

BIODESINFECCIÓN DE SUELOS CON CO-PRODUCTOS DE CIKRON-H. EFECTO SOBRE EL CULTIVO¹

Lucila Gómez*, Mayra G. Rodríguez*, R Enrique*, Dainé Hernández*, Yanet Rodríguez**,
Luz María Sánchez**, Adelay Lorenzo****, Luisa Díaz Viruliche****

*Grupos de Plagas Agrícolas**, *Desarrollo y Biotecnología Industrial*** y *Farmacología-Toxicología****.
Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas,
*Mayabeque, Cuba. Correo electrónico: lucila@censa.edu.cu. ****Facultad de Agronomía,*
Universidad Agraria de la Habana (UNAH). Carretera de Tapaste y Autopista Nacional,
San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: Se evaluó el efecto de la biodesinfección de suelos con co-producto de CIKRON-H sobre el crecimiento de *Lactuca sativa* var BSS y *Solanum lycopersicum* L. var. Campbell-28, plantados en sucesión en macetas de 5L de capacidad. El co-producto se incorporó al suelo a una dosis de 3kg.m² de suelo⁻¹ y se utilizó un nivel de 5 Juveniles-huevos.g⁻¹ de suelo para corroborar el efecto supresor sobre *Meloidogyne incognita* Kofoid y White (Chitwood). Se aplicó un diseño completamente aleatorio con seis tratamientos y cinco réplicas cada uno. La lechuga se trasplantó siete días después de la biodesinfección y al finalizar el ciclo se trasplantó tomate. Se evaluó el crecimiento de las plantas y se analizó el índice de agallamiento en las raíces. Se cuantificó además el número de nematodos saprobióticos en el suelo antes y después de la biodesinfección. Se demostró que la biodesinfección de suelo con co-producto de CIKRON-H, a la dosis utilizada, no afectó el crecimiento de los cultivos y se corroboró su efecto supresor sobre *M. incognita* y estimulador de las poblaciones de nematodos saprobióticos en el suelo.

(Palabras clave: *Meloidogyne incognita*; nematodos saprobióticos; *Solanum lycopersicum*; *Lactuca sativa*; *Rhizophora mangle*)

SOIL BIODISINFECTION USING CIKRON-H BY-PRODUCTS. EFFECTS ON CROP

ABSTRACT: The effect of the soil bio-disinfection, using CIKRON-H by-products, on the growth of potted *Lactuca sativa* var BSS and *Solanum lycopersicum* L. var. Campbell-28 in a cropping succession was evaluated. CIKRON-H by-product was incorporated to the soil in a dose of 3kg.m² of soil⁻¹. A population of *Meloidogyne incognita* Kofoid y White (Chitwood) was inoculated to the soil, in a dose of five infestive juveniles-eggs.g⁻¹ of soil, to corroborate the root-knot nematode suppressive effect of CIKRON-H by-product. A completely randomized design with six treatments and five replications each was used. The total population of saprophytic nematodes after and before bio-disinfection was also recorded. Soil bio-disinfection did not affect the plant growths. The reduction of *M. incognita* infective juveniles in soil and root gall index were observed. It corroborates the nematicidal effect of CIKRON-H by-product against this population. The saprophytic nematode populations increased after bio-disinfection.

(Key words: *Meloidogyne incognita*; saprophytic nematodes; *Solanum lycopersicum*; *Lactuca sativa*; *Rhizophora mangle*)

¹ Investigación ejecutada en el marco del proyecto: Identificación, caracterización y bases para el manejo de fitonematodos. PNCT Biotecnología Agropecuaria, Cuba.

INTRODUCCIÓN

La biodesinfección de suelos se ha convertido en una táctica eficaz y económica para el manejo de diversas plagas edáficas de los cultivos. En la misma, se utilizan sustancias volátiles resultantes de la biodegradación de enmiendas orgánicas y residuos agroindustriales. Entre sus múltiples ventajas se encuentra la posibilidad de ofrecer una opción para el cierre a ciclo completo de numerosas industrias, como la biofarmacéutica, donde se generan subproductos que contienen alcoholes, fenoles y ácidos orgánicos, con efecto tóxico sobre las poblaciones de nematodos fitoparásitos (1).

Durante el proceso de producción del CIKRON-H, biofármaco producido a partir de la corteza de *Rhizophora mangle* L., se obtiene un producto residual que posee efecto supresor de *Meloidogyne incognita* Kofoid y White (Chitwood) (2).

Recientemente Gómez *et al.* (3), confirmaron este efecto y demostraron además, que cuando se utiliza como biodesinfectante del suelo estimula la fauna de nematodos saprófitos y aumenta el contenido de materia orgánica del suelo. Sin embargo, estos autores no recomendaron su uso en la práctica social. Se observó un pobre crecimiento de *Solanum lycopersicum* L. var. Campbell-28 que podría estar relacionado con el método de aplicación del co-producto o con la formación de compuestos fitotóxicos liberados en el proceso de descomposición del material orgánico en el suelo.

El propósito de este trabajo es evaluar el efecto de un método de aplicación del co-producto de CIKRON-H sobre los cultivos *S. lycopersicum*) y *Lactuca sativa* L.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en los aisladores biológicos del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Se utilizaron macetas plásticas de cinco litros de capacidad contentivas de suelo Ferasol Eutrico, no estéril, proveniente de las áreas agrícolas de dicha institución.

El co-producto utilizado, fue el residual sólido obtenido en el proceso de extracción del ingrediente farmacéutico activo de la corteza de *R. mangle*, a partir del cual se elabora el biofármaco CIKRON-H.

Se realizó el pesquizado fitoquímico de este co-producto para determinar los principales grupos químicos presentes en el mismo, con el empleo del método descrito por Rondina y Coussio (4).

El diseño experimental y las evaluaciones del experimento se realizaron siguiendo la metodología utilizada por Gómez *et al.* (3), pero se disminuyó la dosis de aplicación del co-producto y se extendió el momento de trasplante del cultivo. La duración del experimento abarcó dos ciclos de cultivos, primero *L sativa* var Black Seeded Simpson (BSS) y después *S. lycopersicum* var Campbell-28.

El suelo de las macetas se infestó con juveniles infestivos (J_2) de *M. incognita* ($5 J_2 g^{-1}$ de suelo) antes de incorporar el co-producto de CIKRON-H a una dosis de $3 kg.m^{-2}$ de suelo⁻¹. Seguidamente se aplicó agua hasta la saturación y se cubrió con polietileno transparente durante 21 días. Al término de este tiempo se retiró el polietileno, se removió el suelo y se dejó reposar durante siete días. Apartir de este momento se trasplantó lechuga, que se mantuvo en las macetas por 30 días. Posteriormente se extrajeron las plantas en su totalidad, incluyendo el sistema radical, y se trasplantó tomate var. Campbell-28, con una duración de 60 días.

Se utilizó un diseño completamente aleatorio consistente en cinco tratamientos con cinco réplicas cada uno. Las macetas se mantuvieron con un régimen de riego regular para conservar el suelo a capacidad de campo. No se aplicó fertilización. Los tratamientos se describen a continuación: Tratamiento 1 (T1), el suelo se inoculó con juveniles infestivos (J_2) de *M. incognita* y se aplicó biodesinfección; Tratamiento 2 (T2), recibió biodesinfección pero no fue inoculado con J_2 ; Tratamiento 3 (T3), los J_2 se inocularon directamente al sistema radical del cultivo al siguiente día después del trasplante y no recibió biodesinfección; Tratamiento 4 (T4), los J_2 se inocularon al suelo al inicio del experimento pero no se aplicó la biodesinfección; Tratamiento 5 (T5), no se inoculó con J_2 ni se aplicó biodesinfección (control).

Para la extracción de los nematodos saprobióticos y los juveniles infestivos de *M. incognita* del suelo se empleó el método de centrifugación flotación (5). El conteo de estos organismos se realizó en una cámara contadora con la ayuda de un estereomicroscopio (ZEISS).

Se realizó el conteo del número de agallas por sistema radical en cada cultivo y se determinó el Índice de Agallamiento (IA) mediante la escala de seis grados de Taylor y Sasser (6).

Se estableció el número total de nematodos saprobióticos y de J_2 por gramo de suelo antes y después de aplicada la biodesinfección y al concluir cada

ciclo de cultivo. Se determinó la masa fresca del sistema aéreo (g) del primer cultivo y la altura de las plantas (cm) en el segundo. La masa fresca de las raíces (g) se registró al finalizar el ciclo de cada cultivo.

Para determinar la influencia de los tratamientos con biodesinfección en el crecimiento de las plantas, los resultados de los parámetros vegetativos de cada tratamiento se compararon entre sí y con los del control.

El efecto de la biodesinfección sobre las poblaciones de *M. incognita* y de nematodos saprobióticos en el suelo, se determinó en el Tratamiento 1, comparando los resultados al inicio y al final de la biodesinfección y al final del ciclo de cada cultivo. En el caso del IA, se compararon los valores registrados en todos los tratamientos inoculados con nematodos (T1, T3 y T4). Se utilizó un Análisis de Varianza Simple y para la comparación entre las medias se recurrió a la Prueba de Rangos Múltiple de Duncan, haciendo uso del paquete de programas SAS, versión 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El resultado del análisis fitoquímico del co-producto de CIKRON-H se muestra en la Tabla 1. La presencia de polifenoles aparece como componente mayoritario después de grupos fenólicos libres y aminos 1^{rios} y 2^{rios}, lo que coincide con lo informado por Sánchez *et al.* (7). Estos autores determinaron que los componentes mayoritarios del principio activo de *R. mangle* son los polifenoles, representados en su mayoría por taninos poliméricos (80%) y taninos hidrolizables (20%), dando especial énfasis a la presencia de epicatequina, catequina, ácidos clorogénico, gálico y elágico, así como también de galotaninos, elagitaninos y taninos condensados. Sin embargo, en este trabajo se obtuvo una menor concentración de taninos con respecto a la

informada por Sánchez *et al.* (7) porque la mayor concentración de estos compuestos se extrajo durante el proceso de obtención del principio activo de *R. mangle* para producir el CIKRON-H.

El crecimiento de la lechuga no se afectó por la biodesinfección del suelo con co-producto de CIKRON-H. La masa fresca de las plantas de los tratamientos con biodesinfección (T1 y T2), no mostró diferencias entre sí, ni con la de los tratamientos sin biodesinfección (T4 y T5). Sin embargo, las plantas del tratamiento T3 alcanzaron la menor masa, con diferencias significativas con los demás tratamientos (Fig. 1). Este resultado podría estar relacionado con la forma de inoculación de las larvas de *M. incognita*. En T3, las larvas se inocularon directamente al sistema radical, lo que propició el contacto directo con las raíces y por consiguiente medió menor tiempo entre la penetración y el daño, que a su vez se tradujo en un menor crecimiento del cultivo. En este sentido Sikora y Fernández (8) plantean que los nematodos del género *Meloidogyne* constituyen un factor extremadamente limitante en la producción de vegetales.

Por su parte, la masa fresca de las raíces mostró diferencias significativas entre los tratamientos con y sin biodesinfección. Pero, las plantas de los tratamientos inoculados con *M. incognita* presentaron una mayor masa radical, lo que debió estar relacionado a la presencia de agallas inducidas por el nematodo, las que al formar parte de la masa radical, proporcionan un peso adicional. Esta observación se ha informado por otros autores (9, 10).

La longitud de las plantas de tomate no mostró diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos ni de estos con el control (Fig. 2). Sin embargo, en la masa de la raíz se observó un resultado similar al de la lechuga.

TABLA 1. Resultados del pesquizado fitoquímico del co-producto de CIKRON-H./ *Results of the phytochemical screening of CIKRON-H by-product*

Reacción	Tipo de compuesto	Presencia		Concentración (%)
		Sí	No	
Ninhidrina	Aminos 1rios y 2rios	x		0.1
Cloruro férrico	Fenólicos libres	x		0.1
Gelatina	Taninos (polifenoles)	x		>0.5
Liebermann-Burchard	Triterpeno/Esteroides	x		Trazas
Hager, Wagner, Dragendorff, Mayer	Alcaloides	x		Moderada
Kedde	Glicósidos cardiotónicos		x	
Shinoda	Flavonoides		x	
Rosenheim	Leucoantocianidinas		x	
Espuma	Saponinas		x	

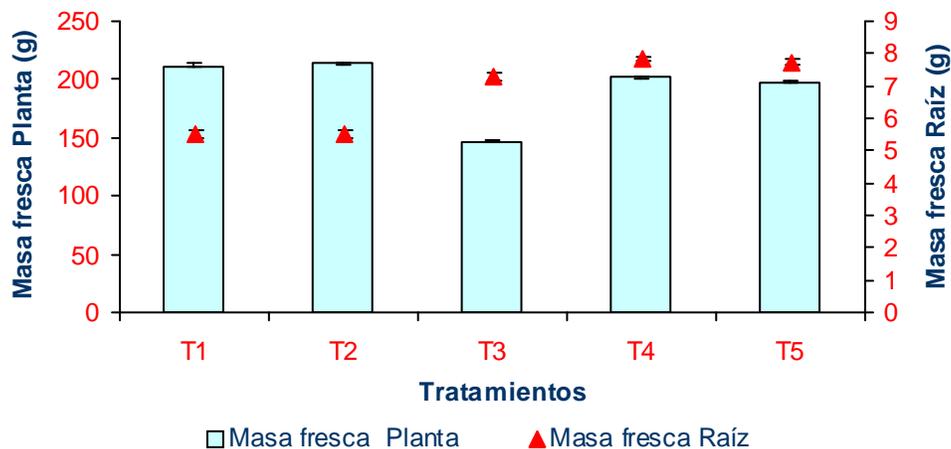


FIGURA 1. Efecto de la biodesinfección de suelo con co-producto de CIKRON-H sobre parámetros vegetativos en el cultivo de Lechuga var. BSS./ *Effect of soil biofumigation using CIKRON-H by-product on vegetative parameters of lettuce var. BSS.*

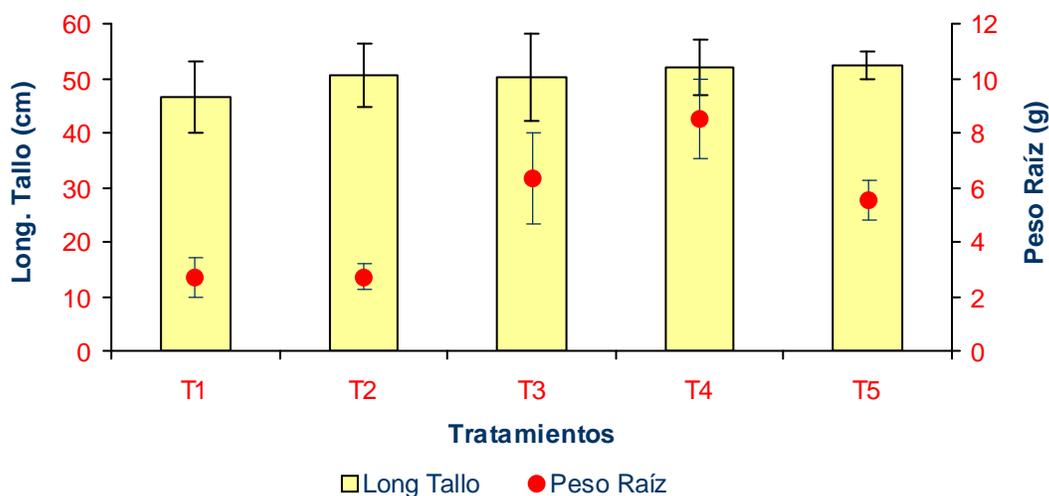


FIGURA 2. Efecto de la biodesinfección de suelo con co-producto de CIKRON-H sobre parámetros vegetativos en el cultivo de tomate var. Campbell-28./ *Effect of soil biofumigation using CIKRON-H by-product on vegetative parameters of tomato var. Campbell-28.*

En relación a la longitud del tallo de las plantas de tomate, los resultados no coinciden con los obtenidos por Gómez *et al.* (3). Estos autores informaron una reducción significativa del crecimiento de plantas de tomate var Campbell-28 crecidas en un suelo biodesinfestado con co-producto de CIKRON-H.

El método utilizado para aplicación de la biodesinfección y por el uso de una menor dosis del co-producto que la informada por Gómez *et al.* (3) podrían dar una explicación a los resultados alcanzados para ambos cultivos en este trabajo. El trasplante se realizó una semana después de levantados los plásti-

cos que cubrían las macetas, con remoción del suelo y riego en días alternos, lo que podría propiciar la lixiviación de los taninos presentes en el material y/o la evaporación de gases tóxicos desprendidos durante el proceso de descomposición del material en el suelo.

Con relación a las poblaciones de nematodos se aprecian diferencias significativas antes y después de la biodesinfección, así como también al finalizar cada ciclo de cultivo (Fig. 3).

La población de *M. incognita* en el suelo se redujo a niveles muy bajos después de la biodesinfección; pero después de la lechuga se observó un ligero aumento,

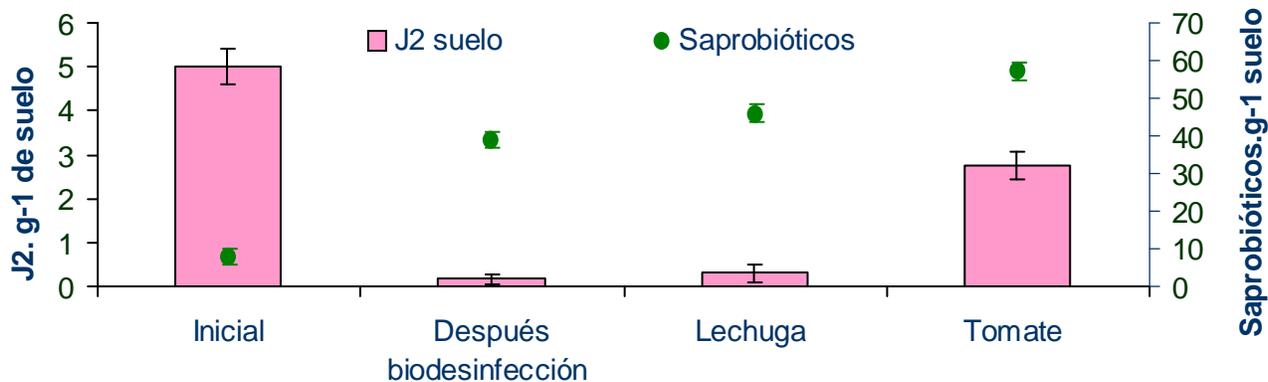


FIGURA 3. Efecto de la biodesinfección con co-producto de CIKRON-H sobre los juveniles infestivos de *M. incognita* (J_2) y saprobióticos totales en el suelo./ *Effect of soil bio-disinfection CIKRON-H by-product on *M. incognita* juveniles (J_2) and on the total number of saprophytic nematodes in the soil.*

aunque sin diferencias significativas. Sin embargo, posteriormente, después del tomate, la población del nematodo se incrementó de manera significativa con respecto a los niveles observados con anterioridad. Este resultado podría estar relacionado con la susceptibilidad de este cultivo a la especie de nematodo evaluada. No obstante, el nivel de nematodos en el suelo se mantuvo por debajo del inicialmente inoculado.

Las poblaciones de nematodos saprobióticos continuaron aumentando progresivamente hasta el término del experimento y con diferencias significativas en cada momento de evaluación. Este resultado coincide con lo informado por otros autores (11, 9).

Al respecto Díaz-Viruliche (12), informó que los biodesinfectantes incrementan la abundancia y diversidad de los nematodos saprófagos del grupo de los rhabdítidos, que actúan fundamentalmente en la descomposición de la materia orgánica en el suelo.

En este estudio se demuestra que, aunque se disminuyó la dosis de aplicación del co-producto, se man-

tiene el efecto supresor de *M. incognita* y estimulador de las poblaciones de nematodos saprobióticos observado por Gómez *et al.* (3).

Sin embargo, es importante la selección adecuada de los cultivos o cultivares a establecer en una rotación. Pues, aún cuando se practiquen medidas de manejo como la biodesinfección de suelos, las poblaciones de *Meloidogyne* spp., pueden alcanzar valores considerables en cortos períodos de tiempo sobre cultivares susceptibles como los que se evaluaron en este trabajo.

El IA de los cultivos en los tratamientos con biodesinfección fue inferior que en los demás tratamientos, con diferencias significativas entre estos (Fig. 4). Este resultado indica que pocas larvas de *M. incognita* invadieron el sistema radical de las plantas, al disminuirse la población en el suelo mediante la biodesinfección.

Al respecto, Stirling (13) indicó que los fenoles a ciertas concentraciones causan la muerte de las lar-

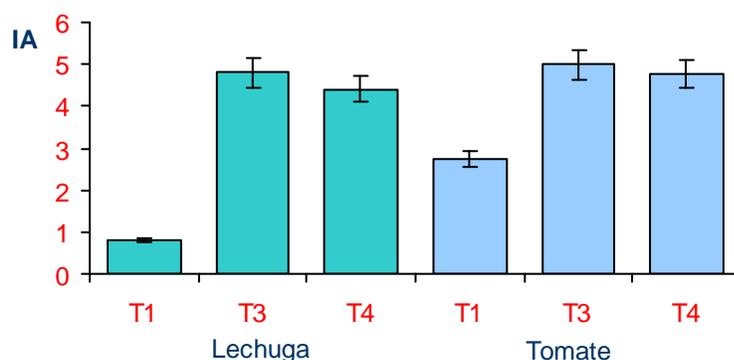


FIGURA 4. Efecto de la biodesinfección con co-producto de CIKRON-H sobre el Índice de Agallamiento (IA) inducido por *M. incognita* en raíces de lechuga var. BSS y tomate Campbell-28./ *Effect of soil bio-disinfection with CIKRON-H by-product on root gall index of lettuce var BSS and tomato var Campbell-28 crops.*

vas de *Meloidogyne* spp. en el suelo, lo que pudo haber sucedido durante el proceso de biodesinfección en este estudio y por consiguiente la reducción del número de larvas a penetrar y formar agallas en los cultivos evaluados.

Cuando se realizó la biodesinfección del suelo infestado por *M. incognita*, utilizando co-producto de CIKRON-H, a la dosis de 3kg.m² de suelo⁻¹ y se extendió el tiempo para el trasplante de los cultivos por una semana, se logró eliminar el efecto fitotóxico y se mantuvo la supresividad sobre las larvas del nematodo. Este resultado crea nuevas perspectivas para la optimización de la dosis de aplicación del co-producto con vistas a su utilización en los programas de manejo de nematodos agalleros.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dra. Ileana Miranda por las valiosas sugerencias y revisión del manuscrito.

REFERENCIAS

1. Bello A, García A, López-Pérez JA, Díaz-Viruliche, L. Fundamentos Científicos de la biofumigación. *Nematopica*. 2001;31(2):120.
2. Rodríguez Y, Gómez L, Pérez T, Rodríguez MG, Sánchez L, Soler DM. Effect of soil biofumigation using the solid residue of CIKRON-H on nematode populations. *Rev. Protección Veg.* 2009;24(1):66.
3. Gómez L, Rodríguez MG, Enrique R, Hernández D, Rodríguez Y, Lorenzo A, Díaz-Viruliche L. Evaluación del co-producto de CIKRON-H para la biodesinfección de suelos. Efecto nematicida. *Rev. Protección Veg.* 2011;26(3):149-156,
4. Rondina RVD, Coussio JD. Estudio fitoquímico de plantas indígenas argentinas. *Rev Invest Agropec.* 1969;6(22):352-366.
5. Jenkins, WR. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter.* 1964;48:692.
6. Taylor A, Sasser JN. Biology identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). State Univ, Raleigh; 1978. p. 111.
7. Sánchez PLM, Varcacel L, Escobar A, Noa M. Polyphenol and phytosterols. Composition in an antibacterial extract from *Rhizophora mangle* L.'s bark. *J. Herbal Pharmacother.* 2008; 7:107-128.
8. Sikora RA, Fernández E. Nematode Parasites of Vegetables. En: Luc M, Sikora RA, Bridge J, editors. *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture.* CAB International. UK; 2005. p. 319-392.
9. Gómez L, Rodríguez MG, Díaz-Viruliche L, González E, Wagner F. Evaluación de materiales orgánicos para la biofumigación en instalaciones de cultivos protegidos para el manejo de *Meloidogyne incognita*. *Rev. Protección Veg.* 2006;21(3):178-185.
10. Chitwood DJ. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2002;40:221-49.
11. Bello A, López-Pérez JA, García-Alvarez A, Sanz R. Biofumigation and nematodes control in the mediterranean region. *Nematology.* 2002;4(2):143.
12. Díaz-Viruliche, L. Alternativas AL bromuro de metilo como fumigante del suelo en España. En: Labrada R, editor. *Report on Validated Methyl Bromide Alternatives.* FAO, Rome; 2000. p.13.
13. Stirling GR. Biological control of plant-parasitic nematodes: Progress, problems and prospects. CAB International, Wallingford, UK; 1991. p. 275.

(Recibido 21-9-2011; Aceptado 3-2-2012)