus thuringiensis*, *Trichoderma*), sus productos o subproductos (Kumar, 2012).

A nivel mundial, los bioplaguicidas principalmente de insectos benéficos y productos microbianos generaron en el 2015 entre 1700 y 3000 millones de dólares. Los bioplaguicidas se dividen en tres categorías principales: incorporadas en plantas protectoras (PIPs), plaguicidas bioquímicos y microbianos. Los bioplaguicidas microbianos consisten en utilizar hongos y bacterias como ingredientes activos. Estos microorganismos benéficos previenen infecciones de las plantas causadas por el ataque de un organismo patógeno. Se caracterizan por tener una alta especificidad para la plaga objetivo y, por consiguiente, se consideran inofensivos para otras especies. Los microorganismos empleados deben cumplir con características particulares para garantizar su efectividad y estas son: crecimiento rápido, capacidad de reproducción y supervivencia, habilidad competitiva, distintos niveles de dormancia, capacidad de adaptarse a la planta de interés y versatilidad en el medio ambiente (O'Brien, 2017).

En Ecuador, el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAGAP) hizo una convocatoria en 2015 a varios agricultores del país para brindarles alternativas para eliminar o reducir el uso de productos químicos en el sector agrícola. Esta convocatoria se destacó por la presencia de entidades de la Organización de las Naciones para la alimentación y la Agricultura (FAO), que enfatizaron la necesidad de implementar iniciativas para mantener la biodiversidad y la salud. De igual forma, se recalcó la importancia del desarrollo de productos integrales y prácticas productivas favorables a ecosistemas y poblaciones (MAGAP, 2015). Por consiguiente, para el 2017 el gobierno nacional del Ecuador invirtió en la instalación de 13 laboratorios en todo el país, para desarrollar biocontroladores que

reemplacen nematocidas e insecticidas. En estos establecimientos se producen productos como hongos y bacterias del género *Trichoderma* para obtener alimentos de mejor calidad y sin uso de agroquímicos (MAGAP, 2017).

El control biológico ha demostrado favorables resultados en países desarrollados y en vías de desarrollo. En Ecuador, los estudios y la aplicación de esta alternativa comenzaron en 1936 pero no existen informes al respecto. Los estudios para alternativas biológicas en Ecuador se desarrollan al ritmo de las investigaciones en empresas públicas y privadas. Uno de los proyectos más importantes fue en 2019, el cual se denominó “Biocontrol for sustainable Farming Systems”. En este proyecto, se generaron tecnologías de biocontrol y formulaciones de microorganismos para la implementación en los cultivos del país. Las normativas para la regulación de bioproductos se encuentran en proceso de mejoramiento para varios países de Latinoamérica, en Ecuador, Agrocalidad emitió la normativa para el registro de los bioplaguicidas y productos afines en 2019 (Pazos et al., 2016).

2 METODOLOGÍA

2.1 Identificación de los nematicidas en el Ecuador

Para la identificación de los nematicidas vigentes, cancelados, productos comerciales vigentes, ingredientes activos, nemátodos fitoparásitos y los cultivos en los que se emplean, se utilizó la base de datos de los agroquímicos reportados en la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario.

Posteriormente, se realizó una revisión bibliográfica de los principios activos vigentes y cancelados, referente a su uso, riesgos a animales, medio ambiente y seres humanos. Además, se investigó los países en los que están permitidos y en los que están restringidos, destino ambiental, ecotoxicidad y riesgos a la salud humana en base a la información de la página web de la Universidad de Hertfordshire.

Para los cultivos en los que se emplean nematicidas en Ecuador, clasificados en permanentes y no permanentes, se consultó la superficie sembrada, superficie total perdida, y aquella perdida por plagas en el periodo 2014 al 2021, en base a los datos de la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC). Por su parte, las exportaciones de los cultivos del 2014 al 2021 se obtuvo a partir de los datos de la página web del MAGAP. Además, se consultó el ciclo de vida de los nemátodos plagas y sus principales afecciones en las plantas infectadas.

Para seleccionar los cultivos principales, se consideró el ingreso económico al país por las exportaciones.

2.2 Selección de la alternativa biológica

Tras identificar los cultivos más importantes, se realizó una revisión bibliográfica de artículos científicos de las alternativas biológicas existentes y probadas experimentalmente para el control de los nemátodos fitoparásitos que atacan a estos cultivos. Posteriormente, se seleccionó a la mejor alternativa biológica en función de la capacidad de controlar los nemátodos plaga de interés y de resultados satisfactorios en experimentaciones.

2.3 Determinación de las condiciones para la producción de la alternativa biológica y recuperación del material biológico

Se efectuó una revisión bibliográfica de artículos científicos que reporten la producción experimental del agente biológico para identificar los medios de cultivo, condiciones de fermentación y tipos de sustrato. Para la selección del medio para la propagación del microorganismo se consideró la naturaleza del sustrato (residuos agroindustriales), la concentración de esporas y la disponibilidad de esos materiales en el Ecuador. Para la recuperación del material biológico se buscó en la literatura los métodos experimentales descritos.

3 RESULTADOS, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.1 Nematicidas utilizados en el Ecuador

De acuerdo con Agrocalidad (2022), 11 productos químicos están permitidos y registrados hasta febrero del año 2022 para el control de nemátodos en determinados cultivos del Ecuador. En la Tabla 3.1, se reportan los principios activos de los nematicidas vigentes, los cultivos en los que se utilizan, el microorganismo que controla y su clasificación toxicológica.

Tabla 3.1 Principios Activos Vigentes en el Ecuador para el control de nemátodos (Agrocalidad, 2022)

Principio Activo	N° de Productos Comerciales	Cultivos	Organismo	Categoría toxicológica
1.3 Dicloropropeno + Cloropicrina	1	<i>Hypericum</i>	<i>Meloidogyne incognita</i>	Ib Altamente Peligroso
		Rosa		
		Tabaco		
		Tomate Riñón	<i>Nacobbus aberrans</i>	
		Velo de novia	<i>Fusarium oxysporum*</i>	
Cadusafos	2	Banano	<i>Radopholus similis</i>	II Moderadamente Peligroso
Etoprofos	1			Ia Extremadamente Peligroso
Fenamifos	1			III Ligeramente Peligroso
Fluopiram	1			Ia Extremadamente Peligroso
Oxamil	2			
Terbufos	3	Banano	<i>Radopholus similis</i>	Ib Altamente Peligroso
		Palma Africana	<i>Sagalassa valida**</i>	

*hongo, **insecto

Información acerca de los principios activos referente a la fecha de registro, países donde el uso es permitido o restringido, destino ambiental, ecotoxicidad aguda y crónica, y riesgos a la salud humana se presenta en el ANEXO I.

3.1.1 Dicloropropeno + Cloropicrina

El 1,3 Dicloropropeno es un nematocida eficaz para la fumigación de suelos agrícolas antes de plantar nuevos cultivos. Sin embargo, es considerado desde 1999 como un posible carcinógeno en humanos (Hernández et al., 2020). Sus principales riesgos están asociados a su alta volatilidad, que facilita su movimiento, incrementa su eficacia, y puede provocar altas emisiones atmosféricas que ponen en riesgo a los agricultores (Baker et al., 1996).

Actualmente, la Unión Europea (UE) autorizó excepcionalmente su uso en España, Grecia, Italia y Portugal, pese a su preocupación por la posible contaminación de aguas subterráneas con el ácido-3-cloroacrílico y otras impurezas no determinadas. Además, existe la posibilidad que en el futuro este plaguicida sea clasificado como sustancia mutagénica, y en caso de serlo podría prohibirse completamente en todos los países que conforman la UE (Hernández et al., 2020). En EE. UU. el estado de California ha tenido problemas por el smog fotoquímico, que se forma por la reacción entre sustancias químicas orgánicas volátiles con los óxidos de nitrógeno de la atmósfera, siendo los plaguicidas los posibles precursores. En 1990, California prohibió el uso de 1,3 dicloropropeno porque determinaron altas concentraciones de este compuesto en el aire. Sin embargo, en 1995 nuevamente entró en vigor por un periodo de tiempo (Baker et al., 1996).

Por su parte, la cloropicrina es empleada para controlar hongos, enfermedades y nemátodos que se transfieren desde el suelo, fue registrado por primera vez en EE. UU. en 1975 (USA EPA, 2008). Existen riesgos vinculados a las emisiones significativas de cloropicrina en el ambiente después de fumigar los cultivos, ya que este compuesto reactivo promueve la formación de ozono troposférico en presencia de otros compuestos orgánicos reactivos en la atmósfera (Carter et al., 1997). La UE permitió su uso en España, Portugal e Italia, a pesar de denotar a la cloropicrina como una sustancia que provoca un riesgo inaceptable para los agricultores, y que comprometen a los organismos acuáticos, aves y mamíferos. Por su parte, España autorizó el uso combinado de estos principios activos de manera excepcional para cultivos como pimiento, brócoli, lechuga, tomate, alcachofa, melón y plantas ornamentales (Hernández et al., 2020). Actualmente, California es el único estado de EE. UU. en el que está restringido el uso de 1,3 dicloropropeno y cloropicrina (DPR, 2021). En el Ecuador estos dos principios activos están en vigencia, y a partir del 2021 Agrocalidad dispuso su comercialización únicamente con una autorización emitida por un ingeniero agrónomo o agropecuario (Agrocalidad, 2021).

3.1.2 Cadusafos

Los cadusafos son principios activos que utilizan algunos nematicidas para el control de un extenso espectro de nemátodos e insectos de cultivos agrícolas. La OMS ha catalogado a los cadusafos como sustancias con toxicidad aguda alta con un carácter moderadamente volátil (Bravo et al., 2013). Los cadusafos tienen la facultad de fijarse en la materia orgánica, biota y sedimentos. Además, estos compuestos activos poseen la capacidad de bioacumularse en tejidos grasos y su exposición estaría dada mediante la cadena alimenticia (Leyva et al., 2014). En un estudio realizado en vegetales secos en Corea, se detectaron residuos de cadusafos que superaban los valores permitidos, con un índice de peligro (IH) de 8,4 % en *Doellingeria scabra* (Seo et al., 2013).

3.1.3 Etoprofos

En Centroamérica, los etoprofos forman parte de los 12 plaguicidas que ocasionan el mayor número de intoxicaciones agudas y muertes (OPS, 2002). Los etoprofos son agroquímicos que se emplean para una amplia variedad de nemátodos e insectos, poseen una solubilidad en agua de 700 mg/L (MacBean, 2012). En un estudio realizado para conocer el destino de los etoprofos en el medio ambiente, se determinó que la vía principal de transferencia del plaguicida del suelo al agua es por escorrentía y lixiviación; en los análisis efectuados encontraron evidencia de efectos tóxicos en zonas donde no fueron aplicados los agroquímicos y afecciones a la biota terrestre y acuática de las áreas contaminadas (Leitão et al., 2014).

3.1.4 Fenamifos

A lo largo de los años, los fenamifos han sido ampliamente utilizados como plaguicidas para el control de nemátodos en los cultivos agrícolas y en los céspedes en Australia, EE. UU., Ecuador y otros países (Cáceres et al., 2002). Una de las principales preocupaciones del uso de fenamifos es su solubilidad en agua (400 mg/L) y su facultad de absorción en los suelos, por lo que existe el riesgo de exposición en fuentes de agua potable en capas freáticas poco profundas (US Environmental Protection Agency, 2016). Por otro lado, la entidad Fair Trade USA, que certifica y etiqueta productos que permiten la sostenibilidad en el sector agrícola, tiene restringido el uso de fenamifos en los cultivos (Fair Trade USA, 2014).

En EE. UU. desde el 2005 se restringió la aplicación de este plaguicida en suelos poco profundos (menor a 15,24 m) y vulnerables (arenosos y arcillosos). Costa Rica en los años

2007, 2008, 2014 y 2015 estableció decretos para condicionar la venta de productos químicos de las categorías 1A y 1B. Como resultado a partir del 2015 los productos químicos que contienen fenamifos no se comercializan libremente al público, solo se permite la venta si existe respaldo de una autorización emitida por un profesional de CIAgro (Rojas, 2016). En Filipinas en el año 2000, se señaló a este ingrediente activo como el causante de varios casos de intoxicación en los cultivos de banano (Clausing et al., 2021).

Los fenamifos son plaguicidas producidos y exportados por Bayer y BASF, y posteriormente formulados y comercializados por distintas empresas. En Brasil se registran dos nematicidas en base a estos ingredientes activos, NEMACUR y NEMACUR EC (Clausing et al., 2021). En Ecuador, está permitido el uso de NEMACUR en el cultivo de banano (Agrocalidad, 2022).

3.1.5 Fluopiram

El fluopiram es formulado y comercializado por Bayer CropScience LP y forma parte de los agroquímicos de nueva generación. Este tipo de productos posee una licencia en la cual los compradores se comprometen a utilizar las dosis permitidas (Fernandez, 2020). Generalmente, el fluopiram se usa como nematicida y funguicida para el control de enfermedades causadas por nemátodos y hongos en el cultivo de banano. Este plaguicida posee alta adsorción y baja lixiviación en diferentes tipos de suelos (Zhou et al., 2021).

3.1.6 Oxamil

Este producto químico se comercializa en forma granular y líquida. Para Ecuador al igual que EE. UU. está únicamente permitida la forma líquida (Pohanish, 2015). Los principales peligros que conlleva el uso de este plaguicida son disipación en el medio ambiente por lixiviación, degradación biótica e influencias químicas abióticas. Además, este principio activo posee persistencia en los suelos durante semanas e incluso meses, en aguas subterráneas en condiciones anaeróbicas tiene una persistencia de 20 días y en condiciones aeróbicas entre 200 a 400 días, con el riesgo de filtración a aguas subterráneas como ha ocurrido en EE. UU. y Holanda. Por otro lado, el oxamil presenta una toxicidad aguda para peces, aves, insectos, lombrices de tierra entre otros (United States Environmental Protection Agency, 2017).

3.1.7 Terbufos

Este tipo de plaguicida ha sido utilizado como insecticida y nematocida en todo el mundo, no obstante, existen riesgos al emplear esta sustancia durante la pulverización, mezcla y dilución del agroquímico. Los terbufos son muy volátiles, por lo que, el riesgo de los agricultores a la exposición respiratoria del plaguicida es alta (Liang et al., 2017).

Los terbufos poseen alta toxicidad y están restringidos en varios países desarrollados, contrariamente a los países en vías de desarrollo, en los cuales se encuentran vigentes y existen casos de intoxicaciones severas en humanos en zonas rurales. En un análisis que se realizó en el periodo de 1992 al 2016, se obtuvo que, en EE. UU., el uso de terbufos se redujo significativamente en el cultivo de maíz, que en su mayoría son monocultivos (Donley, 2019). En Ecuador, este plaguicida está vigente, pero desde el año 2021 no se comercializa libremente, se requiere una autorización emitida por un profesional para adquirirlo (Agrocalidad, 2021).

3.2 Principios activos cancelados en el Ecuador

3.2.1 Bifentrina

La bifentrina es un tipo de piretroide sintético que se utiliza en la agricultura, veterinaria, e incluso en hogares de Australia para el control de plagas urbanas (termitas) y domésticas. El uso de este principio activo se debe a su foto-estabilidad mejorada, hidro-estabilidad y actividad insecticida. En EE. UU., se ha detectado en un 58 % de muestras, la presencia de bifentrina en arroyos urbanos y agrícolas e inclusive en tejidos corporales de animales y humanos. En un estudio se determinó que la bifentrina se encontraba por encima del límite de detección en un 78,2 % de los sitios de muestreo. En este sentido, el uso de este producto y su detección en el medio ambiente han sido factores de preocupación por su destino ambiental y sus efectos toxicológicos (Yang et al., 2018).

Los piretroides provocan efectos letales a las especies acuáticas en concentraciones ambientalmente relevantes. En numerosos estudios han clasificado a la bifentrina como el principal insecticida que provoca toxicidad acuática en aguas urbanas y agrícolas. En mamíferos y aves la toxicidad de piretroides es baja, pero para peces es aproximadamente 1000 veces mayor (Yang et al., 2018).

3.2.2 Carbofurano

El carbofurano es uno de los plaguicidas que posee un amplio espectro para el control de insectos, nemátodos y artrópodos (Mishra, Zhang et al, 2020). Sin embargo, es un plaguicida altamente tóxico que ha sido restringido a partir de 1969 en EE. UU., puesto que se le atribuyó ser el responsable de muertes de aves, peces y abejas (Keillor, 2008). Asimismo, en el 2009 EE. UU. aprobó la revocación de tolerancias de carbofurano en alimentos tanto nacionales como importados por presentar un riesgo inaceptable para la salud, especialmente la de los niños, y afecciones a la vida silvestre (Donley, 2019). La presencia de carbofurano continua en ríos y canales de agua, provoca daños subletales o crónicos a diferentes organismos acuáticos como los micro crustáceos (Melo et al., 2005). Por otro lado, el carbofurano tiene la facultad de interferir negativamente en propiedades biológicas del suelo tales como diversidad microbiana, respiración, fertilidad, capacidad de mineralización del nitrógeno y fósforo (Mishra et al., 2020).

En el 2013 Ecuador estableció que los plaguicidas que contenían carbofurano al 10 %, habitualmente usado para el control del nemátodo barrenador (*Radopholus similis*) en el cultivo del banano, fueran cancelados por ser nocivos para la salud y el ambiente. El principal problema de este principio activo es su nivel toxicológico, existe riesgo de absorción dérmica con neurotoxicidad crónica (FAO, 2013).

3.3 Cultivos permanentes en los que se utilizan nematicidas

La agricultura permanente comprende diversos cultivos, que no tienen rotaciones periódicas y tras su plantación pueden permanecer en el suelo al menos cinco años. En el 2021, los cultivos permanentes contaron con una superficie estimada de 1500 millones de hectáreas. El banano y la palma africana son dos cultivos permanentes muy importantes en Ecuador porque ocupan grandes superficies de suelo agrícola y generan ingresos económicos al país (ESPAC, 2021).

3.3.1 Banano

A nivel mundial el banano es uno de los frutos tropicales más consumidos por las personas debido a sus beneficios nutricionales (vitamina A, C, B6, zinc, hierro, ácido fólico y fibra dietética). Existen más de 1000 variedades de banano que se diferencian por su color, sabor, forma entre otras características físicas, y que se producen en más de 140 países tropicales y subtropicales (Erazo, Narváez et al, 2020).

El banano es uno de los cinco cultivos con mayor superficie sembrada en el Ecuador (11,20 %). De acuerdo con la Figura 3.1, hay una ligera variación de la superficie sembrada de banano entre los años 2014 al 2021. Durante este periodo la provincia con mayor superficie sembrada fue Los Ríos, para el año 2021 representó el 33,91 % del total de la superficie sembrada (ESPAC, 2021). El cultivo de banano en el 2021 obtuvo un rendimiento del 40,74 t/ha, superando a otros cultivos de interés como el arroz.

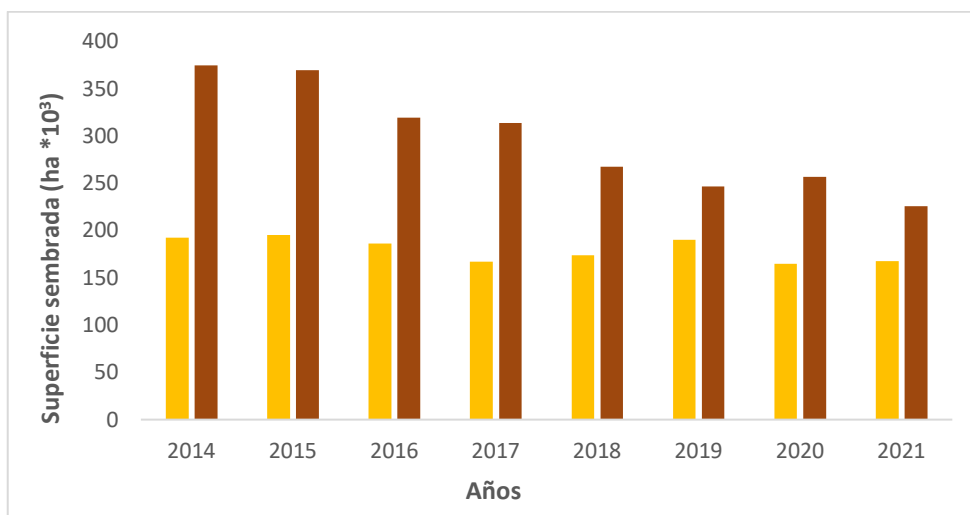


Figura 3.1. Superficie sembrada de banano (■) y palma africana (■) (ESPAC, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021).

La Figura 3.2 presenta el total de hectáreas perdidas y lo correspondiente a la pérdida por plagas. Las superficies de banano perdidas fueron principalmente a causa de sequías, heladas, inundaciones, plagas y enfermedades. Las pérdidas más notables correspondientes a plagas durante el periodo analizado en el gráfico se ubican en los años 2018 y 2020 con un 71,8 % y 45,6 %, respectivamente (ESPAC, 2021).

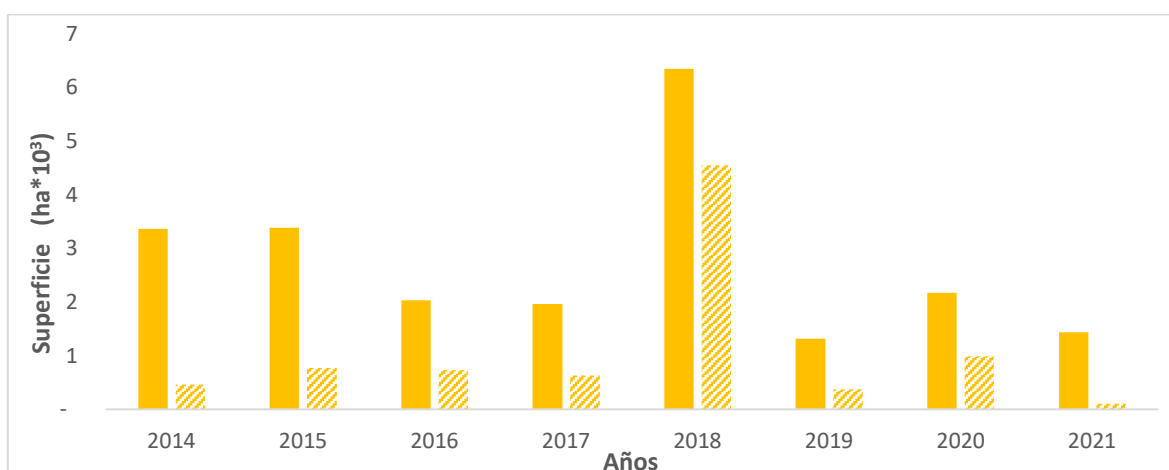


Figura 3.2 Superficie total perdida (■) y superficie perdida por plagas (▨) de banano (ESPAC, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021).

Desde el año 2018 al 2021, el banano fue el cultivo permanente con mayores ventas en el Ecuador. Gran parte de las ventas de banano están dadas por la exportación de esta fruta a nivel mundial. En el 2020, la exportación bananera ecuatoriana representó el 2 % del PIB global y cerca del 35 % del PIB agrícola (Agrocalidad, 2022). Las exportaciones de banano del 2014 al 2022 sumaron un estimado de 24,5 billones de dólares, siendo el 2020 el año donde se alcanzó el valor más alto de exportación con 3,6 billones de dólares, sus principales destinos fueron Rusia, EE. UU., Turquía, China y países de la UE (BCE, 2021).

De acuerdo con la Figura 3.3, las exportaciones de banano tuvieron un crecimiento relevante a partir del año 2016. Una de las causas que benefició el alza de las exportaciones de banano fue la alta demanda de China y Turquía, que a partir de los años 2018 se posicionaron entre los 6 principales destinos de exportación de banano de Ecuador. A su vez, en el 2019, Ecuador tuvo ventaja en la exportación de banano debido a que la oferta de este fruto incrementó porque otros proveedores claves como Costa Rica y República Dominicana se vieron afectados por el fenómeno meteorológico de El Niño (FAO, 2019). Sin embargo, en el año 2021 hubo una caída en las exportaciones de banano como consecuencia de varios factores como costos elevados de insumos (fertilizantes, empaques de materiales), condiciones climáticas adversas, enfermedades de las plantas, aumento en los costos de transporte, controles más exigentes sobre niveles máximos de residuos en el fruto y reducción de la demanda de importación de banano a nivel mundial (AEBE, 2022).

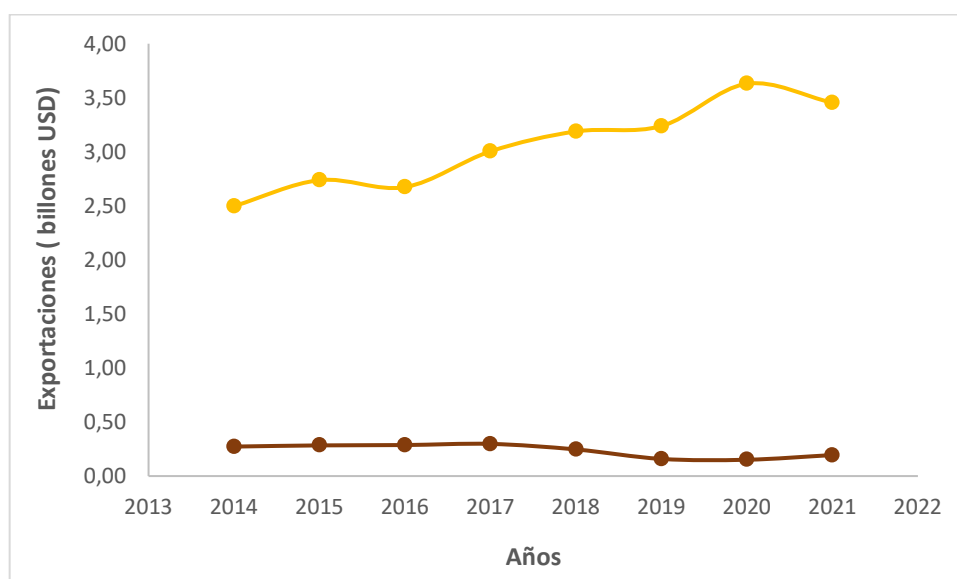


Figura 3.3. Exportaciones de banano (■) y palma africana (■) (MAGAP, 2021).

3.3.2 Palma africana

Del año 1990 al 2005, aproximadamente el 55 % y el 59 % del cultivo de palma africana se desarrolló en los bosques de Malasia e Indonesia, respectivamente. Debido a la gran demanda de aceite de palma, la producción de este cultivo se extendió también en América Latina. Actualmente, la palma africana es un cultivo importante para la economía de países como Colombia, Brasil y Ecuador (USDA, 2022). El principal uso de sus semillas oleaginosas es para la elaboración de diversos productos alimenticios, cosméticos, lubricantes, detergentes, entre otros (Andrade & Palacios, 2019). En Ecuador, existen aproximadamente 2126 palmicultores, de los cuales la mayoría son pequeños productores que poseen una extensión menor a 50 hectáreas y únicamente 7 poseen 1000 hectáreas sembradas de este cultivo (Arellano, 2017).

La palma africana forma parte de los cinco cultivos permanentes con mayor superficie sembrada en el Ecuador (15,05 %). Sin embargo, el área sembrada de palma africana disminuyó gradualmente desde el 2014 al 2021. En el 2021 se redujo en 1.7 veces con respecto al 2014 como se indica en la Figura 3.1. Durante estos años la provincia de Esmeraldas reportó la mayor superficie sembrada a nivel nacional, en el 2021 llegó al 33,81 % (ESPAC, 2021). Una de las posibles causas de la reducción de superficie sembrada de palma africana puede atribuirse a la falta de recursos para mantener este cultivo, dado que la actividad palmera no es considerada rentable para pequeños productores (menor a 20 ha) debido a los altos costos de producción (BCE,2017).

En la Figura 3.4 se muestran las pérdidas totales de la superficie sembrada de palma africana provocadas por problemas climáticos, plagas, enfermedades entre otras causas. En los años 2017 y 2021, la pérdida de superficie de palma africana causada por plagas fue del 43 % y 76 %, respectivamente. La principal razón de la superficie perdida se debió al ataque de *Phytophthora palmivora* (pudrición del cogollo) que redujo los rendimientos de las plantas y por lo tanto la producción (BCE,2021).

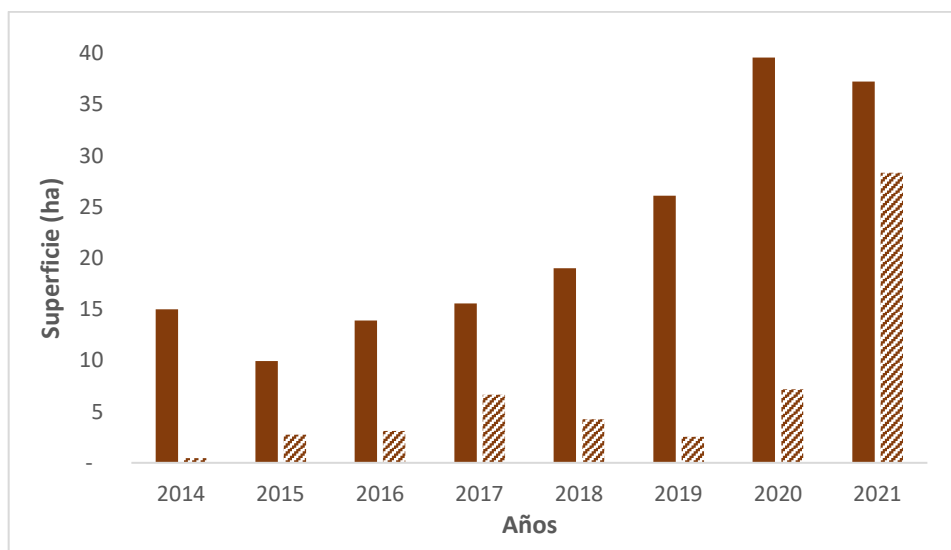


Figura 3.4 Superficie total perdida (■) y superficie perdida por plagas (▨) de palma africana (ESPAC, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021).

Los productos comercializados a partir de la palma africana son aceite en bruto, aceite vegetal, grasas, margarina entre otros que representan ingresos económicos importantes a través de las exportaciones. En el año 2017, Ecuador exportó productos de palma africana que representaron 298 millones de dólares, siendo sus principales destinos Colombia, Venezuela, México y Países Bajos (BCE, 2021). Sin embargo, según la Figura 3.3 las exportaciones de estos productos se han reducido en los últimos 4 años, principalmente en los años 2019 y 2020 donde se obtuvieron ingresos de apenas 159 y 151 millones de dólares, respectivamente. La principal causa de la caída de las exportaciones fue el ataque de la plaga *Phytophthora palmivora* (BCE, 2021).

3.3.3 Flores permanentes

La floricultura se posicionó en el Ecuador en 1982, desde entonces las provincias de Pichincha y Cotopaxi concentran la actividad florícola. La evolución de esta actividad ha sido progresiva a raíz de la implementación de invernaderos y el aprovechamiento de diferentes variedades de flores permanentes, principalmente *Rosa*, *Hypericum* y *Gypsophilia*, y flores transitorias como el girasol, *Delphinium*, etc. Desde los años 90, la industria de las flores se ha consolidado en el mercado nacional e internacional, generando empleo e importantes ingresos económicos al Ecuador (BCE, 2021).

En el año 2021, la superficie sembrada con flores permanentes constituía el 88,94 % y la superficie restante correspondía a flores transitorias. Aproximadamente, el 81 % del total de flores permanentes corresponde a rosas, el 96 % de las cuales se cultivan bajo invernadero (ESPAC, 2021). Tal y como se aprecia en la Figura 3.5, la superficie total de

rosas sembradas (bajo invernadero y a campo abierto) fluctuó en los años 2014 al 2021, especialmente en el año 2020, año en el que hubo una reducción de 1.5 veces con respecto al año anterior. Sin embargo, en 2021 la superficie de rosa se recuperó con una superficie incluso mayor a la del 2019, resultando la más alta del periodo analizado (ESPAC, 2021).

La flor *Gypsophilia* es la segunda flor permanente con mayor superficie sembrada en el Ecuador, el 99 % de su producción es a campo abierto. Sin embargo, durante los años 2018, 2019 y 2020 la flor *Hypericum* superó la superficie sembrada con *Gypsophilia* (Figura 3.5). La superficie de *Hypericum* varía constantemente, en el 2019 fue 6.5 veces más con respecto a la del 2014; en el 2021 disminuyó abruptamente en un 79 % respecto al año anterior (BCE, 2021).

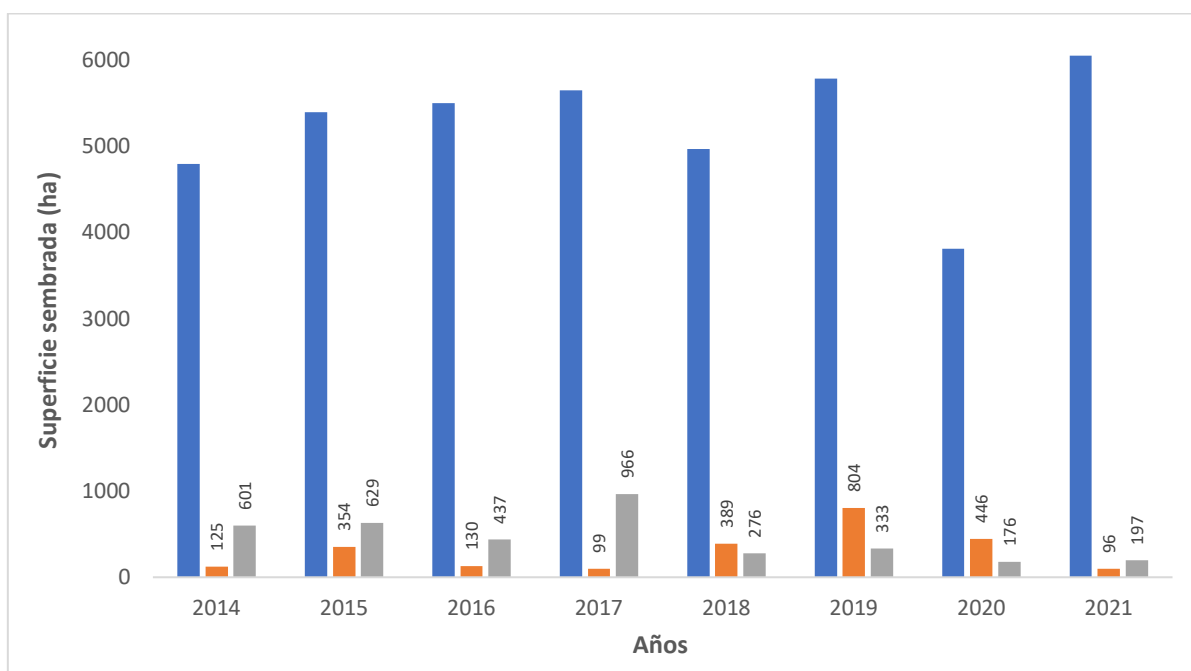


Figura 3.5. Superficie sembrada de Rosa (■), Hypericum (■) y Gypsophilia (■) (ESPAC, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021).

Ecuador es el tercer exportador más importante de flores en el mundo. Las flores son comercializadas en diferentes presentaciones como ful tabaco, tabaco, bonche y bouquet. Actualmente, el 71 % de exportaciones de flores corresponden a rosas, que se destacan por sus ventas en los meses de febrero y mayo. Entre el 2017 y 2020, las rosas se exportaron en su mayoría en bonche. Del 2018 al 2021 las flores *Hypericum* se vendieron principalmente como tabaco, bouquet y bonche; y las flores *Gypsophilia* en bonche (ESPAC, 2021).

En el 2021 Ecuador obtuvo 927 millones de dólares en exportaciones de flores, cuyos principales destinos fueron EE. UU., Rusia y la UE (BCE, 2021). Colombia representa una

importante competencia en las exportaciones hacia EE. UU., que es el mayor importador de flores del mundo. Durante los últimos años Kenia y Etiopía han presentado un constante crecimiento en la producción de flores, exportan principalmente a países asiáticos y europeos debido a su cercanía geográfica y sus bajos costos de producción (EXPOFLORES, 2020).

En la gráfica 3.6 se observa que las exportaciones de flores tuvieron fluctuaciones durante los años 2014 al 2021; en el 2015 y 2016 las exportaciones descendieron a 820 y 802 millones de dólares, respectivamente. Del 2017 hasta el 2019 Ecuador tuvo un crecimiento en sus exportaciones a pesar de que, en el 2019, el segundo comprador más importante (Rusia) redujo sus importaciones totales en un 15,1 % respecto al 2018 (EXPOFLORES, 2019).

En el año 2020, las exportaciones de flores disminuyeron, a pesar de que a finales de ese año el gobierno logró la inclusión de las rosas ecuatorianas en el sistema generalizado de preferencias (SGP), lo que permitió que desde el 1 de noviembre del 2020 ingresaran a EE. UU. sin aranceles (MPCEIP, 2020). Para el año 2021, las exportaciones de flores aumentaron aproximadamente 100 millones de dólares con respecto al año anterior (BCE, 2021).

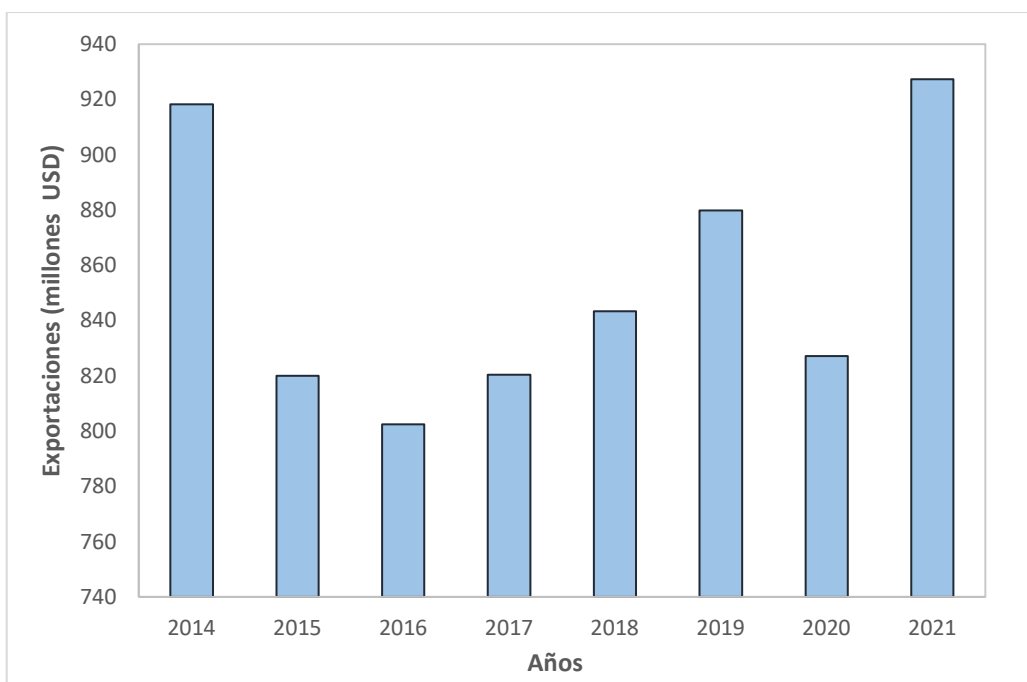


Figura 3.6 Exportaciones de flores permanentes (Gypsophilia, Hypericum y Rosa) (MAGAP, 2021).

3.4 Cultivos transitorios en los que se utilizan nematicidas

3.4.1 Tomate riñón

Uno de los cultivos hortícolas más destacados por generar importantes ingresos económicos es el tomate riñón. El principal productor y exportador de esta hortaliza es China, que cuenta con más de un millón de hectáreas de este cultivo y en el 2019 produjo 63 millones de toneladas (Shiming. Shijie et al, 2021). En la Figura 3.7, se observa que en Ecuador del 2014 al 2021, la superficie de tomate riñón disminuyó, exceptuando el año 2020 donde se alcanzó 2653 ha. En el año 2019, la superficie decreció un 49 % con respecto al año 2014 y el rendimiento fue de 27,73 t/ha (ESPAC, 2021).

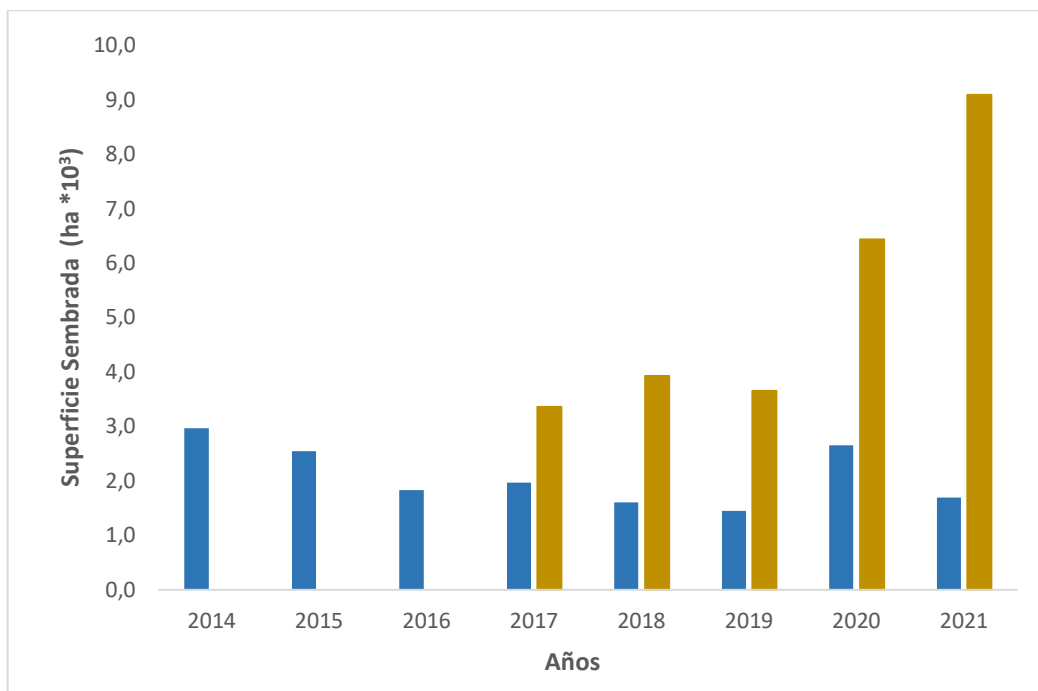


Figura 3.7. Superficie sembrada de tomate riñón (■) y tabaco (■) (ESPAC, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021).

En la gráfica 3.8 se muestra la superficie total perdida de tomate riñón ocasionada por problemas climáticos, plagas, enfermedades entre otras razones y la superficie perdida específicamente por plagas. En los años 2015, 2018, 2020 y 2021 se perdió la mayor superficie del cultivo por el ataque de plagas, representando el 71 %, 64 %, 70 % y 92 %, respectivamente (ESPAC, 2021).

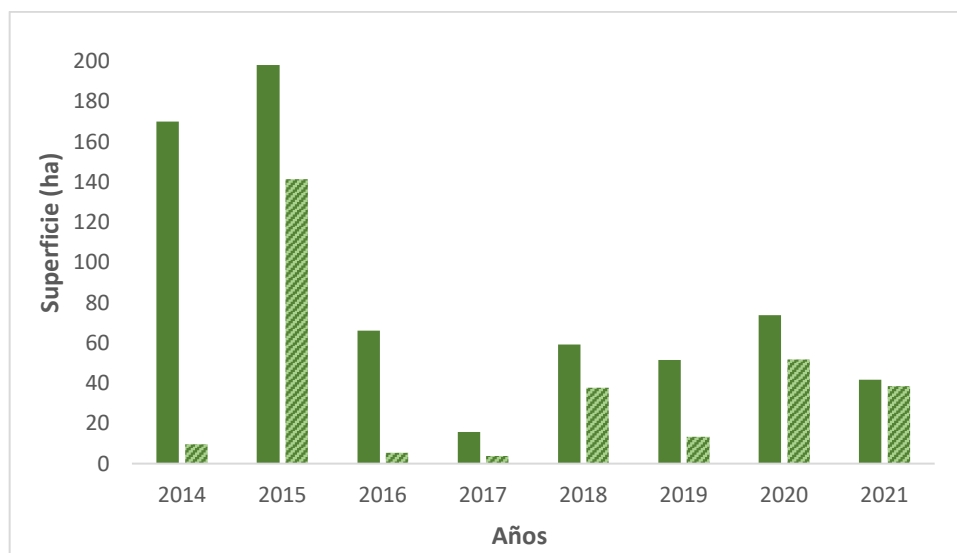


Figura 3.8. Superficie total perdida (■) y superficie perdida por plagas (▨) de tomate riñón (ESPAC, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021).

Las exportaciones de tomate riñón en el 2014 fueron de apenas 101420 dólares. Mientras que en los años (2015, 2016, 2019, 2020) el tomate riñón se dejó de exportar y únicamente se exportaron productos derivados como salsas, pastas y tomate en conserva.

3.4.2 Tabaco

El tabaco es considerado el cultivo no alimentario más valioso del mundo, generalmente se usa para producir cigarrillos, puros y otros derivados que se emplean en la industria tabacalera. Actualmente, los problemas de salud ocasionados por el consumo de cigarrillo han provocado que exista una disminución del uso de este cultivo. Sin embargo, el tabaco también puede ser aprovechado para otros fines industriales como la producción de bioetanol, producción de vacunas y otros productos farmacéuticos (Lambardi, 2016). Según la Figura 3.7, la superficie sembrada de tabaco en el 2021 (9085 ha) fue 2,7 veces mayor a la del 2017. (ESPAC, 2021).

3.5 Nemátodos fitoparásitos que atacan a los cultivos en el Ecuador

Desde una perspectiva general, los nemátodos son de los organismos más diversos de la tierra y son generalmente de tamaño microscópico, se catalogan como gusanos no segmentados del filo Nematoda, la mayoría tienen cuerpos delgados, cilíndricos y no segmentados que se estrechan en dirección a la cabeza y cola. Cuando las hembras de ciertas especies de nemátodos parasitan a las plantas, adquieren formas de riñón, pera o limón. Los nemátodos parásitos de plantas o fitoparásitos se caracterizan por obtener nutrientes de sus huéspedes a través de una estructura similar a una aguja denominada

estilete, con la cual perforan las células y obtienen alimento, esto provoca importantes daños que puede llevar a la destrucción total del material vegetal (Senthilkumar et al., 2020). El ataque de los nemátodos a distintos cultivos constituye una de las mayores amenazas para la agricultura en el mundo. Las infecciones por nemátodos parásitos en las plantas son las causantes de pérdidas agrícolas mundiales, que se estiman en 157000 millones de dólares anuales (Abad et al., 2008).

Numerosos nemátodos viven en el suelo, se alimentan de las raíces de las plantas que han sido infectadas y la duración del ciclo de vida está vinculada a la temperatura y humedad del medio (CropLife, 2016).

El ciclo biológico de los nemátodos comienza con un huevo, en cuyo interior se desarrolla el juvenil de primer estadio. La primera muda o cambio de cutícula ocurre en el interior del huevo y el segundo estadio (juvenil), llamado estadio infectivo, se distingue porque el juvenil emerge en busca de una raíz en la zona apical no diferenciada de alguna planta. Una vez en el interior de la raíz, se desplaza intercelularmente hasta fijar un sitio de alimentación en las proximidades del cilindro vascular. Luego de sucesivas mudas se desarrolla la hembra, la cual puede ovopositar cientos de huevos, mientras que los machos abandonan la raíz (CropLife, 2016).

3.5.1 *Meloidogyne incognita*

Los nemátodos del género *Meloidogyne* se distribuyen por todo el mundo y parasitan prácticamente a todas las plantas superiores, provocan elevadas pérdidas económicas en cultivos agrícolas. Los nemátodos pertenecientes a este género tienen la facultad de producir cambios fisiológicos en el sistema radicular de las plantas, el principal síntoma que poseen las plantas infectadas es la formación de agallas en las raíces, mismas que alteran la absorción de agua y nutrientes e influyen en la translocación de minerales y fotosintatos. Como resultado de las afecciones a nivel radicular, la planta presenta enanismo (Williamson & Hussey, 1996).

De acuerdo a las investigaciones de Moens (2009) y como se indica en la Figura 3.9, el ciclo de vida de estas plagas inicia cuando las hembras de los nemátodos agalladores ponen huevos en masas gelatinosas. Estas masas están compuestas por una matriz de glicoproteína que es producida por las glándulas rectales de la hembra, es la responsable de mantener a los huevos juntos, protegiéndolos del ambiente y de la depredación, y además tiene propiedades antimicrobianas (Sharon & Spiegel, 1993). A medida que el nemátodo se desarrolla en el huevo, muda para pasar del primer estadio a un juvenil de

segundo estadio (J2), el cual posteriormente sale del huevo. El J2 es la única etapa infecciosa, normalmente se localiza cerca de la punta de la raíz, y se alimenta una vez la haya invadido. Durante el proceso de alimentación, el nemátodo normalmente libera enzimas y hormonas que modifican la fisiología de la raíz, y se forman células vegetales de gran tamaño alrededor de la cabeza del nemátodo para facilitar su alimentación. Seguidamente, el nemátodo crece hasta alcanzar una forma cilíndrica y alargada, y muda nuevamente al juvenil de tercer estadio (J3) luego de 14 días. Posteriormente, el nemátodo continúa su desarrollo y pasa al estadio adulto en un tiempo de 3 a 4 días. Los nemátodos en los estados J3 y J4 no poseen estilete, por lo que no se alimentan de las raíces de las plantas. Las hembras no se mueven del sitio y se convierten en sedentarias, mientras que los machos salen de la raíz para moverse libremente en el suelo (Moens et al., 2009).

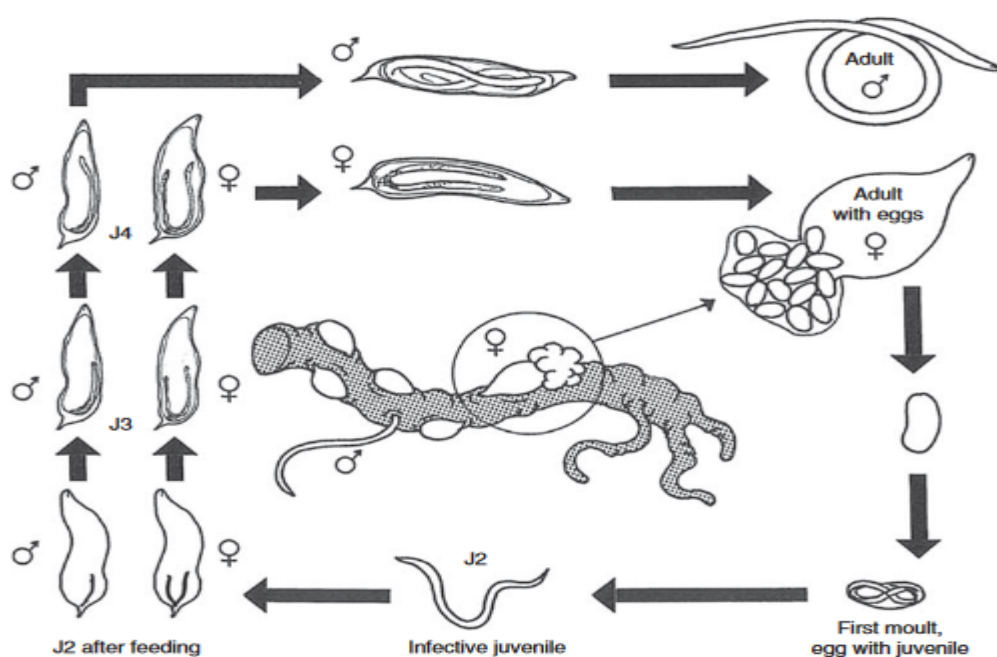


Figura 3.9. Diagrama del ciclo de vida de *Meloidogyne J2*: segundo estadio juvenil, J3: tercer estadio juvenil, J4: cuarto estadio juvenil (Moens et al., 2009)

La especie *Meloidogyne incognita* es una de las especies más importantes de este género, se localiza en climas tropicales y subtropicales, es probablemente, el parásito de cultivos agrícolas más perjudicial del mundo. Dicho fitonemátodo posee un extenso rango de hospedadores y provoca daños principalmente en cultivos de tomate, papa, algodón y pimiento. En un estudio con 207 cultivos (mayoritariamente tomate) en Ecuador, *M. incognita* causó pérdidas superiores al 20 % (Trudgill et al., 2000). Las plantas infestadas por *M. incognita* experimentaron un retraso en el crecimiento, clorosis, bordes y ápices foliares secos, lo que provocó una reducción de macollamiento, agrietamiento y pudrición de las raíces (Nair, 2013).

Durante el siglo XX el control químico ha sido el más utilizado para mitigar esta plaga en producciones intensivas. Actualmente, en Ecuador está permitido el 1.3 dicloropropeno + cloropicrina para el control químico de *M. incognita* (Agrocalidad, 2022). No obstante, en base a los riesgos ambientales y de la salud humana, se ha evidenciado la reducción de este control tradicional. Los agricultores han optado por prácticas culturales como rotación de cultivos anuales para evitar la tendencia de monocultivos que se caracterizan por ser susceptibles al ataque de plagas y enfermedades (Nyczepir, 2009).

3.5.2 *Nacobbus aberrans*

El género *Nacobbus* es originario del continente americano y está constituido por endoparásitos sedentarios que provocan la formación de agallas en las raíces hospedantes. *Nacobbus aberrans* también conocido como el falso nemátodo del nudo de la raíz posee una extensa gama de hospedantes, tiene una alta capacidad de reproducción, alteración metabólica y estructural, lo que provoca una respuesta tardía y lenta de los mecanismos de defensa de la planta (Martínez et al., 2021) y el ciclo de vida de *N. aberrans* consta de los siguientes estadios: huevos, cuatro estadios juveniles y adulto (macho y hembra). Los juveniles de primer estadio se desarrollan dentro de los huevos que se depositan en una matriz gelatinosa que emerge de la superficie de la raíz del suelo. Luego, los juveniles de segundo estadio salen de los huevos y, al igual que los juveniles de tercer y cuarto estadio se movilizan por el suelo y son capaces de invadir, abandonar las raíces de los hospedantes (plantas), lo que provoca lesiones que llevan a la necrosis y alteraciones en la corteza de la raíz (Inserra et al., 1983). Las estrategias de manejo y métodos de control que se han implementado son la rotación de cultivos, utilización de variedades tolerantes y resistentes, deshierbe, limpieza de maquinaria agrícola, quema de rastrojos, control químico y biológico (Jones et al., 2013). Respecto al control de este nemátodo, actualmente Agrocalidad permite el uso de 1.3 dicloropropeno + cloropicrina como principios activos de los nematicidas químicos (Agrocalidad, 2022).

3.5.3 *Radopholus similis*

Después del primer registro de *Radopholus similis* en Nueva Gales del Sur, este nemátodo se ha extendido ampliamente por las regiones tropicales y subtropicales de Sudamérica en las que se siembra banano. *R. similis* es un nemátodo parásito que se localiza en el tejido radicular y cormos de los cultivos infectados, tiene la facultad de perforar la pared celular y situarse cerca de la cofia de raíces donde se alimenta del citoplasma. Generalmente, este

tipo de nemátodo vive en el parénquima cortical donde produce graves lesiones (5 cm o más grandes) que van desde tonalidades amarillas claras hasta oscuras (Voicy, 2011).

Todos los estadios que componen el ciclo de vida de *R. similis* se dan en el interior de las raíces, especialmente en la corteza. A medida que el nemátodo penetra las células de la epidermis de la raíz, se alimenta y se reproduce. Los estadios de segunda fase (J2) de *R. similis* son infecciosos y se alimentan de las raíces, contrariamente a los machos, que no penetran ni dañan las raíces de las plantas (Haegeman et al., 2010). Cuando existen altas infestaciones, las raíces de los cultivos son destruidas, además, el nemátodo reduce la absorción de agua y nutrientes de las raíces y provoca que las hojas de las plantas infectadas sean amarillas y pequeñas. Desde 1960, el control tradicional para *R. similis* es el empleo de nematicidas como dicloropropeno, dibromocloropropano, organofosforados (terbufos, fenamifos, etoprofos, isazofos) o carbamatos (oxamil, aldicarb, carbofurano) (Voicy, 2011; Guzmán, 2011). En Ecuador la mayor parte de principios activos (cadufasos, etoprofos, fenamifos, fluopiram, oxamil y terbufos), se utilizan en varias formulaciones de nematicidas para combatir a *R. similis* (Agrocalidad, 2022).

En la actualidad, los nemátodos fitoparásitos como *M. incognita*, *R. similis* y *N. aberrans* son controlados en su mayoría mediante nematicidas químicos. Sin embargo, durante los últimos años hongos y bacterias hematófagos, enemigos naturales de los nemátodos, se han propuesto como agentes biológicos para controlar esta plaga debido a su capacidad única de infectar y matar a los nemátodos. Estas estrategias han captado cada vez más atención porque el método clásico que consiste en emplear nematicidas químicos aumenta la preocupación por el bienestar medioambiental. Además, existe una mayor evidencia de resistencia a los plaguicidas por parte de los nemátodos, lo que conlleva a una reducción de la eficacia de los agroquímicos, contrariamente al control biológico que posee menos probabilidades de provocar el desarrollo de resistencias gracias al amplio y complejo modo de acción de los biocontroladores de origen microbiano. El control biológico fúngico de los nemátodos fitoparásitos es un área de investigación, cuyo propósito es sustituir a los plaguicidas químicos por hongos con propiedades nematicidas que podrían convertirse en un componente clave en el MIP (Kerry, 2000).

3.6 Alternativas Biológicas para el control de nemátodos

Desde 2008 al 2014 en 5 provincias del Ecuador (Los Ríos, Cañar, El Oro, Santa Domingo y Guayas) se determinó que el nemátodo con mayor densidad poblacional en raíces de banano fue *R. similis*. Actualmente, este nemátodo se puede controlar con 10 plaguicidas comerciales a base de 7 principios activos (cadusafos, etoprofos, fenamifos, fluopiram,

oxamil y terbufos); de los cuales dos son extremadamente peligrosos (fenamifos y oxamil). Por tal motivo, surge la necesidad de implementar bioplaguicidas para contrarrestar los efectos provocados por agroquímicos. Actualmente, en el país está permitido el uso de Ditera de 95 g (*Myrothecium verrucaria*) y Biostat (*Paecilomyces lilacinus* 95 %) que son comercializados por Valent Biosciences (EE. UU.) (Agrocalidad, 2022).

Por otro lado, el nemátodo *M. incognita* provoca altas pérdidas de cultivos, genera agallas en las raíces, lo que altera las funciones indispensables en las plantas. Actualmente, se utiliza un producto comercial a base de dos principios activos (1.3 dicloropropeno y cloropicrina) altamente peligrosos para controlar *M. incognita* en el cultivo de rosa. En Ecuador aún no existe productos vigentes de origen biológico registrado en Agrocalidad para combatir este nemátodo (Agrocalidad, 2022).

Los cultivos de banano y rosa son relevantes en la economía del Ecuador porque generan elevados ingresos económicos a través de las exportaciones. En el año 2021 se obtuvo 3,45 billones de dólares en banano y 927 millones de dólares en flores principalmente rosas. Además, el sector bananero y florícola generan fuentes de empleo y reducen la pobreza principalmente en las áreas rurales. Sin embargo, los países importadores limitan la compra de cultivos agrícolas tratados con agroquímicos para evitar afecciones a la salud de los seres humanos, animales y ambiente. Por tal razón, es indispensable implementar bioplaguicidas en el Ecuador para controlar los nemátodos fitoparásitos *R. similis* y *M. incognita*.

Hasta la fecha, se conoce una amplia variedad de organismos que actúan como agentes para el control biológico contra nemátodos fitoparásitos, como patógenos microbianos, antagonistas y endófitos, los cuales regulan las poblaciones de nemátodos plagas y/o disminuyen los daños ocasionados por estos (Moens et al., 2009). En la Tabla 3.2, se reporta las alternativas biológicas existentes para combatir a los nemátodos fitoparásitos *R. similis* y *M. incognita*

Tabla 3.2. Alternativas biológicas para el control de *R. similis* (RS) y *M. incognita* (MI)

Nemátodo fitoparásito	Agente biológico	Mecanismo de acción	Cultivo	Resultados	Referencias
<i>R. similis</i>	Bacteria entomopatógena: <i>Bacillus thuringiensis</i> (cepa LBT3)	Toxinas (d-endotoxinas)	Banano	Reducción de la plaga en un 87 % (2 meses después del tratamiento en 165 ha)	(Fernández et al., 2005)
	Hongo nematófago: <i>Paecilomyces lilacinus</i> cepa 251	Enzimas extracelulares (quitinasa y proteasa)		Inmovilización y malformaciones en J2	
	Micorrizas simbióticas: <i>Glomus</i> (<i>G. intraradices</i> , <i>G. manihotis</i> y <i>G. mosseae</i>)	Competencia, repelencia		Reduce daños causados por nemátodos plagas	
	Hongo nematófago: <i>Paecilomyces lilacinus</i> cepa 251	Enzimas extracelulares (quitinasa y proteasa)		Inmovilización y malformaciones en J2	
<i>R. similis</i>	Hongo endófito-saprófito: <i>Fusarium oxysporum</i> (cepa no patógena)	Enzimas, Competencia	Banano	Reducción de población de nemátodos en un 72 %	(Pocasangre et al., 2004)
	Hongo endófito- saprófito: <i>Trichoderma atroviride</i>	Enzimas, competencia		Reducción de la población de nemátodos entre 17 % y 35 %	

Nemátodo fitoparásito	Agente biológico	Mecanismo de acción	Cultivo	Resultados	Referencias
<i>M.incognita</i>	Hongo nematófago: <i>Paecilomyces lilacinus</i> cepa 251	Enzimas extracelulares (quitinasa y proteasa)	Banano	Afección en la eclosión de huevos	(Fernández et al., 2005)
	Bacteria entomopatógena: <i>Bacillus thuringiensis</i> (LBT 24, LBT 25)	Toxinas	Hortalizas (tomate)	Ralentiza la infestación de J2	(Márquez et al., 2004)
	Bacteria: <i>Corynebacterium paurometabolum</i> (cepa C-294)	Enzimas (quitinasa)	Banano	Inhibición de la eclosión de huevos en un 98 %	(Fernández et al., 2005)
	Hongo antagonico: <i>Aspergillus niger</i> cepa F22	Ácidos orgánicos (oxálico)	Tomate	Reducción de J2 e inhibición de la eclosión de huevos	(Jang et al., 2016)
	Rizo-bacterias antagonicas: <i>Bacillus subtilis</i>	Antibióticos, enzimas y toxinas	Frijol caupí(<i>Vigna unguiculata</i>)	Reducción de la población de nemátodos (82 %) y mejora de rendimiento en los cultivos	(Khair et al., 2019)
	Rizo-bacterias antagonicas: <i>Bacillus pumilis</i>	Antibióticos, enzimas y toxinas		Reducción de la población de nemátodos (81,8 %) y mejora de rendimiento en los cultivos	
Bacteria de la rizosfera: <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Toxinas	Disminución de nemátodos J2 (69,8 y 62, 3 %) y mejora el rendimiento de los cultivos			

De acuerdo con los estudios experimentales realizados por Fernández et al. (2005) en cultivos de banano en Cuba, *B. thuringiensis* LBT.3 posee una actividad nematicida sobre RS, bajo condiciones de campo, redujo el 87 % de la población del nemátodo plaga. *C. paurometabolum* evitó la eclosión de los huevos de MI y redujo el 85 % de la población de RS. Además, micorrizas del género *Glomus*, disminuyeron el número de RS, MI y los daños ocasionados a las plantas.

En condiciones in vitro en banano orgánico en Costa Rica, cepas de *Fusarium* y *Trichoderma* disminuyeron la población de nemátodos de RS en 17 % y 72 %, respectivamente. Adicionalmente, las plantas tratadas tenían mayor número de raíces y hojas, y un mejor peso en raíces y pseudotallo (Pocasangre et al., 2004).

En cultivos de tomate en Corea, *Aspergillus niger* disminuyó la población de J2 y la eclosión de huevos de MI (Jang et al., 2016). Según Khair et al. (2019) los microorganismos como *B. pumilis*, *B. subtilis* y *P. fluorescens* pueden utilizarse para controlar MI, porque reducen el número de nemátodos e influyen en el crecimiento de las plantas tratadas. Del mismo modo, Márquez et al. (2004) en un trabajo experimental determinó que las cepas LBT 24 y LBT 25 de *B. thuringiensis* reducen el agallamiento provocados por MI en un 48 % y 66 % con 2100 y 1050 J2 , respectivamente en el cultivo de tomate.

P. lilacinus es uno de los hongos más estudiados para el control de nemátodos fitopatógenos, dada su capacidad de parasitar a esta plaga en su etapa de huevo, juvenil (J2) y hembras. Este agente microbiano ha sido uno de los más probados para su aplicación comercial como bionematicida, actualmente hay una gran variedad de productos en base a *P. lilacinus* como PL 251, BIOCON, PAECILO, Melocon, Paecilon, PL Gold entre otros (Elgawad & Askary, 2018). En este sentido, existen trabajos experimentales en los cuales se ha comprobado su efectividad. Según Fernández et al. (2005), en su estudio realizado en Cuba, el hongo *P. lilacinus* fue un excelente agente de biocontrol de RS y MI en los cultivos de banano y plátano, debido a que las plagas no aumentaron significativamente en el periodo de un año y los rendimientos de los cultivos incrementaron en un 25 %, bajo condiciones in vitro. Mientras que, en condiciones de producción en plantaciones con bajas poblaciones iniciales de nemátodos, los tratamientos con *P. lilacinus* redujeron notablemente las poblaciones de *R. similis* y *M. incognita* entre el 75 - 85 %, en un periodo de quince meses y fue utilizado a escala comercial. Según Mendoza et al. (2007) en condiciones in vitro, en plántulas de banano tratadas con *P. lilacinus*, se logró un control efectivo de *R. similis* con reducciones de un 21 % y 86 % en 10 y 18 días, respectivamente.

3.6.1 Género *Paecilomyces*

Los hongos del género *Paecilomyces* son muy frecuentes en el suelo y compost, a menudo están asociados con la descomposición de productos alimentarios. A lo largo de los años las especies de *Paecilomyces* han demostrado un gran potencial de aplicación en la industria agrícola (Li et al., 2020). Por tal motivo, los estudios taxonómicos referentes al género *Paecilomyces* han evolucionado permanentemente por su carácter polifilético, el cual es importante para las formulaciones microbianas que se utilizan en la agricultura (Oborník et al., 2001). Además, el género *Paecilomyces* posee altas tasas de esporulación que posibilitan el crecimiento en un amplio rango de temperaturas y sustratos y, como resultado de la rápida multiplicación, se garantiza un desarrollo viable y asequible de formulaciones comerciales (Moreno et al., 2020). Numerosas especies de *Paecilomyces* han demostrado ser agentes de control biológico muy prometedores, entre sus principales agentes de biocontrol están *P. carneus*, *P. farinosus*, *P. fumosoroseus* y *P. lilacinus*. El hongo *P. lilacinus* es una de las especies de control biológico más estudiadas para los nemátodos parásitos de las plantas como los nemátodos del nudo de la raíz y del quiste. Además, permite la protección de los sistemas radiculares de las plantas y mejora así la productividad de los cultivos (Atkins et al., 2005).

La mayoría de los ciclos de vida de un nemátodo comprende un huevo, cuatro estadios juveniles (J1 al J4) y un adulto. Existen dos tipos de estadios de desarrollo que cumplen los nemátodos fitoparásitos, en el interior del hospedador y las etapas de desarrollo de vida libre con las que contaminan al medio. El huevo del nemátodo es una etapa de gran importancia desde el punto de vista del desarrollo del parásito y como una de las fases claves para implementar técnicas de control (Mcsorley, 2003). La cáscara del huevo de los nemátodos está constituida por tres capas: capa externa de vitelina, quitina y la capa interna de lipoproteínas (Figura 3.10); es la principal barrera ante los agentes parasitarios y proporciona resistencia tanto a los nematicidas químicos como a los compuestos biológicos (Morton et al., 2004). Las especies de *Paecilomyces* pueden secretar enzimas para degradar esta barrera y activar mecanismos implicados en el parasitismo de nemátodos. La producción de enzimas líticas causa un efecto nematicida, que en este género son: la síntesis de amilasas, lipasas, proteasas y quitinasas. Las investigaciones señalan que varias proteínas hidrolíticas como proteasas (principalmente serina), colagenasas y quitinasas participan en la penetración de la cutícula de los nemátodos y en su posterior degradación celular (Huang et al., 2004). Una forma de incrementar la patogenicidad de los hongos es mediante la sobreexpresión de genes que regulan la síntesis de estas enzimas que incrementan la virulencia y la facultad parasitaria como se

ha evidenciado en *P. lilacinus* frente a *M. incognita* y otros nemátodos. Además, existen diferentes metabolitos secundarios producidos por *Paecilomyces* que cumplen un papel importante en el control de nemátodos (Moreno et al., 2020).

3.6.2 Mecanismo de acción *Paecilomyces lilacinus* cepa 251

El principal mecanismo de acción de *P. lilacinus* contra los nemátodos fitoparásitos es por infección directa en las etapas sedentarias que se dan durante el desarrollo del nemátodo, en especial en la etapa del huevo (Kiewnick, 2010). El mecanismo de *P. lilacinus* se desarrolla luego del reconocimiento e interacción patógeno - antagonista con la secreción de complejos enzimáticos quitinolíticos. La cepa 251 de *P. lilacinus* produce enzimas proteasas y quitinasas (Khan et al., 2003).

La enzima proteasa (psP-3) cuenta con una actividad nematocida, causan la degradación de la cáscara del huevo del nemátodo e impide su eclosión (Senthilkumar et al., 2020). Por su parte, la quitinasa rompe la cáscara del huevo, facilita el acceso del hongo en los huevos de los nemátodos, durante la descomposición de la quitina se libera amoníaco, lo que resulta tóxico para los juveniles de segunda fase de los nemátodos de la raíz (RKN) (Mittal et al., 1995). Las hifas producidas a partir de las esporas de los hongos ingresan en la vulva y el ano de las hembras de los nemátodos de la raíz. El hongo penetra en el huevo y se desarrolla ampliamente dentro y sobre el mismo, dificultando completamente el desarrollo del juvenil. Previo a la infección del huevo del nemátodo, *P. lilacinus* se aplana contra la superficie del huevo y se acopla a ésta para luego producir apresorios simples en la cáscara del nemátodo ya sea después del crecimiento de hifas a lo largo de la superficie del huevo, o después de que se produzca una red de hifas en este. La presencia de apresorios indica que el huevo está o será infectado. De cualquier manera, el apresorio presenta una simple hinchazón en el extremo de una hifa, íntimamente adherida a la cáscara del huevo, éste cuando es infectado se hincha y se dobla mientras que la penetración continúa, la capa vitelina del huevo se separa en tres bandas y en un gran número de vacuolas; la capa lipídica desaparece en esta fase. El juvenil en desarrollo dentro del huevo es eliminado por las hifas de rápido crecimiento, se generan muchos conidióforos y la hifa se desplaza hacia los huevos adyacentes. Existen resultados satisfactorios en el ataque de *P. lilacinus*, especialmente en los huevos de *M. incognita* en las primeras etapas de desarrollo, en tanto los huevos juveniles completamente desarrollados también son afectados porque muestran diversos grados de deformidades y alteraciones en el desarrollo como la movilidad reducida dentro de los huevos (Senthilkumar et al., 2020).

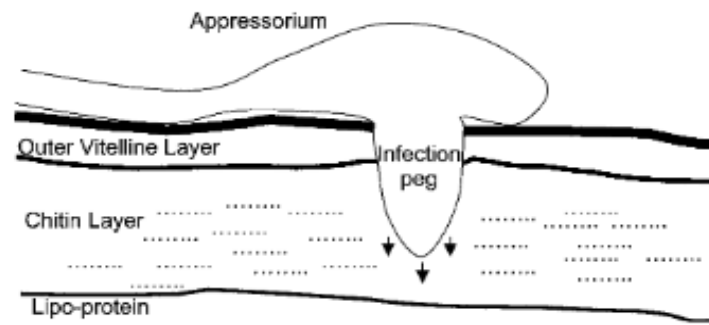


Figura 3.10. Diagrama de un apresorio penetrando la cáscara de un huevo de nemátodo. Las flechas señalan la dirección de crecimiento de la clavija de infección e indican la secreción de enzimas extracelulares (Morton et al., 2004)

3.6.3 Producción de *P. lilacinus*

Los hongos se distinguen del resto de microorganismos por su alto potencial para el control biológico. Sin embargo, el control biológico fúngico frecuentemente depende del factor económico para su ejecución, los hongos deben generar altas concentraciones de esporas virulentas, viables y persistentes. Las esporas fúngicas se caracterizan por ser más estables en comparación con las células bacterianas. La composición nutricional del medio es un factor clave para que las esporas posean eficacia en el biocontrol, tolerancia a tratamientos como secado y persistencia en el ambiente, requisitos indispensables para su uso comercial (Jackson, 1997).

Los hongos poseen un ciclo de vida que consta de etapas como latencia de la espora, germinación, desarrollo del micelio y conidiogénesis. Uno de los principales criterios para seleccionar un hongo para el biocontrol es la concentración de esporas (Trindade et al., 2012). La producción de biomasa fúngica puede efectuarse en fermentaciones en sustratos sólidos o sumergidos. Las esporas cultivadas en sustratos sólidos son de tamaño más uniforme, poseen mayor tolerancia a la radiación UV del medio ambiente, lo que sugiere una mayor viabilidad en el almacenamiento y secado, por ser más tolerantes a procesos de liofilización y a las condiciones del medio ambiente (Holland et al., 2002).

Para la fermentación sólida se pueden utilizar soportes nutricionalmente inertes (vermiculita, perlas de poliestireno, espuma de poliuretano) o sustratos naturales como los residuos agrícolas que entre otras ventajas suelen ser de bajo costo (Brand et al., 2010).

En varios países del mundo como Brasil y Panamá, se generan grandes volúmenes de residuos agrícolas, que pueden ser aprovechados por su alto potencial biotecnológico para la producción de esporas de hongos. Diferentes subproductos se han empleado en

estudios experimentales para la producción de esporas de *P. lilacinus*, arroz, sorgo, fréjol, cebada, bagazo de yuca, harina de centeno y maíz, semillas de trigo y sésamo, mandioca, residuos de bagazo de azúcar, rechazo de papa, tabaco y tortas (karanja, jatropha, neem, soja) son algunos ejemplos (Robl et al., 2009; Gortari & Roque, 2016).

La fermentación de sustratos sólidos dura aproximadamente 10 a 15 días, por lo que es fundamental controlar la actividad de agua, temperatura, pH y aireación durante el crecimiento fúngico (Brand et al., 2010). El arroz es el sustrato más utilizado para la producción de hongos, para obtener una alta concentración de esporas, se debe evitar la aglutinación de las partículas del sustrato, controlar la humedad para que el grano se ablande y los hongos esporulen (Nguyen et al., 2017). La temperatura también influye en el crecimiento y desarrollo de biomasa de *P. lilacinus*, oscila entre 24°C a 30°C, temperaturas superiores pueden afectar la germinación de las esporas (Brand et al., 2010). El pH del medio debe ser ácido para facilitar el crecimiento del hongo e inhibir el desarrollo de otros microorganismos (Hernández et al., 2017).

En la Tabla 3.3 se indica las condiciones para la producción de esporas de distintas cepas de *P. lilacinus* en medios sólidos a partir de residuos agroindustriales.

Tabla 3.3 Producción de esporas de *P. lilacinus* en sustratos sólidos a partir de residuos agroindustriales

Cepa	Sustrato	Condiciones	Producción (esporas/g)	Referencia
<i>P. lilacinus</i> LPSC # 876	Afrecho de arroz (AA) y residuo de la producción de <i>Pleurotus ostreatus</i> (PO) en una relación 75/25	-2 g sustrato -Inóculo inicial: $1 * 10^7$ esporas/g sustrato -Humedad: 60 % -Condiciones de incubación: 10 días a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ -Concentración de carbono: 8 - 12 g/L -Relación C/N entre: 16:1 y 29:1	$2,23 * 10^{10}$	(Gortari & Roque, 2016)
<i>P. lilacinus</i> cepa <i>Endo</i> 69	Rechazo de papa (RP) *	-Inóculo inicial: $1 * 10^8$ esporas/mL sustrato -Condiciones de incubación: 10 días a 28°C , pH 4	$1,75 * 10^8$	(Robl et al., 2009)
<i>P. lilacinus</i> cepa PL01	Arroz integral (AI)	-5 g de sustrato -Inóculo inicial: $1 * 10^8$ esporas/g sustrato -Condiciones de incubación: 14 días a 28°C , pH 6.5	$3,28 * 10^9$	(Nguyen et al., 2017)
<i>P. lilacinus</i> cepa 6029	Torta karanja (<i>Pongamia pinnata</i>)*	-5 g de sustrato -Inóculo inicial $7,7 * 10^8$ esporas/mL sustrato -Condiciones de incubación: 10 días a 27°C , pH 5.98, 250 rpm -Relación C/N : 35,58:1	$5,18 * 10^7$	(Sharma et al., 2014)

Cepa	Sustrato	Condiciones	Producción (esporas/g)	Referencia
<i>P. lilacinus</i> (LPB-PI-01)	Torta de soya desgrasada al 100 %	-20 g sustrato seco -Inóculo inicial: $2,0 * 10^7$ esporas/g sustrato -Humedad: 65 % -Condiciones de incubación: 10 días a 28 °C	$4,27 * 10^{10}$	(Brand et al., 2004)

*formulación en un medio líquido

El RP es un subproducto que contiene vitaminas, aminoácidos (metionina, cisteína, lisina) y minerales (hierro), conocidos como promotores del crecimiento micelial (Trindade et al., 2012). Mediante el uso de RP como sustrato para *P. lilacinus* se puede obtener una alta producción de esporas ($1,75 * 10^8$ esporas/mL), comparable a la que se tiene con agar papa dextrosa ($1,69 * 10^8$ esporas/mL) (Robl et al., 2009).

Actualmente, las tortas de aceites (comestibles y no comestibles) han sido empleadas como sustratos para la producción de *P. lilacinus*, debido a su contenido de carbono y nitrógeno. En el estudio de Sharmar et al., (2013), se emplearon tortas oleaginosas no comestibles, la mayor concentración de esporas fue con la torta de karanja con $5,18 * 10^7$ esporas/mL, seguido de las tortas de jatropha (*Jatropha curcas*) y neem (*Azadirachta indica*) con $1,02 * 10^7$ esporas/mL y $4,58 * 10^6$ esporas/mL, respectivamente. Por su parte Brand et al., (2004) determinaron que el empleo de torta de soja comestible desgrasada al 100 % como sustrato permite alcanzar una alta concentración de esporas ($4,27 * 10^{10}$ esporas/g), debido a su alto contenido proteico. Las dificultades que presentan las tortas de aceites son los procesos de pretratamiento (desgrasado, secado, molienda, tamizado) y la competencia con otras industrias, puesto que, las tortas comestibles son ampliamente utilizadas para la producción de balanceado de animales.

Con otros subproductos como cascarilla de café y bagazo de yuca, se reportan concentraciones de esporas de $2,6 * 10^9$ esporas/g y $7,6 * 10^9$ esporas/g, respectivamente. El bagazo de yuca es un subproducto que posee alto contenido de almidón que bordea entre 40 - 70 % (Brand et al., 2004).

De acuerdo con Gortari & Roque (2016) utilizando sustratos combinados de AA y PO se obtiene una concentración de $2,23 * 10^{10}$ esporas/g. Esto se atribuye al contenido nutricional del AA, el cual contiene entre 34 - 46 % de extracto no nitrogenado (principalmente almidón), 11 - 15 % de proteínas, 10 - 20 % de lípidos y baja cantidad de cenizas y fibras, lo que conviene en un adecuado componente para el cultivo de hongos filamentosos. Por su parte, los residuos de PO a pesar de ser materiales complejos, de composición nutricional variable que depende del sustrato en el que se desarrolle y fructifique *P. Ostreatus*, influyen favorablemente en el crecimiento de esporas.

El uso de sustratos combinados de arroz integral, salvado de trigo y cascarilla de arroz permite alcanzar concentraciones altas de esporas ($1,34 * 10^9$ esporas/g) (Nguyen et al., 2017). Sin embargo, con la utilización de sustratos individuales de salvado de trigo, arroz integral y AA, se obtienen concentraciones de esporas superiores de $1,57 * 10^9$ esporas/

g, $3,28 \times 10^9$ esporas/g y $1,79 \times 10^{10}$ esporas/g, respectivamente (Nguyen et al., 2017; Gortari & Roque 2016).

Como lo reportado en la literatura se puede indicar que para la producción de esporas de *P. lilacinus* se puede optar por sustratos a partir de arroz y sus derivados porque son una excelente fuente de carbono y se puede alcanzar altos rendimientos de esporas a bajos costos. Además, los subproductos del arroz no presentan dificultades en su pretratamiento y están disponibles en Ecuador. El cultivo de arroz representa el 34,08 % de la superficie total sembrada en Ecuador, su producción es de 1.5 millones de toneladas anuales, los residuos de afrecho de arroz representan el 22 % del total del arroz pilado (INEC, 2021; Echeverría, 2010).

3.6.4 Recolección de esporas de *P. lilacinus*

Actualmente, existen varios estudios que indican el proceso de recolección de esporas a escala laboratorio, mientras que a escala industrial se reporta poca información.

Para la recolección de esporas en placas Petri, el cultivo de *P. lilacinus* en crecimiento activo se humedece con agua desmineralizada estéril junto con el agente humectante Tween-80 o Tween-20 al 0,1 % (Kiewnick, 2006). Los agentes humectantes favorecen la dispersión de las esporas (Leena et al., 2003). Las esporas se retiran cuidadosamente de la superficie con una varilla de vidrio estéril (Kiewnick, 2006).

Por su parte, para la recolección de esporas en matraces, se homogeniza el material fermentado, se agrega Tween-80 o Tween-20 al 0,1 %, se agita durante aproximadamente 15 minutos y se filtra en una tela serigrafía (150 hilos/cm^2) (Gortari & Roque, 2016), o en un tamiz (10 micras) (Holland et al., 2002); también se puede optar por centrifugar la mezcla (4500 rpm durante 30 minutos) para separar las esporas del micelio (Espinel et al., 2008).

En la Figura 3.11 se muestra un esquema de la recolección de esporas de *P. lilacinus* desarrollados en matraz y caja Petri.

Tras la obtención de la suspensión de esporas, éstas se cuantifican por gramo de material fermentado en un hemacitómero y se ajusta la concentración a 10^7 esporas/mL (Kiewnick, 2006). Esta suspensión se puede aplicar a las raíces de las plantas infectadas. La suspensión sola o mezclada con auxiliares de formulación como filtros UV, diluyentes, adherentes y tensioactivos, se puede liofilizar (24 horas), triturar, tamizar (malla 100 micras) y almacenar (Espinel et al., 2008).

El almacenamiento debe ser en un lugar fresco, aireado y seco para no perjudicar la vida útil de los hongos entomopatógenos que son sensibles y no estables a altas temperaturas (Hernández et al., 2017).

Generalmente, en los estudios experimentales para el crecimiento y propagación de esporas, una vez cosechadas, se cuantifica el porcentaje de germinación. Esta medición indica la capacidad que tienen las esporas de producir un tubo germinativo y penetrar la cutícula del nemátodo patógeno. Una germinación rápida se asocia a una mayor probabilidad de tener resultados satisfactorios en campo abierto (Hernández et al., 2017).

Para determinar el porcentaje de esporas germinadas se utiliza una alícuota de suspensión de esporas diluidas (10^6 esporas/mL), se siembra en agar-agua o agar-extracto de malta. Luego se realiza una incubación en una cámara húmeda entre 15 y 18 horas a 28°C. Posteriormente, se cuenta el número de esporas germinadas en un microscopio de luz. Las esporas germinadas se caracterizan por tener el tubo germinativo alrededor de 2 veces el diámetro de la espora (Gortari & Roque, 2016; Espinel et al., 2008).

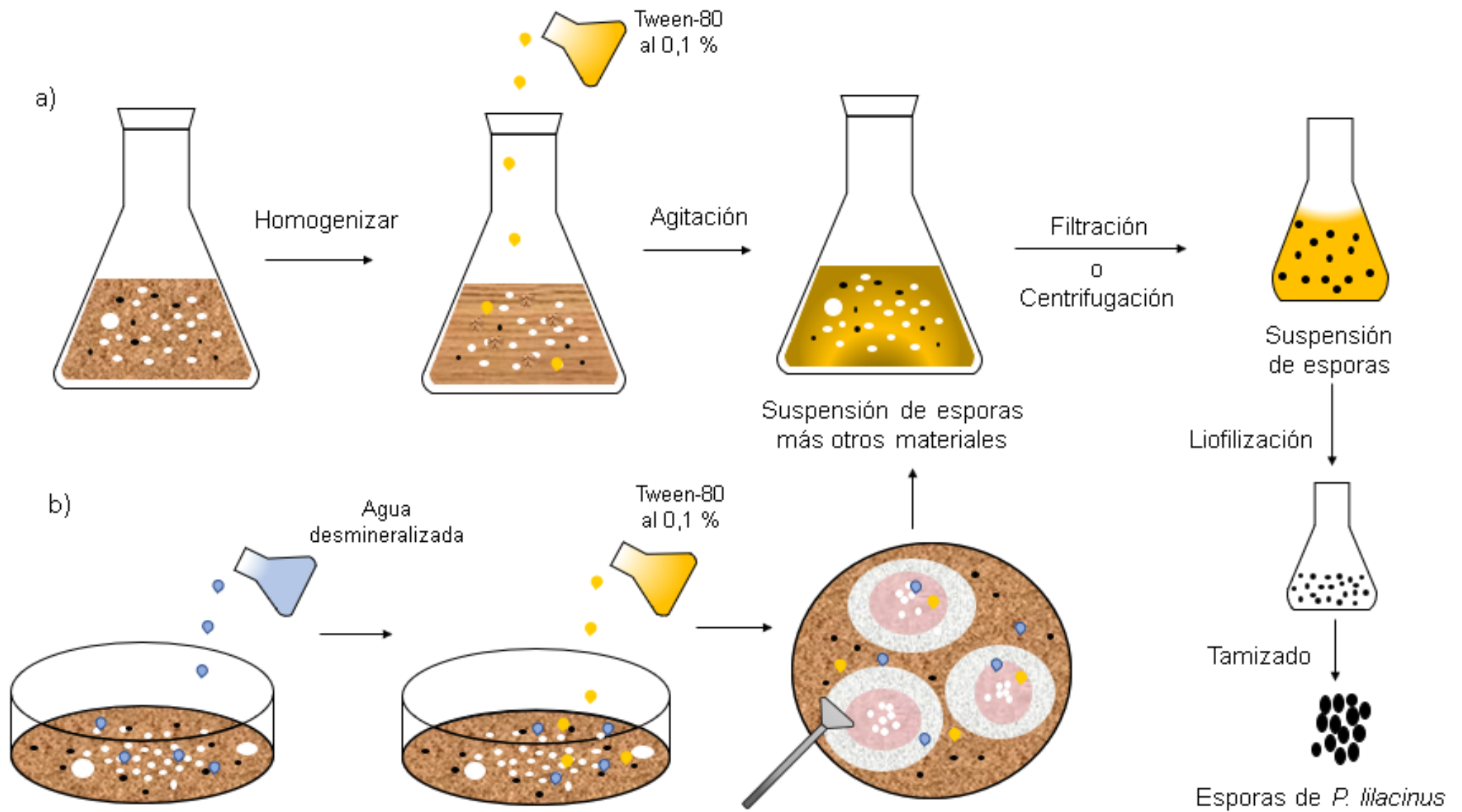


Figura 3.11 Esquema de recolección de las esporas de *P. lilacinus* desarrolladas en matraz (a) y caja Petri (b)

3.7 Conclusiones

En Ecuador se encuentran vigentes 7 principios activos para controlar nemátodos en cultivos de banano, rosa, palma africana, tomate riñón, *Gypsophilia*, tabaco e *Hypericum*.

El banano y rosa son dos de los cultivos de mayor interés en el Ecuador por el número de hectáreas sembradas 167000 y 6000, respectivamente, y por los ingresos en exportaciones que ascienden a 3,5 billones para el banano y 927 millones de dólares para las flores (rosa, *Gypsophilia* y otros).

El principal nemátodo que ataca al cultivo de banano es *R. similis*, para el control químico se usan 6 principios activos (cadusafos, etoprofos, fenamifos, fluopiram, oxamil y terbufos). Por su parte, *M. incognita* es un nemátodo parásito muy perjudicial para los cultivos de rosa, se controla con el principio activo combinado 1.3 dicloropropeno + cloropicrina.

La mejor alternativa biológica para el control de *R. similis* y *M. incognita* es el hongo *P. lilacinus* por su capacidad de infectar a los huevos e impedir su eclosión, afectar a los juveniles J2 y causar mal formaciones y alteraciones en los otros estadios.

La producción de esporas de *P. lilacinus* se realiza en fermentaciones sólidas y se puede utilizar sustratos a partir de residuos agroindustriales como el afrecho de arroz, una excelente opción para alcanzar altas concentraciones de esporas ($1,79 * 10^{10}$ esporas / g de sustrato) a bajos costos.

3.8 Recomendaciones

Realizar trabajos experimentales para la producción de esporas de *P. lilacinus* en los que se evalué la influencia de los parámetros fisicoquímicos y nutricionales durante el crecimiento y esporulación del hongo en medios sólidos y líquidos.

Realizar estudios de escalado para la producción de *P. lilacinus* con sustratos a base de residuos agroindustriales en medios sólidos y líquidos para determinar su factibilidad de implementarlos en la industria y establecer alternativas de recuperación de las esporas de *P. lilacinus*.

4 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Abad, P., Gouzy, J., Aury, J. M., Castagnone-Sereno, P., Danchin, E. G. J., Deleury, E., Wincker, P. (2008). Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Nature Biotechnology*, 26(8), 909–915. <https://doi.org/10.1038/nbt.1482>
- [2] Abisaí Pazos-Rojas, L., Marín-Cevada, V., Elizabeth Morales García, Y., Baez, A., Angel Villalobos-López, M., Pérez-Santos, M., ... yellowtweety, M. (2016). Uso de microorganismos benéficos para reducir los daños causados por la revolución verde. *Iberoamericana de Ciencias*, 3(7), 72–75. Recuperado a partir de www.reibci.org
- [3] Adegun, A. O., Akinnifesi, T. A., Ololade, I. A., Busquets, R., Hooda, P. S., Cheung, P. C. W., ... Barker, J. (2020). Quantification of neonicotinoid pesticides in six cultivable fish species from the river Owena in Nigeria and a template for food safety assessment. *Water (Switzerland)*, 12(9), 1–33. <https://doi.org/10.3390/W12092422>
- [4] Agrocalidad. (2021). Dicloropropeno_otros. Listado de moléculas con categoría toxicológica 1a y 1b registradas ante agrocalidad website: <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2021/06/moleculas-1a-y-1b.pdf> (junio, 2022)
- [5] Agrocalidad. (2022). *Reporte de productos de insumos agrícolas*.
- [6] Atkins, S. D., Clark, I. M., Pande, S., Hirsch, P. R., & Kerry, B. R. (2005). The use of real-time PCR and species-specific primers for the identification and monitoring of *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiology Ecology*, 51(2), 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.09.002>
- [7] Baker, L., Fitzell, D., Seiber, J., Parker, T., Shibamoto, T., Poore, M., Duncan, D. (1996). *Ambient Air Concentrations of Pesticides in California*. 30(4), 1365–1367. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/es950608l>
- [8] Brand, D, Soccol, R., Sabu, & Roussos, S. (2010). Production of fungal biological control agents through solid state fermentation: a case study on *Paecilomyces lilacinus* against root-knot nematodes. *Biological Control Using Paecilomyces Lilacinus Micol. API. Int*, 22(1), 31–48. Recuperado a partir de www.micaplint.com
- [9] Brand, Débora, Roussos, S., Pandey, A., Zilioli, P. C., Pohl, J., & Soccol, C. R. (2004). Development of a Bionematicide with *Paecilomyces lilacinus* to Control *Meloidogyne incognita*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 118, 81–88. <https://doi.org/10.1385/abab:118:1-3:081>
- [10] Bravo, V., Cruz, E., Herrera, G., & Ramírez, F. (2013). UNICIENCIA. *Uniciencia*, 27(1), 362–372. Recuperado a partir de www.revistas.una.ac.cr/uniciencia
- [11] Cáceres, T., Ying, G., & Kookana, R. (2002). Sorption of pesticides used in banana production on soils of Ecuador. *Australian Journal of Soil Research*, 40(7), 1085–1094. <https://doi.org/10.1071/SR02015>
- [12] Carter, W., Luo, D., & Malkina, I. (1997). *Atmospheric Environment*. 31(10), 1425–1438. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(96\)00324-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1352-2310(96)00324-X)
- [13] Clausing, P., Luig, L., & Urhahn, J. (2021). *Los dobles estándares respecto a los agrotóxicos de Bayer y BASF*. Hamburgo. Recuperado a partir de www.textarbeit.net.
- [14] CropLife. (2016). Nemátodos fitoparásitos. Recuperado a partir de <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/nematodos-fitoparasitos>.
- [15] Donley, N. (2019). The USA lags behind other agricultural nations in banning harmful pesticides. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 18(1), 3–6. <https://doi.org/10.1186/s12940-019-0488-0>
- [16] Elgawad, M., & Askary, T. (2018). Fungal and bacterial nematicides in integrated nematode management strategies. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*,

- [17] ESPAC. (2014). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-superficie-y-produccion-agropecuaria-continua-2014/>
- [18] ESPAC. (2015). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-superficie-y-produccion-agropecuaria-continua-2015-2016-2017-2/>
- [19] ESPAC. (2016). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-superficie-y-produccion-agropecuaria-continua-2015-2016-2017-2/>
- [20] ESPAC. (2017). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-superficie-y-produccion-agropecuaria-continua-2015-2016-2017-2/>
- [21] ESPAC. (2018). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-superficie-y-produccion-agropecuaria-continua-2018/>
- [22] ESPAC. (2019). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-superficie-y-produccion-agropecuaria-continua-2019/>
- [23] ESPAC. (2020). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/encuesta-de-superficie-y-produccion-agropecuaria-continua-2020/>
- [24] ESPAC. (2021). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC)*. <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/>
- [25] Espinel, C., Torres, L., Grijalba, E., Villamizar, L., & Cotes, A. (2008). Preformulados para control de la mosca blanca Bemisia tabaci (Hemiptera: Aleyrodidae) en condiciones de laboratorio. *Revista Colombiana de Entomología*, 34(1), 22–27. <https://doi.org/10.25100/socolen.v34i1.9245>
- [26] EXPOFLORES. (2019). *Informe anual de exportaciones*.
- [27] EXPOFLORES. (2020). *Reporte anual de mercados de destino 2020*.
- [28] Fair Trade USA. (2014). *Fair Trade USA Lista de Materiales Prohibidos*.
- [29] FAO. (2013). Resolución N° 136 - Cancela los registros de los productos que contengan Carbosulfán y Carbofurán y sus mezclas. Recuperado a partir de <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ecu155319.pdf>.
- [30] Feditchkina Tracy, E. (2014). The Promise of Biological Control for Sustainable Agriculture: Stakeholder-Based Analysis. *Science Policy Governance*, 5(1), 8–10. Recuperado a partir de www.sciencepolicyjournal.org.
- [31] Fernández, E., Mena, J., González, J., Elena Márquez, M., & Rosales, F. (2005). *Biological control of nematodes in banana. The problem of banana root deterioration and its impact on production 194 Biological control of nematodes in banana*.
- [32] Fernandez, J. (2020). *United States Environmental Protection Agency Washington, DC 20460 New Use PRIA Unconditional v.20150320 Office of Chemical Safety and Pollution Prevention*. Recuperado a partir de https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/ppls/000264-01077-20200409.pdf.
- [33] Gómez, M., Alarcón, A., León, M., Oehlschlager, C., & Solórzano, L. (2018). *Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros* (A. Cotes, Ed.).
- [34] González, P. (2019). *Efecto de los plaguicidas sobre la salud humana Exposición e impactos Autor*.
- [35] Gortari, M., & Roque, H. (2016). *Purpureocillium lilacinum LPSC # 876: Producción de conidias en cultivos sobre sustratos sólidos y evaluación de su actividad sobre*

- Nacobbus aberrans en plantas de tomate. *Revista de La Facultad de Agronomía*, 115(2), 239–247.
- [36] Haegeman, A., Elsen, A., de Waele, D., & Gheysen, G. (2010). Emerging molecular knowledge on *Radopholus similis*, an important nematode pest of banana. *Molecular Plant Pathology*, 11(3), 316. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00614.x>
- [37] Hernández, F., Cuapio, A., & Corral, O. (2017). Production of Fungal Spores for Biological Control. En *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Production, Isolation and Purification of Industrial Products* (pp. 757–779). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63662-1.00033-6>
- [38] Hernández, K., Pérez, F., Romano, D., Monasterio, M., & García, K. (2020). Autorizaciones de pesticidas prohibidos El permanente estado de excepción fitosanitaria amenaza la salud y el medioambiente Edición 202 0. En *Autorizaciones de pesticidas prohibidos* (15–19).
- [39] Huang, X., Zhao, N., & Zhang, K. (2004, diciembre). Extracellular enzymes serving as virulence factors in nematophagous fungi involved in infection of the host. *Research in Microbiology*, Vol. 155, pp. 811–816. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2004.07.003>
- [40] Inserra, R., Vovlas, N., Griffin, G., & Anderson, J. (1983). Development of the False Root-knot Nematode, *Nacobbus aberrans*, on Sugarbeet 1. *Journal of Nematology*, 15(2), 573–603.
- [41] Jackson, M. (1997). Optimizing nutritional conditions for the liquid culture production of effective fungal biological control agents. En *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* (Vol. 19). <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900426>
- [42] Jang, J. Y., Choi, Y. H., Shin, T. S., Kim, T. H., Shin, K. S., Park, H. W., ... Kim, J. C. (2016). Biological control of *Meloidogyne incognita* by *Aspergillus niger* F22 producing oxalic acid. *PLoS ONE*, 11(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156230>
- [43] Jones, G., White, J., & Rodriguez, K. (1984). *Jones-1984-I-MA*. 14(1), 57–60.
- [44] Jones, J., Haegeman, A., Danchin, E., Gaur, H., Helder, J., Jones, M., ... Perry, R. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 14(9), 946–948. <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>
- [45] Keillor, G. (2008). Carbofuran under Review. *Environmental Health Perspectives*, 116(10), 425. Recuperado a partir de <http://www.greenhalloween.org/>.
- [46] Kerry, B. R. (2000). *Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes*. Recuperado a partir de www.annualreviews.org.
- [47] Khair, H., Nagdi, W., Youssef, M., Abd-Elgawad, M., & Dawood, M. (2019). Protective effect of *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, and *Pseudomonas fluorescens* isolates against root knot nematode *Meloidogyne incognita* on cowpea. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0108-8>
- [48] Khan, A., Williams, K., Molloy, M. P., & Nevalainen, H. (2003). Purification and characterization of a serine protease and chitinases from *Paecilomyces lilacinus* and detection of chitinase activity on 2D gels. *Protein Expression and Purification*, 32(2), 210–220. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2003.07.007>
- [49] Khan, A., Williams, K., & Nevalainen, H. (2003). Testing the nematophagous biological control strain *Paecilomyces lilacinus* 251 for paecilotoxin production. *FEMS Microbiology Letters*, 227(1), 107–111. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00654-2](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00654-2)
- [50] Kiewnick, S. (2006). Effect of temperature on growth, germination, germ-tube extension and survival of *Paecilomyces lilacinus* strain 251. *Biocontrol Science and Technology*, 16(5), 538. <https://doi.org/10.1080/09583150500532766>

- [51] Kiewnick, Sebastian. (2010). Importance of Multitrophic Interactions for Successful Biocontrol of Plant Parasitic Nematodes with *Paecilomyces lilacinus* Strain 251. En *Recent Developments in Management of Plant Diseases* (pp. 81–92). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8804-9_7
- [52] Kumar, S. (2012). Biopesticides: A Need for Food and Environmental Safety. *Journal of Biofertilizers & Biopesticides*, 03(04), 1–3. <https://doi.org/10.4172/2155-6202.1000e107>
- [53] Leena, M., Easwaramoorthy, S., & Nirmala, R. (2003). In Vitro Production of Entomopathogenic Fungi *Paecilomyces farinosus* (Hotmskiold) and *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson using Byproducts of Sugar Industry and Other Agro-industrial Byproducts and Wastes. *Sugar Tech*, 5(4), 232–233. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/BF02942478>
- [54] Leitão, S., Moreira-S, van den Brink, P., Ribeiro, R., Cerejeira, M., & Sousa, J. (2014). Ethoprophos fate on soil-water interface and effects on non-target terrestrial and aquatic biota under Mediterranean crop-based scenarios. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 103(1), 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.01.029>
- [55] Leyva, J., García, L., Bastidas, P., Astorga, J., Trujillo, J., Cruz, A., ... Betancourt, M. (2014). cadufasos_2. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 30(3), 258.
- [56] Li, X., Xu, K., Liu, X., & Zhang, P. (2020). A Systematic Review on Secondary Metabolites of *Paecilomyces* Species: Chemical Diversity and Biological Activity. *Planta Medica*, 86(12), 805–821. <https://doi.org/10.1055/a-1196-1906>
- [57] Liang, Y., Tong, F., Zhang, L., Li, W., Huang, W., & Zhou, Y. (2017). Fatal poisoning by terbufos following occupational exposure. *Clinical Toxicology*, 56(2), 140–142. <https://doi.org/10.1080/15563650.2017.1340647>
- [58] MacBean. (2012). *The pesticide manual*. Hampshire: BCPC.
- [59] MAGAP. (2015). Productores exponen buenas prácticas agrícolas, para reemplazar a plaguicidas. Recuperado de <https://www.agricultura.gob.ec/productores-exponen-buenas-practicas-agricolas-para-reemplazar-a-plaguicidas/> (Mayo, 2022).
- [60] MAGAP. (2017). Productores de San Pedro de Canchaguano harán una agricultura más orgánica. Recuperado de <https://www.agricultura.gob.ec/productores-de-san-pedro-de-canchaguano-haran-una-agricultura-mas-organica/> (Noviembre, 2022).
- [61] MAGAP. (2021). *Ministerio de agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP)*. <http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/comext-productos>
- [62] Márquez, M., Garmendía, L., Fernández, E., & Escobar, M. (2004). Cepas de *Bacillus thuringiensis* con actividad biológica contra *Meloidogyne incognita*. *fitosanidad*, 8(3), 31–34.
- [63] Martínez, J., Acosta, N., Betancourt, C., Vicente, N., & Rodríguez, R. (1996). *Martéz-1996-Alternativa M*. 143–152.
- [64] Martínez, S., Garbi, M., Puig, L., Cap, G., & Gimenez, D. (2021). Phytohormones reduce damage by *Nacobbus aberrans* in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Chilean Journal of Agricultural and Animal Sciences*, 37(1), 43–53. <https://doi.org/10.29393/CHJAAS37-5FRSM50005>
- [65] Mcsorley, R. (2003). *Adaptations of nematodes to environmental extremes*. 138–139. <https://doi.org/10.1653/0015>
- [66] Melo, L., Costa, L., Foloni, L., & Pimentel, L. (2005). Kinetics of carbosulfan hydrolysis to carbofuran and the subsequent degradation of this last compound in irrigated rice fields. *Chemosphere*, 60(2), 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.02.049>

- [67] Mendoza, A. R., Sikora, R. A., & Kiewnick, S. (2007). *Influence of paecilomyces lilacinus strain 251 on the biological control of the burrowing nematode radopholus similis in banana.*
- [68] Mishra, S., Zhang, W., Lin, Z., Pang, S., Huang, Y., Bhatt, P., & Chen, S. (2020). Carbofuran toxicity and its microbial degradation in contaminated environments. *Chemosphere*, 259, 3–5. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127419>
- [69] Mittal, N., Saxena, G., & Mukerji, K. G. (1995). *Integrated control of root-knot disease in three crop plants using chitin and Paecilomyces lilacinus.*
- [70] Moens, M., Perry, R., & Starr, J. (2009). Meloidogyne Species a Diverse Group of Novel and Important Plant Parasites. En *Root knot Nematodes* (pp. 3–4). London.
- [71] Moreno-Gavira, A., Diáñez, F., Sánchez-Montesinos, B., & Santos, M. (2020). Paecilomyces variotii as a plant-growth promoter in horticulture. *Agronomy*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY10040597>
- [72] Morton, C. O., Hirsch, P. R., & Kerry, B. R. (2004). Infection of plant-parasitic nematodes by nematophagous fungi—a review of the application of molecular biology to understand infection processes and to improve biological control. *Nematology*, 6(2), 161–170. Recuperado a partir de www.brill.nl
- [73] MSP. (2021). Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica subsecretaría de vigilancia de la salud pública subsistema de vigilancia sive-alerta efectos tóxicos año 2021 introducción.
- [74] Nair, P. (2013). *The Agronomy and Economy of Turmeric and Ginger.*
- [75] Nguyen, H. C., Tran, T. V. A., Nguyen, Q. L., Nguyen, N. N., Nguyen, M. K., Nguyen, N. T. T., ... Lin, K. H. (2017). Newly isolated Paecilomyces lilacinus and Paecilomyces javanicus as novel biocontrol agents for Plutella xylostella and Spodoptera litura. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 45(1), 280–286. <https://doi.org/10.15835/nbha45110726>
- [76] Nyczepir. (2009). Current and future management strategies in intensive crop production systems. En *Root-knot nematodes* (CBA International, p. 413). Wallingford.
- [77] Oborník, M., Jirku, M., & Dolezel, D. (2001). Phylogeny of mitosporic entomopathogenic fungi: Is the genus Paecilomyces polyphyletic? *Canadian Journal of Microbiology*, 47(9), 813–819. <https://doi.org/10.1139/cjm-47-9-813>
- [78] O'Brien, P. A. (2017). Biological control of plant diseases. *Australasian Plant Pathology*, Vol. 46, pp. 1–4. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/s13313-017-0481-4>
- [79] OPS. (2002). Septiembre 2002. *Boletín Epidemiológico Organización Panamericana de La Salud*, 23(3), 8.
- [80] Pérez. (2018). Alternativas a los plaguicidas altamente peligrosos EN. En *Alternativas a los Plaguicidas Altamente Peligrosos en América Latina y el Caribe.* Habana. Recuperado a partir de <http://www.rap-al.org>
- [81] Pocasangre, L. E., zum Felde, A., Meneses, A., Cañizares, C., Riveros, A. S., Rosales, F. E., & Sikora, R. (2004). *Alternative managment of fitonematodes on banana and plantain.*
- [82] PPDB. (2022). *Pesticide Properties Database. University of Hertforshire.* Obtenido de: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>
- [83] Robl, D., Letizia, ;, Sung, B., João, ;, Novakovich, H., Marangoni, P. R. D., ... Pimentel, I. C. (2009). Spore production in paecilomyces lilacinus (thom.) samson strains on agro-industrial residues. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 296–300.
- [84] Rojas, E. (2016). Prohibición y restricción en el uso y comercialización de plaguicidas agrícolas en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 40(1), 89–103. Recuperado a partir de www.mag.go.cr/revagr/index.htmlwww.cia.ucr.ac.cr
- [85] Segura, S. (2020). *PORTADA.* Recuperado a partir de <http://sistemas.procomer.go.cr/DocsSEM/DF41C814-2807-46FA-A3D9-959A6582A0C7.pdf>

- [86] Senthilkumar, M., Anandham, R., & Krishnamoorthy, R. (2020). Paecilomyces. En *Beneficial Microbes in Agro-Ecology: Bacteria and Fungi* (pp. 793–808). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00041-1>
- [87] Seo, Y., Cho, T., Hong, C., Kim, M., Cho, S., Park, W., ... Kim, M. (2013). Monitoring and risk assessment of pesticide residues in commercially dried vegetables. *Preventive Nutrition and Food Science*, 18(2), 148. <https://doi.org/10.3746/pnf.2013.18.2.145>
- [88] Sharma, A., Sharma, S., Mittal, A., & Naik, S. (2014). Statistical optimization of growth media for Paecilomyces lilacinus 6029 using non-edible oil cakes. *Annals of Microbiology*, 64(2), 515–520. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0683-0>
- [89] Sharon, E., & Spiegel, Y. (1993). Glycoprotein Characterization of the Gelatinous Matrix in the Root-knot Nematode Meloidogyne javanica. *Journal of Nematology*, 25(4), 585–589.
- [90] Tiezzi, E. (2008). Redalyc Sistema de Información Científica. *Ciencias*, 1(91), 2. Recuperado a partir de <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=64411463004>
- [91] Trindade, J., Camlofski, A., & Freitas, R. (2012). Caracterização de variedades de batata do município de contenda-pr e indicações quanto ao uso doméstico e tecnológico. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 6(1). <https://doi.org/10.3895/s1981-36862012000100012>
- [92] Trudgill, D. L., Bala, G., Blok, V. C., Daudi, A., Davies, K. G., Mwageni, W., ... Madulu, J. D. (2000). The importance of tropical root-knot nematodes (Meloidogyne spp.) and factors affecting the utility of Pasteuria penetrans as a biocontrol agent. *Nematology*, 2(8), 823–845.
- [93] United States Environmental Protection Agency. (2017). *Office of chemical safety and pollution prevention memorandum, Risk Assessment Branch I (RAB I) Health Effects Division (HED; 7509P)*. Washington.
- [94] University Hertfordshire (2022). PPDB: Pesticide Properties DataBase. Recuperado de <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/148.htm>.
- [95] US Environmental Protection Agency. (2016). Fenamiphos Facts. https://archive.epa.gov/pesticides/reregistration/web/html/fenamiphos_ired_fs.html.
- [96] USA EPA. (2008). *Reregistration Eligibility Decision (RED) for Chloropicrin*.
- [97] Williamson, V., & Hussey, R. (1996). Nematode Pathogenesis and Resistance in Plants. *The Plant Cell*, 8, 1735–1736. <https://doi.org/10.1105/tpc.8.10.1735>
- [98] Yang, Y., Wu, N., & Wang, C. (2018). Toxicity of the pyrethroid bifenthrin insecticide. *Environmental Chemistry Letters*, 16(4), 1377–1391. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0765-0>.
- [99] Zhou, J., Liang, S., Cui, Y., Rong, Y., Song, J., & Lv, D. (2021). Study on environmental behaviour of fluopyram in different banana planting soil. *Scientific Reports*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91460-4>.

5 ANEXOS

ANEXO I

Tabla I. Características de los principios activos vigentes y cancelados para el control de nemátodos en Ecuador

Principio Activo	Fecha de registro	Países donde el uso es permitido	Países donde el uso es restringido	Destino Ambiental	Ecotoxicidad agua (EA) Ecotoxicidad crónica (EC)	Riesgos a la salud humana Toxicidad crónica (TC) Toxicidad aguda (TA)
1.3 Dicloropropeno	1956	UE: Francia Otros: Australia	Reino Unido	Móvil	EA: aves EC: peces	Irritante del tracto respiratorio, piel y ojos
Cloropicrina	1908	EE. UU.	Todos los países UE	Móvil	EA: aves y peces EC: crustáceos (daphnia)	TC: mamíferos Irritante del tracto respiratorio, piel y ojos
Cadusafos	-	Australia	Reino Unido	Moderadamente persistente y móvil	EA: aves y crustáceos (daphnia) EC: peces EA: lombrices de tierra	TA: mamíferos
Etoprofos	1966	Australia	Reino Unido	Móvil	EA: aves EC: aves, peces y crustáceos (daphnia)	TA: mamíferos

Principio Activo	Fecha de registro	Países donde el uso es permitido	Países donde el uso es restringido	Destino Ambiental	Ecotoxicidad agua (EA) Ecotoxicidad crónica (EC)	Riesgos a la salud humana Toxicidad crónica (TC) Toxicidad aguda (TA)
Fenamifos	1972	UE: República de Chipre, Grecia, España, Hungría, Italia, Malta, Portugal Otros: Australia	Reino Unido	Moderadamente móvil	EC: crustáceos (daphnia) EA: peces, abejas	TA: mamíferos neurotóxico
Fluopiram	2011	UE: todos Otros: Irán y Reino Unido	-	Alta lixiviación	EC: alta en aves	TC: mamíferos neurotóxico
Oxamil	1974	UE: Bélgica, Bulgaria, República de Chipre, República Checa, Grecia, España, Francia, Croacia, Hungría, Irlanda, Italia, Malta, Noruega, Polonia, Portugal, Rumania Otros: Irán y Reino Unido	-	Altamente móvil	EA: aves, abejas	TA: mamíferos disruptor endocrino neurotóxico

Principio Activo	Fecha de registro	Países donde el uso es permitido	Países donde el uso es restringido	Destino Ambiental	Ecotoxicidad agua (EA) Ecotoxicidad crónica (EC)	Riesgos a la salud humana Toxicidad crónica (TC) Toxicidad aguda (TA)
Terbufos	1974	Australia	Reino Unido	Ligeramente móvil	EC: peces EA: crustáceos (daphnia) y lombrices de tierra	TA: mamíferos neurotóxico. Irritante del tracto respiratorio, piel y ojos
Bifentrina	1984	Australia	Reino Unido	Moderadamente persistente	EC: aves y crustáceos (daphnia) EA: abejas y lombrices de tierra	TA: mamíferos disruptor endócrino neurotóxico. Irritante del tracto respiratorio, irritante de la piel y ojos neurotóxico
Carbofurano	1965	Australia	Reino Unido	Moderadamente móvil	EC: peces, EA: crustáceos (daphnia) y abejas	TA: alta en mamíferos disruptor endócrino

Adaptado de : (PPDB, 2022)