

Artículo original

USO DE LA BIOFUMIGACIÓN PARA EL MANEJO DE *Meloidogyne* spp., EN LA PRODUCCIÓN PROTEGIDA DE HORTALIZAS

Lucila Gómez, E. González, R. Enrique, M.A. Hernández, Mayra G. Rodríguez

Dirección de Protección de Plantas. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. Correo electrónico: lucila@censa.edu.cu

**RESUMEN:** Se evaluó el efecto de la biofumigación del suelo con estiércol vacuno sobre *Meloidogyne* spp., en un túnel de cultivo protegido durante dos ciclos sucesivos de tomate y pepino. El estiércol vacuno semi-descompuesto se incorporó al suelo de los canteros ( $10\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$  de suelo<sup>-1</sup>) antes del establecimiento de los cultivos. Para determinar el efecto de la biofumigación sobre las poblaciones de *Meloidogyne* spp. en el suelo, se determinó el índice de infestación antes y después de la biofumigación, utilizando el método indirecto de bioensayo por planta indicadora, a partir de muestras colectadas a lo largo de los cinco canteros del túnel. Previo a la conformación de los semilleros, las semillas de cada cultivo se peletizaron con ECOMIC<sup>®</sup> (10% del peso de la semilla) y recibieron la aplicación de FITOMAS (3mL. L de agua<sup>-1</sup>). Al término de cada cosecha se extrajeron las raíces en su totalidad y se determinó el grado de agallamiento. También se registraron los rendimientos de cada cultivo, expresados en kg de producto.túnel<sup>-1</sup>. El índice de infestación en suelo por *Meloidogyne* spp., después de la biofumigación disminuyó de 4,8 a 1,8 grados. El grado de agallamiento al final de cada ciclo de los cultivos evaluados se mantuvo por debajo de tres y los rendimientos alcanzados superaron en un 50% el obtenido en cosechas anteriores. En este trabajo se confirma que la biofumigación de suelos es una alternativa práctica para el manejo de *Meloidogyne* spp. en la producción protegida de hortalizas.

(Palabras clave: estiércol vacuno; ECOMIC; FITOMAS; índice de infestación; grado de agallamiento; hortalizas)

USE OF BIOFUMIGATION FOR THE MANAGEMENT OF *Meloidogyne* spp. IN VEGETABLE SHELTERED PRODUCTION

**ABSTRACT:** The effect of soil biofumigation on *Meloidogyne* spp. during two crop cycles (tomatocucumber) grown under sheltered conditions was evaluated. Semi-rotted cattle manure, used as the biofumigation material, was incorporated in the soil of the plots at a dose of  $10\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  of soil<sup>-1</sup>. Before and after biofumigation, the soil infestation index of *Meloidogyne* spp. was determined in soil samples taken along the five plots of the tunnel using the indirect bioassay method. The seeds of both tomato and cucumber crops were pelleted with ECOMIC<sup>®</sup> (10% of seed weight) and FITOMAS (3 mL.L of water<sup>-1</sup>) before the seedbeds were set up. The entire root system of each crop was removed from the soil at the end of the harvest. The gall index in the root system of both crops was evaluated. The yields of each crop were also recorded as kg of product per tunnel. The infestation level of the soil after biofumigation decreased from 4,8 to 1,8

degree. The gall index at the end of each crop cycle was always below three. The yields achieved in both crops were 50% higher than those obtained in these crops before this experiment. The results of this work confirm that soil biofumigation is a practicable alternative for the management of the root-knot nematode *Meloidogyne* spp. in the vegetable production under sheltered conditions.

(Key words: cattle manure; ECOMIC; FITOMAS; infestation level; gall index; vegetable)

## INTRODUCCIÓN

Los nematodos formadores de agallas en las raíces del género *Meloidogyne* Göldi, representan una de las plagas más importantes en los cultivos a nivel mundial, principalmente en los países tropicales y subtropicales donde se encuentran ampliamente distribuidos, ocasionando severas pérdidas económicas fundamentalmente en los cultivos hortícolas. En Cuba, las especies de *Meloidogyne* más frecuentes asociadas a la producción protegida de hortalizas son *M. incognita* (Kofoid y White) Chitwood y *M. arenaria* (Neal) Chitwood, sin embargo, estas pueden estar cohabitando con *M. mayaguensis* Rammah y otras especies del género (1).

En los últimos años, el empleo de productos químicos sintéticos en la agricultura ha sido limitado debido a problemas relacionados con la salud ambiental y humana. En este sentido el equipo de trabajo de Nematología Agrícola, del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, realiza diferentes investigaciones que contribuyen a la búsqueda de alternativas no químicas y a la disminución del impacto negativo de los nematodos fitoparásitos. Se han estudiado estrategias de manejo que integran tácticas como la biofumigación de suelos, rotaciones de cultivos, el uso de plantas trampa, entre otras, en la producción protegida de hortalizas.

El objetivo de este trabajo es evaluar el uso de la biofumigación del suelo con estiércol vacuno en la disminución de poblaciones de *Meloidogyne* spp., en dos ciclos de cultivos (tomate y pepino) en un túnel de producción protegida de hortalizas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en un túnel de cultivo protegido previamente cosechado de tomate (*Solanum lycopersicum* L cv. HA-3019) en la unidad "Las Antenas" perteneciente a la Empresa Ciudad de La Habana 1. Para determinar el índice de infestación por *Meloidogyne* spp., se procedió a la recolección de ocho muestras de un 1kg de suelo, compuestas por submuestras de 200g cada una, a una profundidad entre 30 y 35 cm, a lo largo de los cinco canteros del túnel. Para ello se utilizó el método sistemático aleatorizado de Barker (2).

El índice de infestación se determinó a través del método indirecto de bioensayo por planta indicadora. El cultivo utilizado para este fin fue tomate var. Campbell-28, que se trasplantó a macetas de 1,5 L de capacidad contentivas del suelo muestreado. Las plantas se mantuvieron en los aisladores biológicos de CENSA durante 35 días, con riego en días alternos. Al finalizar este tiempo, las raíces se extrajeron, se lavaron cuidadosamente y se les determinó el índice de agallamiento a través de la escala de Taylor y Sasser (3) mediante el conteo de agallas bajo el estéreo microscopio (Zeiss). Este índice de agallamiento fue el indicador de la población inicial de *Meloidogyne* spp. en el túnel.

En el suelo del túnel muestreado se practicó la táctica de la biofumigación con el uso estiércol vacuno semi-descompuesto, aplicado y homogenizado a lo largo de los canteros, tratando de cubrir toda el área de plantación. La dosis utilizada fue de 10kg de estiércol.m<sup>2</sup> de suelo<sup>-1</sup>. Se aplicó un riego fuerte y se cubrieron los canteros con mantas plásticas. Las mantas utilizadas para este fin fueron las que se emplean para cubrir el suelo de los pasillos del túnel. El proceso de biofumigación se extendió por 21 días, al término de los cuales se retiraron las mantas y se dejó reposar el suelo por 24 horas. Seguidamente se repitió el muestreo de suelo para determinar el índice de infestación por planta indicadora como se explicó anteriormente y se procedió al trasplante de las posturas de tomate var. ARO 8479. Al finalizar la cosecha se extrajeron todas la raíces remanentes del cultivo y se preparó el suelo para un segundo ciclo de pepino (*Cucumis sativus* L. var. Danito). Las medidas fitotécnicas empleadas durante el desarrollo de los cultivos se realizaron de acuerdo a lo establecido por Casanova *et al.* (4).

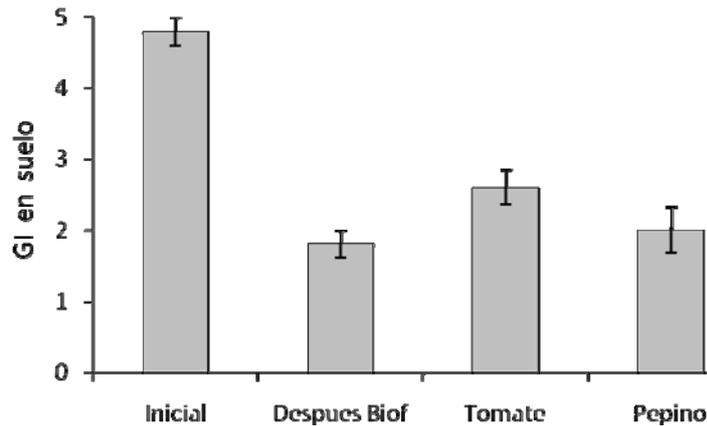
Al término de cada cosecha se practicaron muestreos de suelo siguiendo la metodología explicada anteriormente. Adicionalmente se analizó un total de 120 planta por cada cultivo, siguiendo la metodología de Barker (2), para evaluar el índice de agallamiento (IA) por sistema radical a través del conteo de agallas.

Las posturas de tomate var. ARO 8479 y de pepino var. Danito, de 25 días de germinadas, recibieron un beneficio a la semilla antes de su siembra en cepellones en las casas de posturas, con FITOMAS-E, a una concentración de 3 mL.L de agua<sup>-1</sup> y se peletizaron con ECOMIC<sup>®</sup> al 10 % del peso de la semilla. También se realizaron aplicaciones de FITOMAS-E (3 mL.L de agua<sup>-1</sup>) a los cultivos en la etapa de plantación, con una frecuencia de 14 días a partir de los 21 días de plantados. Los rendimientos de ambos cultivos se registraron al término de las cosechas, expresándose en kg de producto.túnel<sup>-1</sup>.

Para determinar la influencia de la biofumigación en la disminución de las poblaciones de *Meloidogyne* spp., en suelo se aplicó un Análisis de Varianza Simple y la comparación entre las medias se realizó a través de la prueba de rangos múltiples de Duncan en los casos donde existieron diferencias (p<0,05).

## RESULTADOS

El grado de infestación inicial por *Meloidogyne* spp., en el suelo del túnel evaluado fue de 4,8 grado. Después de la biofumigación se observaron diferencias significativas en los diferentes momentos de evaluación. El muestreo de suelo después de la biofumigación reveló una disminución de las poblacionales de *Meloidogyne* spp., Sin embargo, después del ciclo de cultivo del tomate se observa un ligero aumento que difirió significativamente con el resultado obtenido después del ciclo del pepino. En este último ciclo los niveles poblacionales de nematodos en el suelo no difirieron significativamente del obtenido después de la biofumigación (Fig. 1).



**FIGURA 1.** Grado de infestación por *Meloidogyne* spp. en el suelo antes y de después de la biofumigación y al final de cada ciclo de cultivo./ Soil infestation by *Meloidogyne* spp., before and after biofumigation, and at the end of each crop cycle.

Por su parte, las plantas evaluadas de cada cultivo después de la biofumigación, presentaron un grado de agallamiento que se clasifica de moderado a bajo, según la escala empleada, con diferencias significativas entre ellas. En el caso del tomate, el grado de agallamiento promedio fue de 2,5, donde solo 11 plantas presentaron grado 4. Por su parte en el pepino, solamente 15 plantas presentaron grado de agallamiento entre 2 y 3 grados; el resto se encontraban entre grado 0 y 1.

En ambos cultivos las plantas con síntomas en las raíces, se encontraban localizadas en pequeños parches dentro del túnel y las agallas eran coalescentes, de medianas a grandes, con pocas hembras de nematodo en su interior y escasos huevos (datos no mostrados).

El rendimiento alcanzado en el cultivo del tomate fue de 678,7kg.túnel<sup>-1</sup>. En el caso del pepino el rendimiento obtenido fue de 1545 kg.túnel<sup>-1</sup>.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la primera evaluación de suelo mostró la alta infestación (grado 4,8), por nematodos formadores de agallas del género *Meloidogyne*. Este hallazgo no resulta sorprendente si tenemos en cuenta los trabajos realizados por Gómez (1) y Rodríguez *et al.* (5) sobre el diagnóstico y manejo de *Meloidogyne* spp., en la producción protegidas de hortalizas en Cuba. Estos autores señalan que en estos sistemas la incidencia de *Meloidogyne* spp, es alta, pudiendo aparecer varias especies y poblaciones mezcladas en un mismo suelo y raíz. Trudjill y Blok (5), aseveran que las especies más patogénicas y de mayor distribución e importancia en el mundo son aquellas que se reproducen por partenogénesis mitótica. Dentro de este grupo se encuentran especies que han sido informadas por Gómez (1) en los suelos destinados a la producción protegida de hortalizas en Cuba (*M. incognita*, *M. arenaria* y *M. javanica* (Treub) Chitwood). Estas especies poseen un amplio rango de hospedantes, un ciclo de vida corto y un alto potencial de reproducción que garantiza el desarrollo de varias generaciones en un mismo ciclo de cultivo (7). Estas características, unidas al efecto de las altas temperaturas que se generan en el interior de las casas de cultivo protegido en las condiciones de Cuba y a la ausencia de medidas de manejo, favorecen el aumento exponencial de las poblaciones de *Meloidogyne* spp., en el suelo.

Se sabe que los juveniles infestivos ( $J_2$ ), único estadio migratorio de *Meloidogyne*, son los responsables de la infestación a los cultivos susceptibles. Durante el curso del parasitismo y desarrollo dentro del vegetal, induce cambios bioquímicos y fisiológicos en los tejidos, que dan lugar a la formación de agallas en las raíces. Según El-Sherif *et al.* (8), en la medida que aumenta el nivel poblacional de los nematodos en el suelo, aumenta el índice de agallamiento en los cultivos susceptibles y viceversa.

El análisis de suelo después de la biofumigación con estiércol vacuno y al final de cada ciclo de cultivo (Fig. 1) confirma el efecto de esta táctica de manejo en la reducción de las poblaciones de  $J_2$ . Bello *et al.* (9) plantean que durante la descomposición de la materia orgánica del suelo en el proceso de biofumigación, se liberan un número de sustancias volátiles que tienen efecto nematicida. En este sentido la incorporación al suelo de desechos orgánicos de origen animal, como el estiércol vacuno, ha mostrado sus bondades en el control de numerosos microorganismos del suelo, entre los que se encuentran los nematodos del género *Meloidogyne*. El mecanismo de acción de estos productos no se conoce a ciencia cierta; sin embargo se plantea que su actividad probablemente dependa de la liberación o formación de niveles de amonio que son tóxicos para los nematodos (10). Con relación a esto, Akhtar y Malik (11) plantean, que el efecto nematicida de estos productos no solamente depende de los niveles de amonio, sino también del contenido de carbono.

Las enmiendas que poseen una relación C:N estrecha, tales como los desechos de origen animal, en este caso el estiércol vacuno, proporcionan un mayor control que aquellos que poseen una relación C:N más amplia. Igualmente, pueden mejorar considerablemente el ambiente y las condiciones físico-químicas del suelo, potenciando la acción de los agentes de control biológico (12), así como también aportando elementos que favorecen la nutrición de los cultivos (13).

En este sentido los resultados alcanzados concuerdan con los obtenidos por numerosos autores. Por su parte Gómez (1), comparó el efecto de la biofumigación con estiércol vacuno y el uso de productos químicos, lográndose una reducción del número de  $J_2$  de *M. incognita* en el suelo en ambos casos, con diferencias altamente significativas con el control sin tratar. El uso de tácticas que de una manera u otra provoquen la disminución del número de  $J_2$  en el suelo, resulta vital para la salud del cultivo, por lo que la biofumigación con materiales orgánicos puede constituirse en una alternativa de manejo que sustituya la aplicación de productos químicos.

Cuando se analizó el grado de agallamiento en los cultivos empleados, se evidenció una disminución significativa de la cantidad de juveniles infestivos que afectaron a estos cultivos durante cada ciclo respectivamente, especialmente en el tomate donde el índice de agallamiento no alcanzó valores superiores a grado 3. Este resultado se hace más evidente si se tiene en cuenta que ambos cultivos son susceptibles al ataque de *Meloidogyne* spp.

En el caso del pepino, los valores del índice de agallamiento fueron inferiores a los obtenidos en el tomate. Esto puede ser posible por varias causas o la combinación de ambas. Entre estas, un aspecto que pudiera estar relacionado con el bajo índice de infestación obtenido en las raíces de este cultivo es el inherente a la variedad o a la familia a la cual pertenece. Según Johnson (14), la mayoría de las variedades de pepino parecen ser más resistentes a *M. arenaria* y *M. hapla* Chitwood que a *M. incognita* y *M. javanica*. Sin embargo, hasta la fecha, existe muy poco o ningún progreso en el desarrollo de variedades o híbridos resistentes a nematodos formadores de agallas en las Cucurbitáceas, por lo que no se dispone de variedades o híbridos comerciales que pudieran ser utilizados con este fin. En este trabajo no se determinó la/s especie/s de *Meloidogyne* presente en el suelo, pero se conoce que las especies más frecuentes en la producción protegida de hortalizas en Cuba son *M. incognita* y *M.*

*arenaria*, fundamentalmente, en la región occidental del país (1). Otros factores que pudieron haber influido en el comportamiento del pepino son los inherentes al proceso de descomposición de la materia orgánica. Bello *et al.* (15) plantean, que después de aplicada la biofumigación pueden estar liberándose compuestos tóxicos a nematodos hasta alrededor de dos años. Por otra parte, la extracción total de las raíces de tomate, método recomendado por Casanova *et al.* (4) para evitar la re-infestación del suelo por las raíces infestadas del cultivo precedente, pudo haber contribuido en la disminución de la cantidad de  $J_2$  en el suelo cuando se plantó el pepino.

Cuando se analiza el comportamiento de los rendimientos en el cultivo del tomate se aprecia un aumento considerable (50,8%) con respecto al cultivo anterior (450 kg.túnel<sup>-1</sup>). Es posible que el uso de los bioensumos FITOMAS-E y ECOMIC<sup>®</sup>, conjuntamente con el efecto de la biofumigación, pudiera haber contribuido a la mejora de las condiciones agronómicas de los cultivos y posiblemente en sus rendimientos. En relación al pepino, se plantea que cuando este es plantado después del uso de variedades de tomate resistente a *M. incognita*, los rendimientos se incrementan sustancialmente (16). En este estudio, el tomate empleado no contiene genes de resistencia a *Meloidogyne* spp., sin embargo, la estrategia de manejo adoptada contribuyó a la disminución del fitonematodo en el suelo y a la mejora de las condiciones agronómicas durante el ciclo de este cultivo, lo cual redundó en una menor afectación de sus rendimientos.

En este trabajo se demuestran los beneficios que aporta la integración de tácticas no químicas en el manejo de *Meloidogyne* spp., y en la mejora de los rendimientos de los cultivos de tomate y pepino bajo sistemas de producción protegida de hortalizas.

## REFERENCIAS

1. Gómez L. Diagnóstico de nematodos agalleros y prácticas agronómicas para el manejo de *Meloidogyne incognita* en la producción protegida de hortalizas. Tesis para optar por el Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. UNAH- CENSA; 2007.
2. Barker KR. Sampling nematode communities. En: Barker KR, Carter CC, Sasser JN. editors. An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Vol. II: Methodology. Dept. Plant Pathology and United State Agency for International Development. North Carolina State University. 1985; p. 3-35.
3. Taylor AL, Sasser JB. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). 111. Dept. Pl. Pathol. NC. State Univ., Raleigh; 1978.
4. Casanova AS, Gómez Olimpia, Pupo RF, Hernández M, Chailloux Marisa, Depestre T, et al. Manual para la producción protegida de hortalizas. MINAGRI-VCV-IIHLD, La Habana. Cuba; 2007. p. 138.
5. Rodríguez MG, Gómez L, Cuadra R, Díaz-Viruliche L, Fernández E, Casanova A, et al. Nematodos formadores de agallas en Sistemas de Cultivos Protegidos: Diagnóstico y Manejo. Informe Final de Proyecto. Programa Ramal de Hortalizas MINAG. Lab. Nematología. CENSA; 2006. p. 171.
6. Trudgill D, Blok VC. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. Annu Rev Phytopathol. 2001;39:53-77.
7. Karszen G, Moens M. Root-knot nematodes. En: Perry R, Moens M, editors. Plant nematology. CABI, UK; 2006. p. 59-90.
8. El-Sherif AG, Refael AR, El-Nagar ME, Hagar M, Salem M. The role of eggs inoculum level of *Meloidogyne incognita* on their reproduction and host reaction. Afr J Agric Res. 2007;4:159-163.

9. Bello A, López-Pérez JA, Díaz-Viruliche L, Tello J. Alternatives to Methyl Bromide for soil fumigation in Spain. En: Labrada R. editors. Report on validated Methyl Bromide Alternatives. FAO, Rome; 2001. p.13.
10. Viaene N, Coyne DL, Kerry BR. Biological and cultural management. En: Perry RN, Moens M, editors. Plant nematology. CABI, UK; 2006. p. 346-359.
11. Akhtar M, Malik A. Role of organic soil amendments and soil organism in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. Bioresource Technology. 2000;74: 35-47.
12. Kirkegaard JA, Matthiessen JN. Developing and refining the biofumigation concept. Proceedings 1<sup>st</sup> International Symposium on Biofumigation, 31 Marzo-1 Abril. 2004, Florence, Italy.
13. Magunacelaya JC. Control de nematodos fitoparásitos mediante uso de materia orgánica. (En línea). Disponible en: [http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias\\_agronicas/montealegre](http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_agronicas/montealegre). (Consultada: 2 Sep 2005).
14. Johnson AW. Vegetable crops. Plant and Nematode interactions. En: Barker KR, Pederson GA, Windham GI, editors. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin; 1998. p. 595-636.
15. Bello A, López-Pérez JA, Arcos SC, La Casa A. Biofumigación, Biodiversidad del suelo y biomasa vegetal en el cultivo del pimiento. En: 33<sup>a</sup> Reunión Anual de la Organización de Nematólogos del Trópico Americano (ONTA). Varadero, Cuba; 2001. p. 21.
16. Sikora RA, Fernández E. Nematode parasites of vegetable. En: Lucc M, Sikora RA, Bridge J, editors. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. CAB International, UK; 2005. p. 319-393.

**(Recibido 3-11-2009; Aceptado 11-3-2010)**