

INTERACCIÓN ENTRE EL ECOMICÂ Y UNA POBLACIÓN CUBANA DE *Meloidogyne incognita* EN TOMATE

Lucila Gómez*, Mayra G. Rodríguez*, Blanca de la Noval**, Ileana Miranda*
y M.A. Hernández*

*Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. Correo electrónico: lucila@censa.edu.cu; **Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Carretera de Tapaste, San José de las Lajas, La Habana, Cuba

RESUMEN: El estudio de tácticas para el manejo de los nematodos agalleros en la producción protegida de hortalizas en Cuba, se ha incrementado en los últimos años. El objetivo del trabajo fue determinar la interacción entre el ECOMICÂ, producto a base de hongos formadores de micorrizas arbusculares, y una población cubana de *Meloidogyne incognita* en el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Vyta). El experimento se desarrolló en los aisladores biológicos del CENSA empleando un diseño completamente aleatorio. Se emplearon dos formas de inoculación del ECOMICÂ: peletización de la semilla e incorporación al sustrato para semilleros (1.5 g del producto/alveolo de cepellón). La dosis de nematodos fue de 1.5 huevos- J_2 . g suelo⁻¹. Se evaluó el índice de agallamiento (IA), el número de juveniles infectivos (J_2) en suelo y peso del sistema radical. La evaluación de la simbiosis micorrícica comprendió el porcentaje de colonización, densidad visual y peso del endófito. Se demostró que la aplicación de ECOMICÂ en la rizosfera del tomate favoreció el desarrollo de la raíz aparejado con un alto número de agallas (IA=4). En el control el desarrollo de la raíz fue menor con un IA=5. Se observó una disminución de los J_2 en el suelo de las plantas micorrizadas. El establecimiento de la simbiosis micorrícica no se afectó por el desarrollo del nematodo.

(Palabras clave: simbiosis micorrícica; nematodos; *Meloidogyne incognita*; *Lycopersicon esculentum*)

INTERACTION BETWEEN ECOMICÂ AND A CUBAN POPULATION OF *Meloidogyne incognita* IN TOMATO

ABSTRACT: The study of tactics for the root-knot nematode management in vegetable production under crop protected systems has been increased in Cuba in the last decade. The main goal of this work was to assess the relationship of ECOMICÂ, a commercial product containing several mycorrhizal fungi, and a Cuban population of *Meloidogyne incognita* in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Vyta). The experiment was carried out in a green house at CENSA using a completely randomized design. ECOMICÂ was inoculated by seed pelleting or mixed with the seedbed substrate. The nematode dose used was 1.5 egg- J_2 . g soil⁻¹. Gall index, infective juveniles in soil and root weight were evaluated. The percentage of colonization, the visual density and the mycellial weight were also estimated. ECOMICÂ was shown to benefit root development despite the high value of the gall index (GI=4) in the inoculated plants. Root development was lower in the untreated plants with a GI=5. A decreased number of infective juveniles was observed in the soil with mycorrhized plants. The micorrhizal colonization was not affected by nematode establishment.

(Key words: mycorrhiza symbiosis; root-knot nematodes; *Meloidogyne incognita*; *Lycopersicon esculentum*)

INTRODUCCIÓN

Las asociaciones micorrícicas se encuentran ampliamente distribuidas en la mayor parte de los ecosistemas terrestres. Estas desarrollan múltiples funciones en el vegetal, entre las que se encuentran el favorecer el desarrollo más eficiente del sistema radical, por lo que la planta puede explorar un mayor volumen de suelo, ofreciendo una mayor resistencia a toxinas, el incremento de la traslocación -solubilización de elementos nutritivos esenciales y al aumento de la tolerancia a condiciones abióticas adversas, llegando a menudo a conferir cierta protección contra patógenos radicales (1).

La relación de los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) y los nematodos fitoparásitos ha recibido gran atención en los últimos años. Esto es debido a las posibilidades que ofrece el contar con organismos que atenúen el efecto negativo de los nematodos y favorezcan el desarrollo fisiológico general del vegetal (2).

Aun cuando se discute acerca de los mecanismos que operan en esta relación, lo cierto es que numerosos investigadores señalan el efecto negativo de especies del género *Glomus* sobre poblaciones de nematodos formadores de agallas (3, 4).

Desde finales de la década pasada se comenzó a trabajar en Cuba en la valoración de las potencialidades del uso de HFMA para atenuar los daños por nematodos, utilizando como modelo experimental el cultivo del plátano y los nematodos *Meloidogyne incognita* (Kofoid-White, Chitwood) y *Radopholus similis* (Cobb, Thorne), con resultados satisfactorios a escala experimental, señalándose la necesidad de ejecutar experimentos de campo de mayor envergadura (5).

Por su parte, Terry (6) estudió recientemente la aplicación de micorrizas conjuntamente con análogos de brasinoesteroide en la producción de tomate en sistema de cultivos protegidos, demostrando que con esta combinación se logra un mayor número de racimos y frutos por planta, así como el aumento de los rendimientos en un 20% con respecto al control no tratado.

Estos resultados confirman la necesidad de conocer la posibilidad de emplear cepas nativas de micorrizas dentro de las estrategias de manejo de nematodos establecidas en el país, para disminuir el impacto de las poblaciones de *Meloidogyne* spp., en la producción intensiva de hortalizas, a campo abierto y sistemas de producciones protegidas.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la interacción entre EcoMic®, y la especie de nematodo agallaro *M. incognita* en el tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var Vyta)

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento, se ejecutó en el primer trimestre del año 2005. Se emplearon dos formas de inoculación del EcoMic®: mezcla con el sustrato para el semillero y la peletización de las semillas de tomate var. Vyta. La primera se realizó mezclando el sustrato contenido en cada alvéolo del cepellón para semilleros con 1,5 g del producto, según dosis recomendada por Noval (7). El semillero se realizó en bandejas de polietileno (cepellones) con un volumen de 32.5 cm³ por alveolo. Esta forma de producción de plántulas es la más empleada en los Sistemas de Producción Protegida de Hortalizas (SPPH) en Cuba según Casanova *et al.* (8).

La segunda forma de aplicación del EcoMic® se realizó siguiendo la metodología de Fernández *et al.* (9). Se utilizó un volumen de producto correspondiente al 10% del peso de las semillas a tratar. El producto se mezcló con agua corriente hasta formar una pasta donde se introdujeron las semillas, luego se esparcieron sobre un papel y se dejaron secar durante la noche en un lugar fresco. Al día siguiente se sembraron en los alvéolos de los cepellones. Transcurridos 21 días después de la germinación, las plántulas se transfirieron a macetas de 1,5 L de capacidad.

El sustrato empleado en el experimento, incluyendo el del semillero, estuvo compuesto por humus de lombriz y suelo Ferralsol éutrico (10) (1:1), esterilizado previamente a 121°C (1 atm) durante 2 horas.

Transcurridos siete días desde el trasplante, se procedió a la inoculación de los nematodos en orificios practicados alrededor de las raíces de las plantas con el objetivo de favorecer la invasión. La suspensión de *M. incognita* se obtuvo a partir de una población pura establecida en tomate var. Campbell-28, procedente de la colección de nematodos formadores de agallas del laboratorio de Nematología del CENSA, utilizando la metodología descrita por Hussey y Barker (11). El nivel de inóculo que se empleó en el experimento fue de 1,5 huevos-J₂. g suelo⁻¹.

Se utilizó un diseño completamente aleatorio con 6 tratamientos y 10 repeticiones cada uno. Los tratamientos fueron:

1. Plantas sin nematodos empleadas como control.
2. Plantas inoculadas con nematodos, sin micorrizas.

3. Plantas procedentes de semillas peletizadas, sin nematodos.
4. Plantas producidas en sustrato micorrizado sin nematodos.
5. Plantas procedentes de semillas peletizadas inoculadas con nematodos.
6. Plantas producidas en sustrato micorrizado inoculadas con nematodos.

El experimento se mantuvo en los aisladores biológicos del CENSA, con riego en días alternos durante 60 días. Transcurrido este tiempo se extrajeron las raíces cuidadosamente y se lavaron con agua corriente. Igualmente se tomó suelo de las macetas y conjuntamente con las raíces, se llevaron al laboratorio de Nematología para su estudio.

Análisis de la simbiosis micorrícica

Para el análisis de la simbiosis micorrícica, las raíces de cinco plantas por cada tratamiento, incluyendo las del control, fueron secadas a 70°C y teñidas mediante la metodología de Philip y Hayman (12). El porcentaje de colonización se evaluó a través del método de los interceptos, descrito por Giovanotti y Mosse (13). Se determinó además la densidad visual (DV) según Trouvelot *et al.* (14), a partir de la cual se calculó la masa del endófito mediante la siguiente fórmula: $\text{Peso Endófito} = (\text{Peso Seco} \times \text{Densidad Visual}) / 100$.

Análisis nematológico y del sistema radical

Se registró, el peso total de la raíz en todas las plantas del experimento, utilizando una balanza técnica Sartorius. En los tratamientos donde se aplicó el nematodo se determinó el Índice de Agallamiento (IA) en el sistema radical, según la escala de Taylor y Sasser (15), y se contabilizó la población final de *M. incognita*, siguiendo la metodología descrita por Hussey y Barker (11).

La población de J_2 en suelo (Juveniles. 10g de suelo^{-1}), se determinó mediante la técnica de embudos Baermann (16). Para ello, se homogenizó el suelo de las macetas de cada tratamiento inoculado con *M. incognita* y se tomaron tres sub-muestras de 10 g cada una. A los tres días se retiraron los viales colectores de los embudos y los juveniles contenidos en dichos viales se inactivaron con calor a 60°C por 3 min, se fijaron con TAF (1%) (17) y se cuantificaron mediante el conteo directo de las larvas en una cámara contadora bajo un estereomicroscopio.

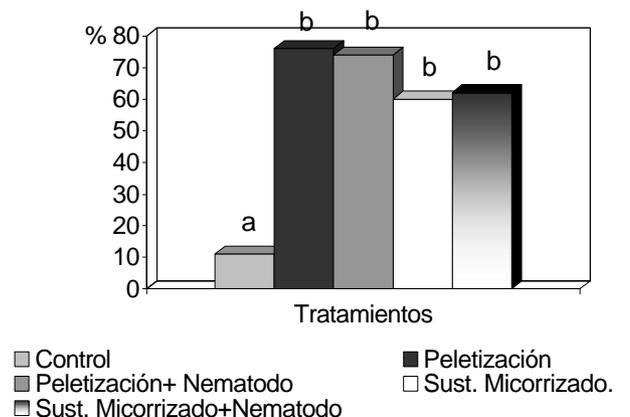
Para determinar la influencia de los tratamientos en los parámetros evaluados se ejecutó un Análisis

de Varianza Simple y la comparación entre las medias se realizó haciendo uso de la prueba de rangos múltiples de Duncan en los casos donde existieron diferencias ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de la simbiosis micorrícica

El análisis de los parámetros de los HFMA permitió determinar que el nematodo no produjo efecto negativo sobre el desarrollo de los hongos micorrícicos en las raíces del tomate. Se constató que en todas las plantas tratadas independientemente del modo de aplicación del hongo o la presencia del *M. incognita*, se obtuvo un alto número de raíces colonizadas (Fig.1) y valores elevados de densidad visual (DV) (Fig. 2).

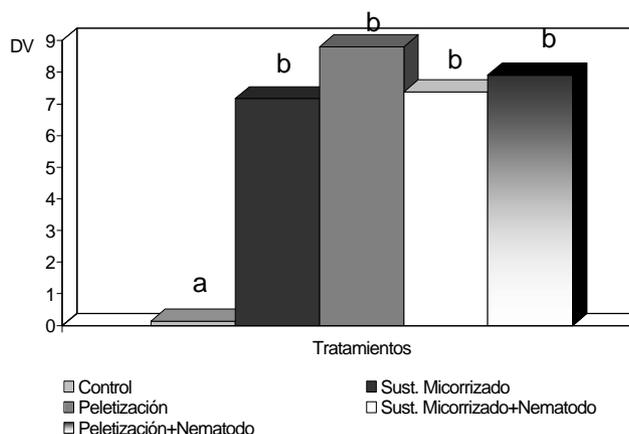


Barras con letras diferentes, difieren significativamente ($p < 0.05$).

FIGURA 1. Porcentaje de colonización (%) por micorrizas en las raíces de tomate tratadas con ECOMIC®. / *Percentage of mycorrhizal root colonization treated with ECOMIC®.*

Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Paulitz y Linderman (18), quienes hallaron que el desarrollo de las micorrizas, expresado en porcentaje de germinación, desarrollo micelial y colonización de las raíces, se vio afectado por la presencia de nematodos formadores de agallas. Esto puede deberse a que en este trabajo, los hongos formadores de micorrizas fueron introducidos al sistema (sustrato-planta) antes de que el hospedante fuera "retado" con el nematodo, señalando Borowicz (19), que cuando esto ocurre, el efecto negativo de los nematodos sobre este hongo puede ser disminuido o eliminado.

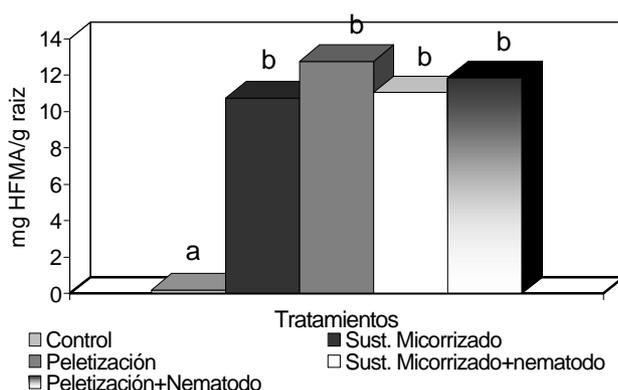
Tanto en el porcentaje de colonización como en la DV, no se presentaron diferencias entre los tratamientos inoculados, manifestando valores adecuados, pero



Barras con letras diferentes difieren significativamente ($p < 0.05$)

FIGURA 2. Densidad visual (DV) de la colonización por micorrizas en raíces de tomate. / *Visual density (VD) of mycorrhizal colonization in tomato roots.*

si de estos con relación al testigo. Este aspecto se corroboró cuando se calculó el peso del endófito (PE), lo cual nos brinda una mejor información acerca de la intensidad de la colonización, cuantificada en mg de HFMA. g^{-1} de raíces secas (Fig. 3).



Barras con letras diferentes difieren significativamente ($p < 0.05$).

FIGURA 3. Peso del endófito de los HFMA en raíces de tomate. / *Endophyte weight of mycorrhizal fungi in tomato roots.*

El porcentaje de colonización fue alto, donde los valores oscilaron entre el 60 y el 70%, lo que coincide con lo obtenido por Fernández *et al.* (9). Este autor encontró además un aumento de la colonización de las raíces y del parámetro DV en las plantas inoculadas mediante peletización.

Los resultados evidenciaron lo beneficioso de introducir los HFMA en los sistemas planta- hongos

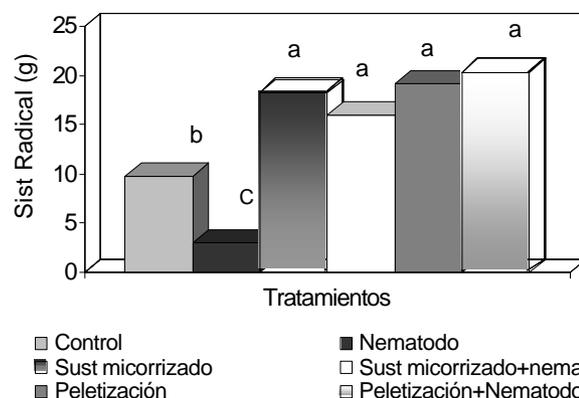
micorrizógenos-nematodos fitoparásitos, antes de que estos últimos se pongan en contacto con las plantas hospedantes; aspecto que es señalado también por Borowicz (19).

Este aspecto es muy positivo si se tiene en cuenta que se puede introducir el simbiote en fases iniciales de la tecnología, como por ejemplo en la producción de plántulas, que deben ser obtenidas en sustratos libres de nematodos (8), de esta manera, la relación planta-micorriza estará establecida antes de que las plántulas sean transplantadas al campo, donde los nematodos pueden estar presentes.

Varios estudios confirman que la interacción planta-HFMA-nematodos fitoparásitos puede manifestarse de diferentes formas, ya sea para impedir el desarrollo de los nematodos, o que estos inhiban el desarrollo de los HFMA, en alguna fase de su desarrollo, o no producirse ningún efecto adverso entre ellos.

Análisis nematológico y del sistema radical

En la Figura 4 se puede apreciar el peso de las plantas de tomate de los diferentes tratamientos. Todas las plantas tratadas con micorrizas, incluyendo las inoculadas con nematodos, alcanzaron un mayor peso radical, sin diferencias significativas entre ellas, pero sí con las plantas de los tratamientos donde no se aplicó la micorrización.



Barras con letras diferentes difieren significativamente ($p < 0.05$).

FIGURA 4. Peso del sistema radical de plantas de tomate tratadas y no tratadas con micorrizas. / *Root weight in tomato plants inoculated or not with mycorrhizae.*

Por su parte las plantas sin EcoMic® presentaron diferencias significativas entre ellas, donde en las plantas inoculadas con *M. incognita*, se observó un alto deterioro del sistema radical (Fig. 5) y por consiguiente un menor peso del sistema radical (Fig. 4). Estos

resultados indican que la micorrización de las plantas de tomate cv. Vyta favoreció el crecimiento de las raíces mostrado por un mayor peso y volumen del sistema radical.

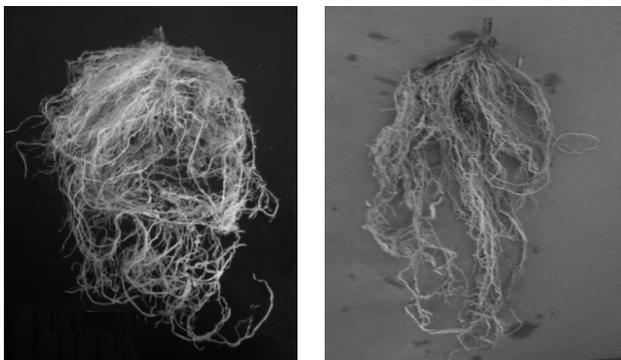


FIGURA 5. Desarrollo radical del tomate infectado por *M. incognita*. a) Raíz micorrizada. b) Raíz no micorrizada. / *Tomato roots infected by M. incognita*. a) *Mycorrhized root*. b) *Non-mycorrhized root*.

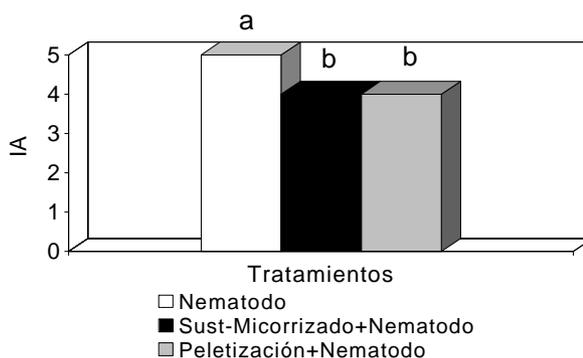
En este sentido, Rivera *et al.* (10) plantearon, que cuando las raíces de una planta se encuentran en asociación simbiótica con hongos micorrícicos arbusculares, ocurren alteraciones morfológicas y fisiológicas en el vegetal, estimulando, entre otros aspectos, la síntesis de hormonas del crecimiento tales como auxinas, giberelinas y citoquininas. Como consecuencia, la planta desarrolla un mayor sistema radical que favorece el incremento de la superficie de absorción de nutrientes (18, 20).

En el tomate, una de las hortalizas más afectadas por los nematodos formadores de agallas (21), el sistema radical se deteriora ante altos niveles poblacionales, por ejemplo de *M. incognita* (22, 23).

Los juveniles infestivos de *Meloidogyne* spp. penetran las raíces de sus hospedantes a través del meristemo apical e invaden el tejido vascular del cual se alimentan. Esto trae consigo una magnitud de cambios morfológicos y fisiológicos en las raíces, que van en detrimento de su funcionamiento y normal desarrollo, que imposibilita a las plantas la toma de nutrientes y agua del suelo. Las células meristemáticas también quedan destruidas causando retardo en el desarrollo. Cuando las infestaciones son elevadas, los efectos negativos se incrementan, por lo que la raíz queda deteriorada y/o deviene la pérdida del sistema radical (24).

Al analizar el IA, se observó que todas las plantas de los tratamientos inoculados con *M. incognita*, mostraron agallas, debido a la acción de las larvas infectivas en las raíces (Fig. 6), lo que indica que

EcoMic® no limitó la penetración de *M. incognita*. Sin embargo, se observaron diferencias significativas entre las plantas tratadas con micorrizas y el control, donde el IA fue menor en las plantas tratadas. No obstante, a pesar de que los valores alcanzados, entre 4 y 5, son considerados altos, según lo establecido por Taylor y Sasser (15), lo que demuestra la alta susceptibilidad de la variedad de tomate a *M. incognita*, el hecho de que se produzca al menos la disminución en un grado, equivale a mejorar en algo el desarrollo del cultivo, lo que habla favorablemente de las micorrizas, las que en ningún modo pueden ser tratadas como “agentes de control biológicos” de *Meloidogyne* pero que presentan un efecto favorable sobre el cultivo donde estén presentes.



Barras con letras diferentes difieren significativamente ($p < 0.05$).

FIGURA 6. Índice de agallamiento (IA) provocado por la infestación de *M. incognita* en raíces de tomate. / *Gall index in tomato roots due to M. incognita infestations*.

En este sentido, Pinochet *et al.* (25) informaron un fenómeno similar para la interacción *Pratylenchus vulnus* (Allen y Jensen) - *Glomus mosseae* (Nicol. y Gerd) - melocotón cv. Nemared, ya que aunque la presencia de micorrizas no les confirió protección ante los nematodos, se favoreció el desarrollo de las plantas.

Con relación al efecto de los HFMA sobre las poblaciones de nematodos, los resultados son muy variados. Investigadores como Diongzon y Gapasin (25), informaron que las micorrizas provocaron una disminución en el número de agallas, masas de huevo y población en el suelo de *Meloidogyne graminicola* (Goleen y Birchfield) de entre 69 y 92% comparado con los controles, cuando se aplicaron junto a enmiendas de origen animal como estiércol de vacas, ovejas, puercos, gallinaza, entre otros, lo que, ha nuestro entender, se debió a la combinación de tácticas y no al empleo de HFMA solamente. Otros estudios señalan que la presencia de micorrizas puede inhibir la eco-

si3n de los huevos, la penetraci3n de las larvas a la ra3z e incluso la multiplicaci3n de los nematodos (27).

Sin embargo, en numerosos casos la reproducci3n de nematodos fue estimulada por la presencia de ciertos hongos micorr3cicos. Hussey y Roncadori (28), al trabajar con *Arachis hypogaeae* (L. Starr) observaron un incremento de ocho veces en el n3mero de huevos por gramo de ra3z, comparado con plantas no micorrizadas. En otras pruebas con la misma especie empleando un sistema de ra3z dividida, estos autores observaron que la reproducci3n del nematodo fue mayor al estar presente el hongo, lo cual ocurri3 s3lo cuando ambos organismos estuvieron presentes en el mismo lado de la ra3z.

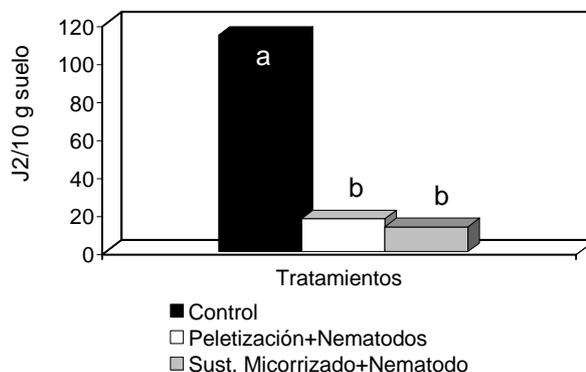
Los HFMA pueden alterar la fisiolog3a de las ra3ces, incluyendo los exudados responsables de las atracciones qu3micas de los nematodos. Al respecto, Sikora (7) encontr3, que la atracci3n de larvas de *M. incognita* al sistema radical de tomate estuvo alterada por la presencia de *G. mosseae*, lo que redund3 en menor IA. Sin embargo, en algunos casos, la colonizaci3n del hongo no tuvo efecto sobre las poblaciones de nematodos, como se observ3 en estudios ejecutados por O'Bannon y Neme3 (29) con *Radopholus similis* donde la poblaci3n de nematodos fitopar3sitos fue considerablemente mayor en las plantas micorrizadas.

En otros estudios, los hospedantes susceptibles a esta plaga colonizados con HFMA muestran una mayor tolerancia, la que a menudo est3 acompa3ada por la disminuci3n de las poblaciones de nematodos, expresada en un menor n3mero de agallas, juveniles o masas de huevos por unidad de ra3z (30).

En este sentido, los reguladores del crecimiento de las plantas, exudados por las ra3ces se encuentran fuertemente implicados en el desarrollo de las c3lulas gigantes y la formaci3n de agallas (31). La presencia de auxinas, promotoras del crecimiento celular y de citoquininas, promotoras de la divisi3n celular, ha sido estudiada en relaci3n con las infestaciones por *Meloidogyne* en sus hospedantes, las que se encuentran en mayor cuant3a en los tejidos celulares parasitados por nematodos agalleros que en los no parasitados (32). El aumento de estas sustancias tambi3n ha sido informado en las plantas micorrizadas (33), lo cual pudiera dar una explicaci3n a lo ocurrido en este trabajo.

Por otra parte, al existir un mayor sistema radical, evidenciado por el peso de la ra3z, los J_2 de *M. incognita* pueden encontrar abundantes ra3ces donde comenzar una nueva invasi3n, sin necesidad de pasar al suelo en busca de otros hospedantes.

Una evidencia de este planteamiento puede encontrarse cuando se analiza el n3mero de J_2 en el suelo de las macetas. En la Figura 7 se aprecia el nivel poblacional del nematodo en el suelo del tratamiento control el que aument3 significativamente en comparaci3n con el resto de los tratamientos.



Barras con letras diferentes difieren significativamente ($p < 0.05$).

FIGURA 7. N3mero de juveniles infectivos (J_2) de *M. incognita* en suelo. / Number of *M. incognita* infective juveniles (J_2) in soil.

Las especies de nematodos y su abundancia en el suelo est3n estrechamente relacionadas con el crecimiento de las plantas y las sustancias exudadas por las ra3ces y su abundancia influye directa o indirectamente sobre su comportamiento (32).

Si bien la presencia de HFMA en las ra3ces pudieran resultar en una disminuci3n, incremento o no tener efecto en las poblaciones de nematodos (28, 34), un aumento de la tolerancia en las plantas susceptibles a esta plaga ha sido observada por numerosos investigadores, que va m3s all3 de la elevaci3n de niveles de f3sforo en las plantas (35, 36, 37).

El mecanismo por el cual en ocasiones la presencia de micorrizas limita la reproducci3n de los nematodos y en otras no lo hace, no est3 aun dilucidado. Sin embargo, se conoce que durante el proceso de establecimiento de la simbiosis micorr3cica arbuscular, se estimula el desarrollo de microorganismos rizosf3ricos 3ntimamente ligados al micelio externo de estos hongos (38). En este microambiente, que ha sido denominado hifosfera, se han caracterizado bacterias del tipo ben3fica (7), siendo posible que tambi3n se establezcan otros microorganismos que controlan las poblaciones de fitonematodos en el suelo (39).

En este trabajo se demuestra que, a pesar de que la colonización micorrícica no tuvo efecto en la disminución de la población de *M. incognita* en tomate var. Vyta provocó un incremento en el desarrollo radical de las plantas, que podría proporcionarle mayor tolerancia a la variedad ante poblaciones de nematodos en suelos infestados.

Este hallazgo le confiere potencialidades a la micorrización de plantas en los SPPH, donde se usan híbridos que generalmente no son resistentes a los nematodos, como ocurre con la variedad empleada en este estudio como modelo biológico de susceptibilidad. Al respecto, Bello *et al.* (40) indicaron que la micorrización de plántulas en diversos cultivos, podría constituirse en una de las alternativas al Bromuro de Metilo incluidas en programas de manejo integrado de plagas.

Teniendo en cuenta los resultados alcanzados, la tendencia internacional en el uso de estos organismos (41) y la posibilidad de contar con un producto cubano de reconocido prestigio en el ámbito nacional e internacional como el EcoMic® (35) por el aumento que provoca en los rendimientos de los cultivos, deberá valorarse su inclusión en la fase de producción de plántulas, teniendo como elemento favorable que su uso experimental en los SPPH de Santiago de Cuba, lo que produjo aumentos en el desarrollo, rendimientos y calidad bromatológica de los frutos de tomate (6).

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a los técnicos Roberto Enrique, José M. Zambrana, Zoila del Valle (CENSA), a Leonald Alexis (estudiante de la UNAH) por el apoyo en la ejecución de trabajo y a la técnico Lourdes Soto del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas por su valiosa ayuda en el análisis de la simbiosis micorrícica.

REFERENCIAS

- Balestrini R, Lanfranco L. Fungal and plant gene expression in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*. 2006;16(8):509-524.
- Koide, RT, Mosse Barbara. A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza*. 2004;(14):145-163.
- Elsen D, De Waele D. Efecto de tres hongos micorrízicos arbusculares sobre la infección de *Musa* con el nematodo nodulador de las raíces (*Meloidogyne* spp.). *Infomusa*. 2002;11(1):21-23.
- Reddy PP, Nagesh M, Divappa V, Kumar MVV. Management of *Meloidogyne incognita* on tomato by integrating endomycorrhiza, *Glomus mosseae* with oil cakes under nursery and field conditions. *Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*. 1998;105(1):53-57.
- Fernández E, Sánchez Lourdes, Mena J, Hidalgo L, Montes M. Alternativas de control de nematodos en Cuba: situación actual y perspectivas. *Nematropica*. 2000; 30(2):127.
- Terry AE. Alternativas ecológicas para la producción de tomate en sistemas de cultivos protegidos. *Revista Agrotécnica de Cuba*. 2007;(31):1-3.
- Noval Blanca M de la. Influencia de la sistemía sobre la actividad β -1,3-glucanasa y quitinasa en plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). [Tesis]. México: Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV, Unidad Irapuato); 2000.
- Casanova A, Gómez Olimpia, Pupo FR, Hernández M, Chailloux Maritza, Depestre T, et al. Manual para la producción Protegida de Hortalizas. MINAG-Viceministerio de Cultivos Varios-IHLD, editors. La Habana, Cuba; 2003.
- Fernández G, Gómez R, Vanegae LF, Noval Blanca M de la, Martínez NA. Producto Inoculante Micorrizante. Oficina Nacional de la propiedad industrial. Patente 22641. 2000.
- Rivera R, Fernández F, Hernández A, Martín JR, Fernández Kalyanne. El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia una agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe. INCA, La Habana, Cuba; 2003.
- Hussey RS, Barker KB. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Dis*. 1973;57:1025-1028.
- Philip JM, Hayman SD. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection-trans. *Br Mycol. Soc*. 1970;55:158-161.
- Giovanetti M, Mosse B. An evaluation of techniques to measure vesicular-arbuscular infection in roots. *New Phytologist*. 1980;84:489-500.

14. Trouvelot A, Kough J, Gianinazzi-Pearson V. Mesure du Taux de Mycorrhization VA d'un Systeme Radiculaire. Recherche de methodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S, editors. Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. 1986: Proceeding of the 1st European Symposium on Mycorrhizae; 1985 July 15; INRA Dijón, Paris; 1985. p. 217-222.
15. Taylor AL, Sasser JB. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). N. C. State Univ., Raleigh; 1978.
16. Barker KR. Sampling nematode communities. In: Barker KR, Carter CC, Sasser JN, editors. An advanced Treatise on *Meloidogyne*. Vol. II: Methodology. North Caroline State University: Dept Plant Pathology and United State Agency for International Development; 1985. p. 3-35.
17. Hooper DJ. Handling, fixing, staining and mounting nematodes. In: Southey JF, editor. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. UK; 1986; p. 59-80.
18. Paulitz T, Liderman R. Mycorrhizal Interactions with Soil Organism, Soil and Plants. In: Arora D, Rai B, Mukey K, Knudsen G, editors. Handbook of Applied Micology. N.Y: Mareel Dekker; 1991. p. 77-129.
19. Borowicz Victoria. When enemies attack do plants get by with a little help from their friends? New Physiologist. 2006;(169): 644-646.
20. Bais HP, Weir TL, Perry LG, Gilroy S, Vivanco JM. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. Annual Review of Plant Biology. 2006; (57):233-266.
21. Handoo AZ. Plant parasitic nematodes, a general article writing for plant quarantine inspectors. [serial on the internet]. 2002 [cited 2002 march 6]. Available from: <http://sun.ars-grin.gov/ars/Beltsville/barc/psi/nem/aphised.htm>.
22. Sikora RA, Fernández E. Nematode parasites of vegetables. In: Luc M, Sikora RA, Bridge J, editors. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. 2da Edición. Wallingford CABI Publishing, UK. 2005;319-392.
23. Whitehead AG. Sedentary endoparasites of Roots and Tubers (II. *Meloidogyne* and *Nacobbus*). In: Whitehead AG, editor. Plant Nematode Control. CAB International, Wallingford, UK; 1998. p. 209-260.
24. Karssen G, Moens M. Root-knot nematodes. In: Perry R, Moens M, editors. Plant nematology. CABI, UK; 2006. p. 59-90.
25. Pinochet J, Calvet Cinta, Campruvi Amelia, Fernandez Carolina. Growth and nutritional response of Nemared peach rootstock infested with *Pratylenchus vulnus* and the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. Fundam. Appl. Nematol. 1995;18(3):205-210.
26. Diongzon MLD, Gapasin RM. Animal manure and mycorrhiza applied singly and in combination for the control of the rice root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* (Golden and Birchfield) in green onion (*Allium fistulosum* L.). Philippine Journal of Crop Science. 2000;25(1):26.
27. Zunke U, Perry, RN. Nematodes and beneficial organism. In: Recycling Processes, Nutrient Fluxes and Agricultural Production, editors. Fauna Ecosystems. Gero Benckiser Institute for Applied Microbiology, Justus Liebig University Giessen, Germany; 1997. p. 85-124.
28. Hussey RS, Roncadori RW. Vesicular-arbuscular mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth. Plant Dis. 1982;(66):9-14.
29. O'Bannon JH, Nemeček S. The response of *Citrus lemon* seedlings to a symbiont *Glomus etunicatus*, and the pathogen *Radopholus similis*. J. Nematol. 1979;(11):270-275.
30. Fernández E, González J, Herrera R, Escobar Mercedes. Potencialidades del uso de micorrizas como alternativa de manejo de nematodos. En: Proceeding of the V Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal. La Habana. 2004.
31. Azcón-Aguilar C, Jaizme-Vega MC, Calvet C. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil-borne plant pathogens. In: Gianinazzi S, Schüepp H, Barea JM, Haselwandter K, editors. Mycorrhizal Technology in Agriculture: from Genes to Bioproducts. Birkhäuser Verlag, Switzerland; 2002. p. 187-197.

32. Gheysen G, Jones JT. Molecular aspects of plant-nematode interactions. In: Perry R, Moens M, editors. *Plant nematology*. CABI, UK; 2006. p. 234-254.
33. Siddiqi ZA, Mahmood I. Biological control of *Heterodera cajanai* and *Fusarium udum* by *Bacillus subtilis*, *Bradyrhizobium japonicum* and *Glomus fasciculatum* on pigeonpea. *Fundam. Appl. Nematol.* 1995;18(6):559-566.
34. Jaizme-Vega M.C, Rodríguez-Romero AS. Uso de micorrizas en banano: Logros y perspectivas. In: XVI Reunión Internacional Acrobot. Publicación Especial. 2004. p. 143.
35. Masadeh B, von Alten H, Grunewaldt-Stoecker G, Sikora RA. Biocontrol of root knot nematodes using the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and the antagonist *Trichoderma viride* in two tomato cultivars differing in their suitability as hosts for the nematodes. *Plant Diseases and Plant Protection.* 2004;111(4):322-333.
36. Puertas Ana, de la Noval Blanca M, Martínez B, Miranda Ileana, Fernández F, Hidalgo L. Interacción de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* con *Rhizobium* sp., *Trichoderma harzianum* y *Glomus clarum* en el control de *Meloidogyne incognita*. *Rev. Protección Veg.* 2006;21(2):80-89.
37. Waceke JW, Waudu SW, Sikora R. Effect of inorganic phosphate fertilizers on the efficacy of an arbuscular mycorrhiza fungus against on root-knot nematode on pyrethrum. *Nematology.* 2002;4(2):310
38. Barea JM, Azcón R, Azcón-Aguilar C. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie van Leeuwenhoek.* 2002;(81):343-351.
39. Sasser JN, Carter CC. Root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. Identification, morphology and physiology variation, host range, ecology and control. In: Sasser JN, Carter CC, editors. *An advanced treatise on Meloidogyne*. Biology and control. North Carolina State University, Raleigh; 1985.
40. Bello A. Biofumigation and integrated crop management. In: Bello A, González JA, Arias María, Rodríguez-Kabana R, editors. *Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries*. Gráficas Papallona SCV, España; 1997. p. 99-126.
41. Muchovej RM. Importance of Mycorrhizae for Agricultural Crops. SS-AGR-170, Agronomy Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 2005. Consultada: 3 mar 2005. Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu>.
42. Sikora RA. Einfluss der endotrophen mykorrhiza (*Glomus musseae*) auf das wirt-parasit-verhältnis Von *Meloidogyne incognita* in tomaten. *Zeitschrift Pftanzenkrankheiten und Pflanzenschutz.* 1978;(85):197-102.
43. Treto Eolia, García Margarita, Martínez VR, Febles JM. Avances en el manejo de los suelos y la nutrición orgánica. In: Funes F, García L, Bouque M, Perez Nilda, Rosset P, editors. *Transformando el campo cubano. Avances de la Agricultura Sostenible*. ACTAF, Cuba. 2001. p. 167-190.

(Recibido 16-3-2007; Aceptado 5-11-2007)