



**TÍTULO: EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE  
DIFERENTES PRODUCTOS EN EL CONTROL  
DE *Meloidogyne* EN CULTIVO DE TOMATE**

**Universidad de Almería**

**Escuela Superior de Ingeniería**

**Departamento de Producción Vegetal**

**PROYECTO FIN DE CARRERA**

**Almería, Febrero, 2012**

**Alumna:**

**María Teresa Marín Rodulfo**

**Directores:**

**Dra. Milagrosa Santos Hernández**

**Dr. Fernando Diánez Martínez**

## *Agradecimientos*

El haber conseguido finalizar mi carrera y este proyecto ha sido un gran logro en mi vida que ha supuesto mucho esfuerzo por mi parte y la de todos los que me habéis apoyado. Ahora compartís mi satisfacción como si fuese vuestra, por todo ello deseo dedicaros este trabajo “nuestro”.

A mi gran familia, por vuestro apoyo y esfuerzo, gracias por darme esta oportunidad y estar ahí incansablemente.

A todos mis compañeros de carrera y de erasmus que habéis aportado vuestro granito de arena para que pudiese concluir esta etapa, infinitas gracias.

A todo el departamento de Producción Vegetal por darme esta oportunidad y sobre todo por vuestra paciencia, muchas gracias.

Por último a todas las personas que habéis estado cerca de mí, como yo suelo llamaros, mis compañeros de viaje, que sin saberlo habéis contribuido a que hoy yo pueda estar aquí, gracias de corazón.



---

*Índice general*

Índice general.

	Pág.
A- Índice de contenido.....	1
B- Índice de cuadros.....	3
C- Índice de figuras.....	4

A- Índice de contenido.

<b>1.- Interés y objetivos.....</b>	<b>8</b>
1.1.- Interés.....	8
1.2.- Objetivos.....	9
<b>2.- Revisión bibliográfica.....</b>	<b>10</b>
2.1.- El cultivo del tomate.....	10
2.1.1.- Descripción botánica.....	10
2.1.2.- Exigencias climáticas.....	10
2.1.3.- Producción de tomate.....	13
2.2.- Nematodos.....	18
2.2.1.- Importancia económica.....	18
2.2.2.- Morfología.....	19
2.2.3.- Supervivencia de los nematodos en condiciones desfavorables.....	22
2.2.4.- Nematodos formadores del nódulos del género <i>Meloidogyne</i> .....	23
2.2.4.1.- Ciclo biológico.....	24

	<b>Pág.</b>
2.2.4.2.- Características morfológicas.....	25
2.2.4.3.- Especies más frecuentes.....	27
2.2.4.4.- Relación <i>Meloidogyne</i> – hospedante.....	27
2.3.- Alternativas de manejo.....	28
2.3.1.- Tratamientos con nematicidas de síntesis.....	31
2.3.1.1.- Fumigantes del suelo.....	32
2.3.2.2.- No fumigantes del suelo.....	35
2.3.2.- Alternativas no químicas para el manejo de Nematodos.....	37
<b>3.- Material y Métodos.....</b>	<b>54</b>
3.1.- Introducción.....	54
3.2.- Diseño experimental.....	54
3.3.- Inóculo.....	56
3.4.- Aplicación de los productos.....	59
3.4.1.- Aplicación de los productos en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante).....	59
3.4.2.- Aplicación de los tratamientos en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante).....	63
3.5.- Evaluación de la eficacia de los productos objeto de estudio.....	66
3.5.1.- Evaluación de la eficacia de los productos analizando la parte aérea.....	66
3.5.2.- Evaluación de la eficacia de los productos analizando el sistema radical y el suelo.....	66
3.5.2.1.- Evaluación de la eficacia de los productos analizando el sistema radical.....	67
3.5.2.2.- Evaluación de la eficacia de los productos analizando el suelo.....	68

	Pág.
3.6.- Análisis estadístico de los datos obtenidos.....	69
<b>4.- Resultados y Discusión.....</b>	<b>70</b>
4.1.- Introducción.....	70
4.2.- Resultados de la evaluación de la eficacia de los productos en la Fase1: Desinfectante (pre-trasplante).....	70
4.2.1.- Serie de tratamientos sin inóculo.....	70
4.2.2.- Serie de tratamientos con inóculo.....	76
4.3.- Resultados de la evaluación de la eficacia de los tratamientos en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante).....	85
4.3.1.- Serie de Tratamientos sin inóculo.....	85
4.3.2.- Serie de Tratamientos con inóculo.....	90
4.4.- Discusión.....	101
<b>5.- Conclusiones.....</b>	<b>107</b>
<b>6.- Bibliografía.....</b>	<b>108</b>

**B- Índice de cuadros.**

<b>Cuadro 1:</b> Dosis de las soluciones de los productos en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante).....	60
<b>Cuadro 2:</b> Dosis de aplicación en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante).....	65
<b>Cuadro 3:</b> Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea. Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante), Serie sin inóculo.....	72
<b>Cuadro 4:</b> Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea. Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante), Serie sin inóculo.....	73

	<b>Pág.</b>
<b>Cuadro 5:</b> Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea. Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante), Serie con inóculo.....	78
<b>Cuadro 6:</b> Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea de las plantas en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante), Serie con inóculo.....	79
<b>Cuadro 7:</b> Resultados en la contabilización de nódulos de las raíces e índice de nodulación al final del ensayo en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante). Serie con inóculo.....	83
<b>Cuadro 8:</b> Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante), Serie sin inóculo.....	86
<b>Cuadro 9:</b> Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante), Serie sin inóculo.....	87
<b>Cuadro 10:</b> Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante), Serie con inóculo.....	91
<b>Cuadro 11:</b> Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante), Serie con inóculo.....	92
<b>Cuadro 12:</b> Resultados en la contabilización de nódulos de las raíces e índice de nodulación al final del ensayo en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo.....	100

## **A- Índice de figuras**

<b>Figura 1:</b> Principales países productores de tomate en 2009. Miles de toneladas...	14
<b>Figura 2:</b> Principales productores europeos de tomate en 2009. Miles de toneladas.....	14
<b>Figura 3:</b> Principales productos producidos en España, 2009. Toneladas.....	15
<b>Figura 4:</b> Principales países exportadores de tomate, 2009. Toneladas.....	16



	Pág.
<b>Figura 5:</b> Los diferentes destinos de la producción. (Media 2003/2007) Toneladas.....	17
<b>Figura 6:</b> Morfología general de un nematodo (Cedido por Santos, 2012).....	19
<b>Figura 7:</b> Ciclo biológico de <i>Meloidogyne</i> spp. (Cedido por Santos, 2012).....	25
<b>Figura 8 y 9:</b> Hembra de <i>Meloidogyne</i> .....	26
<b>Figura 10:</b> Diseño experimental del ensayo.....	56
<b>Figura 11:</b> Método de extracción de nematodos de Flegg (1967).....	57
<b>Figura 12:</b> Mezcla de turba con la fuente de inóculo.....	58
<b>Figura 13:</b> Autoclave.....	59
<b>Figura 14:</b> Soluciones de los productos de aplicación en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante).....	60
<b>Figura 15:</b> Aplicación de los productos en las macetas en la Fase 1: Desinfectante.....	61
<b>Figura 16:</b> Conservación de las macetas tratadas durante una semana en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante).....	62
<b>Figura 17:</b> Trasplante de plántulas de tomate procedentes de un semillero comercial.....	62
<b>Figura 18 y 19:</b> Plantas en la cámara de cultivo (izquierda), plantas en el invernadero (derecha).....	63
<b>Figura 20:</b> Trasplante de las plántulas y rotulación en la Fase 2: Nematicida (post- trasplante).....	64
<b>Figura 21:</b> Preparación de las soluciones de los productos de aplicación en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante) en la campana extractora de gases.....	65
<b>Figura 22 y 23:</b> Planta recién arrancada (izquierda). Raíces lavadas (derecha).....	67
<b>Figura 24:</b> Índice visual de nodulación de Bridge y Page (1980) modificado.....	68
<b>Figuras 25, 26, 27, 28, 29 y 30:</b> Sintomatología presentada en la parte aérea en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante), Serie sin inóculo.....	75

	Pág.
<b>Figura 31:</b> Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante).Serie sin inóculo.....	76
<b>Figuras 32, 33, 34, 35, 36 y 37:</b> Sintomatología presentada en la parte aérea de las plantas en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante), serie con inóculo.....	81
<b>Figura 38:</b> Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante). Serie con inóculo.....	82
<b>Figura 39:</b> Resultados en la contabilización de nódulos de las raíces al final del ensayo en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante). Serie con inóculo.....	84
<b>Figuras 40, 41, 42, 43, 44 y 45:</b> Sintomatología presentada en la parte aérea de las plantas en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante), serie sin inóculo.....	89
<b>Figura 46:</b> Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie sin inóculo.....	90
<b>Figuras 47, 48, 49, 50, 51 y 52:</b> Sintomatología presentada en la parte aérea de las plantas en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante), serie con inóculo.....	94
<b>Figura 53:</b> Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo.....	95
<b>Figura 54:</b> Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo.....	96
<b>Figura 55:</b> Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo.....	97
<b>Figura 56:</b> Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo.....	98

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 57:</b> Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo.....	99
<b>Figura 58:</b> Resultados en la contabilización de nódulos de las raíces al final del ensayo en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo.....	101
<b>Figura 59:</b> Análisis estadístico en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante).....	102
<b>Figura 60:</b> Análisis estadístico en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante).....	103

---

*Interés y Objetivos*

## **1.- Interés y objetivos.**

### **1.1.- Interés.**

La búsqueda de alternativas para mejorar la situación alimentaria mundial con el fin de elevar la calidad de vida de la sociedad, constituye actualmente uno de los mayores objetivos que debe lograr la agricultura. Esas alternativas se conseguirán a través de la gestión de los sistemas agrarios, teniendo en cuenta que el incremento acelerado en la densidad poblacional ha provocado una demanda de bienes y servicios, así como de la producción de aquellos cultivos que contribuyen a una mayor seguridad alimentaria (Barres *et al.* 2006).

Los sistemas agrarios han evolucionado hacia una gran especialización, principalmente en cuanto a cultivos, mano de obra y mercados. No obstante, su rentabilidad económica debe ser valorada desde el punto de vista agronómico, siendo la presencia de patógenos de origen edáfico uno de los principales factores limitantes, que pueden estar desarrollados bien por las prácticas del monocultivo, o bien relacionados con los cultivos anteriores en el sistema de rotación (Barres *et al.* 2006).

Las graves pérdidas económicas que ocasionan los patógenos de origen edáfico afectan a la viabilidad y diversidad de los sistemas agrarios. La forma habitual de superar esa limitación ha sido el empleo sistemático de sustancias químicas de síntesis, con mayor o menor eficacia en el control de los distintos grupos de organismos patógenos que forman parte del complejo edáfico, destacando por su importancia el bromuro de metilo (BM), el 1,3-dicloropropeno (1,3-D), dicloropropeno+cloropicrina (Pic) y el metam sodio (metam-Na), entre otros, así como otros biocidas convencionales, principalmente nematicidas y fungicidas del suelo (Barres *et al.* 2006).

Cada vez más, la tarea de las generaciones futuras es sanear los bosques, cultivos y las aguas, que están gravemente dañados y devolverles su funcionalidad, recuperando el equilibrio entre todos los sistemas de la naturaleza (Curti y Zarga, 1992).

La importancia económica de los nematodos es interesante, ya que su efecto puede representar una pérdida de producción que puede variar desde un 10-15% hasta una pérdida total de la cosecha si no se hace una gestión correcta del cultivo. En España, las pérdidas de producción por acción de los nematodos en los cultivos hortícolas se mueven entre el 11% (Bello *et al.* 1996) y el 25-50% (Frapolli, 1994).

Debido a esta situación, la ciencia está comprometida en la búsqueda de alternativas para resolver los problemas creados por el uso de pesticidas y otros agroquímicos que tienen un fuerte impacto sobre el suelo y el medio ambiente en general, teniendo principalmente como referencia los conocimientos de la biología y la ecología (Altieri, 1997).

En los últimos años se está enfocando la investigación en el control biológico, enmiendas orgánicas e inorgánicas, nematicidas de origen natural e inductores de resistencia (Oka *et al.*, 2000).

Por todo ello, con este trabajo se evalúa el efecto de diferentes tratamientos alternativos a los clásicos en el control de *Meloidogyne* spp. en cultivo de tomate.

### **1.2.- Objetivos.**

- 1.** Evaluación del poder nematicida de diferentes tratamientos en suelos inoculados con nematodos antes del trasplante.
- 2.** Evaluación del efecto nematicida de distintos tratamientos durante el ciclo de cultivo del tomate aplicados después del trasplante.

---

*Revisión bibliográfica*

## **2.- Revisión bibliográfica.**

### **2.1.- El cultivo del tomate.**

#### **2.1.1.- Descripción botánica.**

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) se identifica de la siguiente forma (Reche, 2010):

- Reino de las plantas.
- Subtipo Angiospermas, al tener los óvulos encerrados en ovarios y por tanto las semillas dentro del fruto.
- Tipo Fanerógamas o Espermafitas, al ser plantas superiores en las que aparece clara división del proceso fisiológico, apreciándose los granos destinados a la nutrición y otros a la reproducción.
- Clase Dicotiledóneas cuyas semillas contienen un embrión con dos cotiledones.
- Subclase Simpétalas, metaclamídeas, por tener flores con periantio doble y gamopétalas y los estambres insertos en ella.
- Orden Tubifloras (gamópetalas) por tener sus pétalos soldados.
- Familia de las Solanáceas.
- Género *Solanum*, especie *lycopersicum*.

Es una de las solanáceas más cultivada en el mundo y con gran número de especies silvestres (Reche, 2010).

#### **2.1.2.- Exigencias climáticas.**

Tanto la temperatura del suelo como la del ambiente tienen gran incidencia en los procesos de germinación, floración, fecundación y maduración del fruto (Reche, 2010).



Dependiendo de la época de la plantación, la planta está sometida a variaciones sensibles de temperaturas. En ciclos de primavera cuando el cultivo se inicia en diciembre o enero, las heladas o la inversión térmica pueden llegar a afectar al desarrollo de tallos y hojas. También los excesos de temperatura que se inician a principios de primavera van a influir en el desarrollo de la planta, afectando los procesos de floración y fecundación (Reche, 2010).

Son cuatro las variantes a tener en cuenta: temperatura, humedad, concentración de anhídrido carbónico y luminosidad. Los valores indicados son orientativos, debiendo también tener en cuenta, su relación con el resto de variables climáticas (Reche, 2010).

**- Temperatura:**

Para el estudio de la temperatura se diferencia entre la del suelo y la del ambiente. La primera tiene influencia, principalmente, en las fases de germinación y enraizamiento. La segunda ejerce su acción sobre la planta, una vez emergida ésta o después del trasplante sobre el proceso respiratorio y la transpiración (Reche, 2010).

Las temperaturas superiores a 35°C pueden causar en las plantas de tomate disminución de la cantidad de polen emitido, menor número de flores, amarilleamiento de los frutos durante la maduración, deshidratación y deficiente polinización, además de la caída de flores y menor cuajado y de favorecer el desarrollo de enfermedades. Por otra parte el frío produce reducción de polen, retraso en el crecimiento, deformación de los frutos y estos no maduran ni toman color (Reche, 2010).

Las plantas de tomate no acusan demasiado los desequilibrios de temperatura entre el día y la noche siempre que no sean superiores a 5-7°C (Reche, 2010).

La temperatura óptima para el desarrollo de la planta oscila, igualmente, de 20 a 26°C de día y de 12 a 16°C por la noche (Reche, 2010).

**- Humedad:**

La humedad contribuye al crecimiento y desarrollo de la planta. La humedad relativa alta, superior al 85-90% reduce la transpiración de las hojas derivando la presión del agua hacia los frutos, con el consiguiente agrietado. El exceso de humedad dificulta la polinización al apelmazarse los granos de polen y reducir la dehiscencia de las anteras, además de exponer a los frutos al ataque de enfermedades aéreas. Si el exceso de humedad está en el suelo se crean encharcamientos, con posible asfixia de raíces.

Al mismo tiempo, con humedades bajas, menor del 50%, la planta transpira en exceso, con el peligro de estrés hídrico, se reduce la fotosíntesis y la nutrición.

El cultivo del tomate exige una humedad ambiental media del 65 al 75% (Reche, 2010).

**- Luminosidad:**

Junto con la temperatura y la humedad son las variables meteorológicas de mayor importancia para la planta. La luminosidad influye en el fotoperiodo, es decir, en la reacción e influencia que tiene la duración del día sobre las plantas.

La falta de luz tiende al ahilamiento con alargamiento de los entrenudos de las plantas, sobre todo en los primeros estadios vegetativos que produce aborto de flores, frutos huecos y manchas en los frutos maduros. Los niveles altos y continuos de luminosidad contribuyen a la reducción del crecimiento de las hojas (Reche, 2010).

El ahilamiento es la anomalía del crecimiento en las plantas que se han desarrollado en la oscuridad, caracterizada en los tallos por el alargamiento de los entrenudos, y la decoloración por falta de clorofila (Font Quer, 1982).

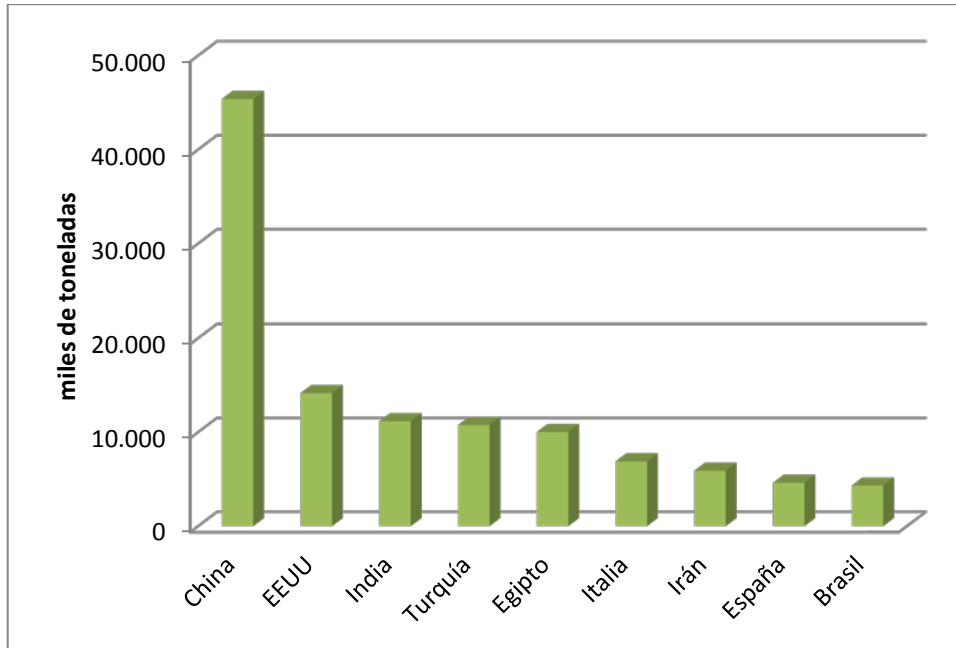
**- Anhídrido carbónico:**

El carbono es esencial para el desarrollo de las plantas que lo obtienen a través de los estomas, a partir del anhídrido carbónico del aire cuya concentración media es de 300 ppm. Es un factor indispensable para la fotosíntesis, estando muy interrelacionado con la humedad y temperatura (Reche, 2010).

**2.1.3.- Producción de tomate.**

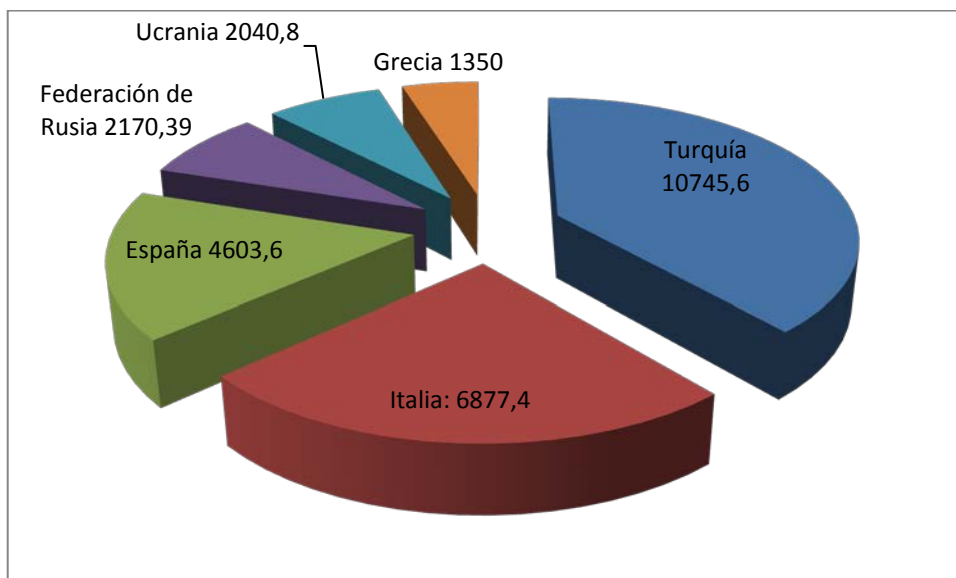
La producción mundial de tomate (tanto fresco como procesado) alcanzó 108 millones de toneladas en el año 2002, lo que implica un crecimiento del 291% sobre el total producido en el año 1961. Esta evolución de la producción mundial ha sido ocasionada tanto por el aumento de la superficie dedicada al cultivo, como por el crecimiento de los rendimientos. En el mismo período 1961-2002, el rendimiento promedio mundial del tomate por unidad de superficie incrementó un 64%, llegando a las 36 t/ha. La mayor parte del incremento de la producción se concentró en Asia, región que participó con un 50% de la producción global en 2002 (Federation of American Scientists (FAS) y United States Department of Agriculture (USDA), 2003).

Los principales países productores de tomate son (**figura 1**):



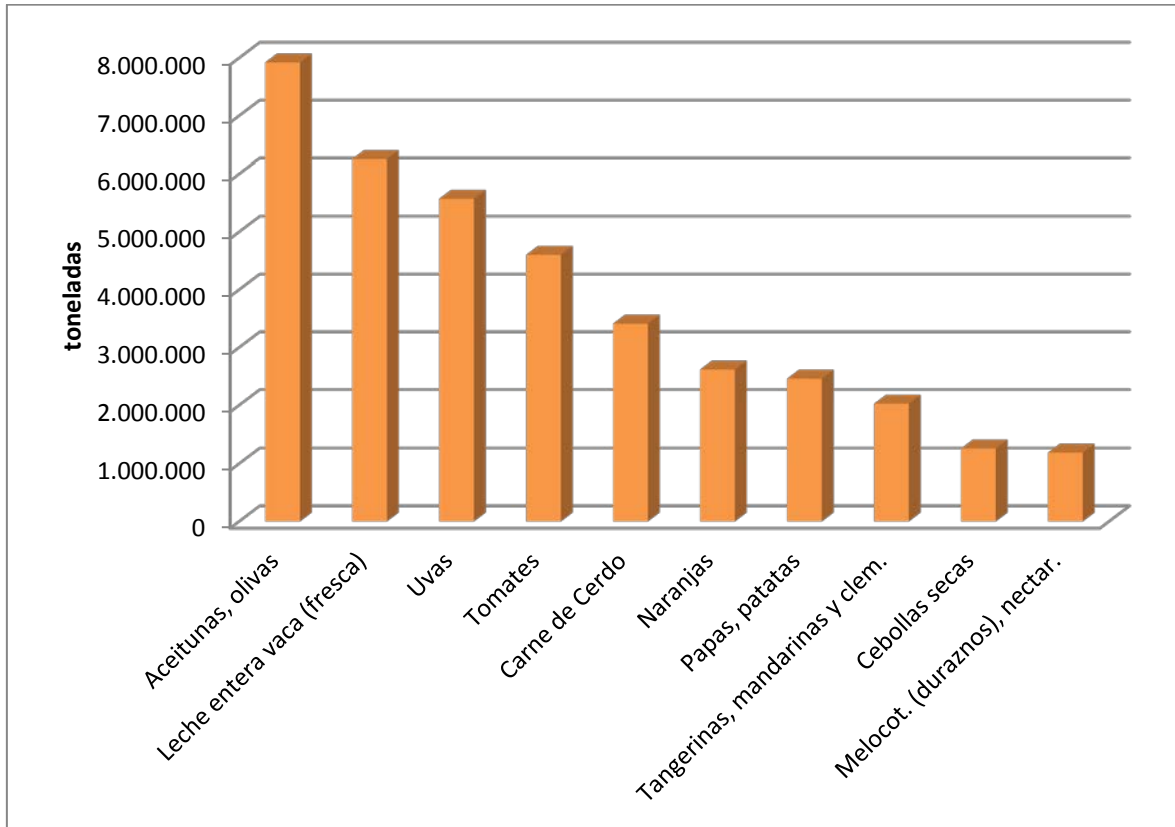
**Figura 1:** Principales países productores de tomate en 2009. Miles de toneladas. (FAOSTAT, 2011) Elaboración propia.

Como se observa en la **figura 1**, España es el 8º país productor de tomate con 4,6 millones de toneladas producidas en 2009; el principal productor es China con 45 millones de toneladas aproximadamente ese mismo año.



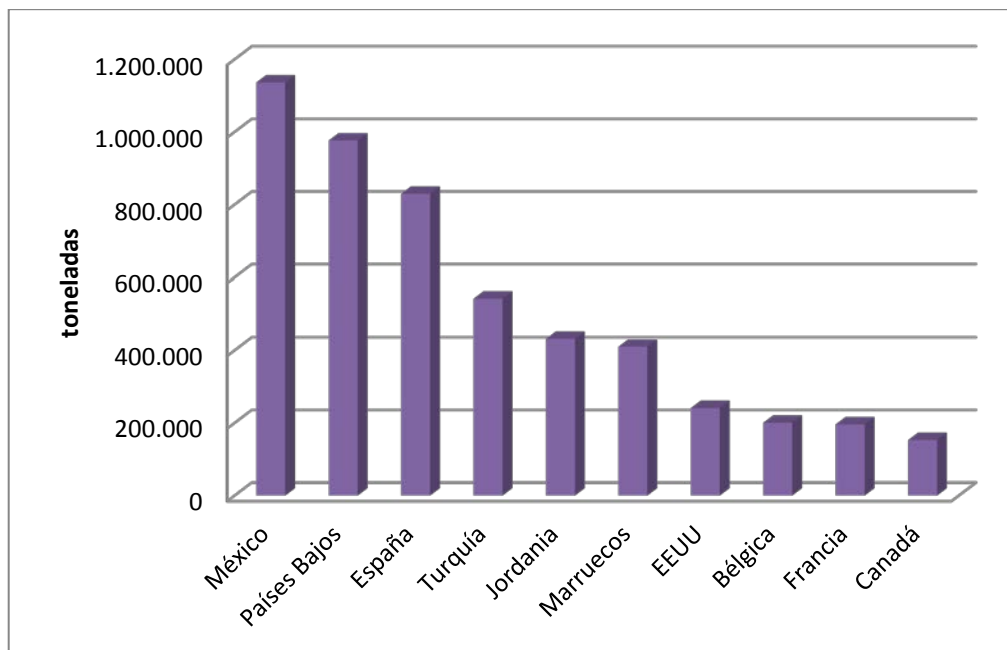
**Figura 2:** Principales productores europeos de tomate en 2009. Miles de toneladas. (FAOSTAT, 2011) Elaboración propia.

Como se puede observar en la **figura 2** correspondiente a los principales países productores europeos de tomate en el año 2009, España es el 3<sup>er</sup> país con mayor producción por detrás de Turquía e Italia.



**Figura 3: Principales productos producidos en España, 2009. Toneladas. (FAOSTAT, 2011) Elaboración propia.**

En la **figura 3** se observan los 10 productos con mayor producción en España en 2009, la producción de tomates ocupa el 4<sup>o</sup> lugar, siendo la principal hortaliza producida.



**Figura 4: Principales países exportadores de tomate, 2009. Toneladas. (FAOSTAT, 2011) Elaboración propia.**

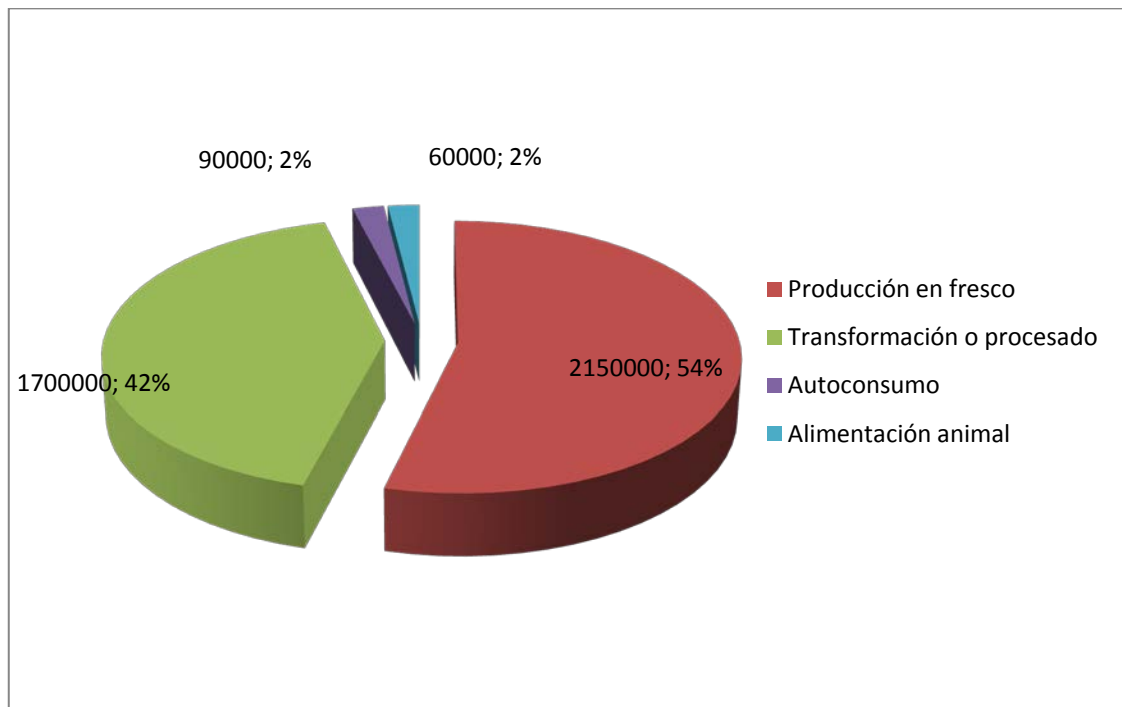
Como se observa en la **figura 4** de los principales exportadores de tomate en 2009, España permanece en el 3<sup>er</sup> puesto con unas 800 mil toneladas exportadas.

Todas las provincias españolas dedican alguna superficie al cultivo del tomate, principalmente en regadío. El fruto de tomate tiene innumerables aplicaciones en la cocina, es un alimento verdaderamente nutritivo con enormes propiedades beneficiosas para la salud. Por la gran variedad de tipos de frutos y las altas producciones es una especie vegetal muy apreciada por los agricultores (Reche, 2010).

Nadie duda de la importancia económica que representan las hortalizas en España. Las 400000 ha cultivadas (datos del año 2006), suponen unos ingresos para el Sector, incluidos los numerosos servicios auxiliares que conlleva. Una de estas especies es el tomate, fruto que desde muchos años atrás está garantizando la rentabilidad de las explotaciones y la supervivencia de los agricultores en comparación con otras especies que han ocasionado algunos años cierta incertidumbre. El cultivo del tomate, mantiene su superficie no ya sólo por su rentabilidad sino por el abanico de posibilidades que le rodea: variedades más productivas y de mayor calidad, resistencia a plagas y enfermedades,

incorporación de la técnica del injertado que le proporciona una mayor protección contra hongos del suelo, variedades larga vida, recolección en racimo, diversidad de procesados a partir de tomate y por sus aportaciones nutritivas a la dieta diaria. Además el tomate tiene una oferta y demanda a lo largo de todo el año, al contrario de otras hortalizas más estacionarias, como melón y sandía, que nos obliga a reflexionar que la actividad agraria es competitiva porque unos de sus pilares es el tomate (Reche, 2010).

Las siguientes figuras indican la importancia del tomate según su destino final en España (Media quinquenio 2003/2007) (Reche, 2010):



**Figura 5: Los diferentes destinos de la producción. (Media 2003/2007) Toneladas. Elaboración propia.**

La producción anual fue 4 millones de toneladas y su valor 1,8 miles de millones de euros, como se observa en la **figura 5** el principal destino es la producción en fresco. De la producción se exportan 982000 T (22,55%) (Reche, 2010).

El consumo medio en España es de 22 kg y la superficie media cultivada (decenio 98/07) fue de 62330 ha (Reche, 2010).

De la producción total de las ocho especies hortícolas cultivadas en invernadero el tomate presenta el 50% (Reche, 2010).

En 2008 la superficie total de tomate en Almería llegó a las 10147 ha y la producción fue de 910268 T, siendo en este año el 2º mayor productor por debajo de Badajoz con 1661838 T (MARM, 2010).

## **2.2.- Nematodos.**

Los nematodos son de forma y tamaño variado, más o menos alargados, cilíndricos (vermiformes), otros son obesos o tiene forma de pera o limón. El tamaño medio de los nematodos vermiformes es aproximadamente un milímetro, por ello es difícil observarlos a simple vista, aunque se puede distinguir con facilidad los que forman quistes y los formadores de nódulos. Los nematodos transmisores de virus son normalmente de mayor tamaño, varios centímetros de longitud (Bello *et al.*, 1996).

Los nematodos fitoparásitos se caracterizan por presentar un estilete, que es una especie de aguja hipodérmica, provista de un conducto interior, y una musculatura que permite que el órgano sea retráctil y que se pueda introducir dentro de la raíz y los tejidos de las plantas, para su alimentación (Bello *et al.*, 1996).

### **2.2.1.- Importancia económica.**

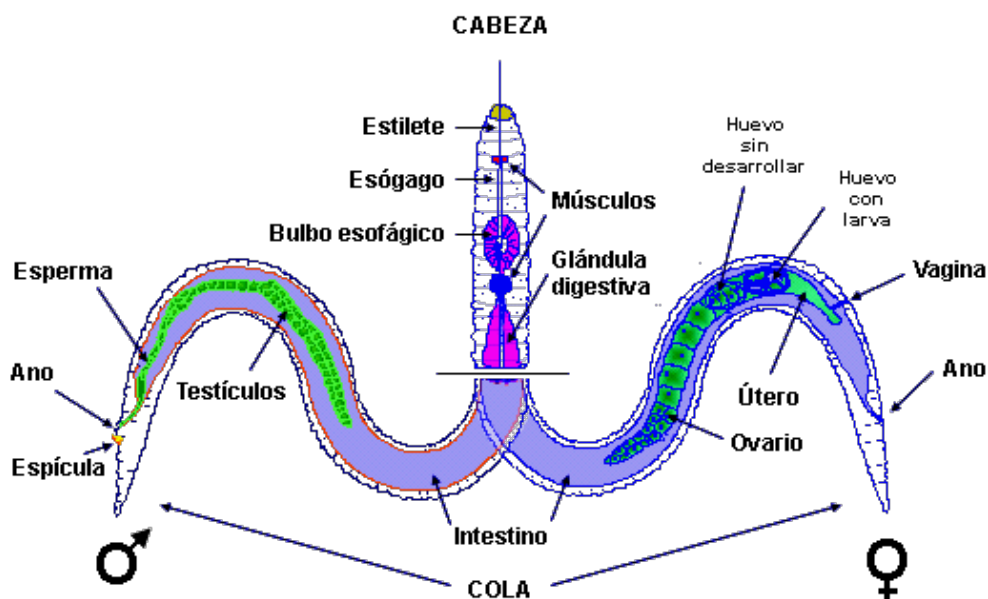
La importancia económica de los nematodos es interesante, ya que su efecto puede representar una pérdida de producción que puede variar desde un 10-15% hasta una pérdida total de la cosecha si no se hace una gestión correcta del cultivo. En España, las pérdidas de producción por acción de los nematodos en los cultivos hortícolas pueden oscilar entre el 11% (Bello *et al.*, 1996) y el 25-50% (Frapolli, 1994).



En la provincia de Almería, también afecta a diversos cultivos bajo invernadero (Belda *et al.*, 1994; López *et al.*, 1994 y Escuer *et al.*, 1996) y destaca de manera especial el género *Meloidogyne* del cual se han identificado varias especies, de las que podemos destacar por su importancia *Meloidogyne javanica* y *Meloidogyne incognita*, siendo la primera la más frecuente (Ornat *et al.*, 1999). Para la mayor parte de los cultivos producidos en la provincia no se han estimado las pérdidas que causan estos fitopatógenos, pero en tomate se ha encontrado que el “nematodo del nudo de la raíz” disminuye el peso de frutos por planta, aproximadamente en un 31% (Julca, 2000).

### 2.2.2.- Morfología.

La forma más frecuente entre los nematodos migratorios es cilíndrica, alargada y atenuada en ambos extremos. Las formas sedentarias tienen generalmente el cuerpo esférico, aunque las formas juveniles y los machos son siempre vermiformes. La apertura oral es terminal, el poro exterior, la vulva, el ano y la cloaca se hallan en posición lateral (Bello *et al.*, 1996).



*Figura 6: Morfología general de un nematodo (Cedido por Santos, 2012).*

La pared del cuerpo en los nematodos está formada por varias capas, la externa es la cutícula. En la parte lateral algunos nematodos presentan pliegues delimitados por líneas longitudinales, que van de la región esofágica a la caudal. El conjunto de estos pliegues constituyen los campos laterales. El número de bandas y líneas que presentan los campos laterales tienen valor taxonómico (Bello *et al*, 1996).

La región cefálica se diferencia por la presencia de un armazón, esta puede ser continua o diferenciada en torno al cuerpo por una depresión, constricción o expansión, pseudolabios es el término que se utiliza para denominar a las seis elevaciones que elevan el disco labial de ciertos nematodos. El armazón cefálico posee una capa basal desde la cual se extienden prolongaciones más o menos largas hacia el interior del cuerpo, la prolongación central tiene forma de embudo y es la estructura guía del estilete. El estoma o cavidad estomática está limitado por una cutícula externa que se extiende desde el inicio del cuerpo hasta la base del cono del estilete. El estilete está formado por dos partes, la parte exterior denominada cono y la posterior, la base, que presenta tres engrosamientos denominados nódulos basales (Bellos *et al.*, 1996).

El esófago es la región que sigue al estoma, es una estructura muscular cubierta por una cutícula y suele tener un lumen estriado, en todos los tilenquidos el esófago tiene un corpus, istmo y glándulas esofágicas. El corpus está dividido en precorpus y postcorpus, el precorpus es cilíndrico y se extiende desde la base del estilete hasta el bulbo esofágico medio. El bulbo medio o postcorpus suele ser muscular de forma redondeada y presenta un aparato valvular, además presentan tres glándulas uninucleadas una dorsal y dos subventrales. Las glándulas esofágicas pueden estar cerradas en una membrana formando un bulbo terminal o hallarse libres en la cavidad del cuerpo solapando al intestino en la región ventral o en la dorsal, en mayor o menor longitud. La forma, disposición relativa con respecto al intestino y su longitud se usan en la caracterización de las deferentes superfamilias y familias de nematodos, entre el esófago y el intestino se encuentra la válvula esofágica intestinal o cardia, que está alineada internamente con la cutícula del esófago. El intestino puede ser celular o

sincitial, oligocítico o policítico si hay más, termina en el recto que se abre al exterior por el ano en las hembras y en cloaca en los machos (Bello *et al.*, 1996).

El sistema excretor es asimétrico con una única célula situada en posición lateral o lateroventral generalmente en la región postesofágica, que se abre al exterior por el poro excretor, que se encuentra en la región medioventral. El conducto excretor está alineado con la cutícula externa, ocasionalmente puede ser ancho y hallarse cuticularizado (Bello *et al.*, 1996).

El anillo nervioso se halla alrededor del istmo del esófago. Entre las comisuras nerviosas señalar el hemizonio que es la mayor comisura lateroventral situada cerca del poro excretor. El anfidio es una estructura par, quimiorreceptora que está situada en la región cefálica, generalmente cerca de la apertura oral. Los fasmidios son también estructuras quimiorreceptoras que se encuentran en la región caudal de los tilénquidos, aunque también pueden encontrarse en la zona preanal o no tener una posición fija en el cuerpo (Bello *et al.*, 1996).

El aparato reproductor de la hembra consta de ovario, oviducto, crustaformera, espermateca, útero, vagina y vulva, si hay un solo ovario se denomina ovario monodélfico, dos ovarios didélfico. La vagina es la porción del tracto reproductor entre la vulva y el útero, que es fácilmente reconocible porque sus límites son cuticulares y están en contacto con la cutícula externa. El epiptigma es una estructura cuticular, membranosa situada en la vagina o en el labio vulvar, la vulva es un orificio generalmente oval orientado de forma perpendicular al eje del cuerpo y raramente redondo. La apertura vulvar es longitudinal o transversal, presenta dos labios generalmente iguales y la posición respecto a la longitud del cuerpo suele ser media o submedia. La posición de la vulva en el cuerpo, la presencia de membrana vulvar lateral y epiptigma son caracteres importantes en la diagnosis (Bello *et al.*, 1996).

El aparato reproductor del macho tiene un solo testículo que puede ser recto o reflexo en la región anterior. Los espermatozoides se hallan dispuestos en una, dos o

muchas filas, la bursa copulatrix o ala caudal es una expansión membranosa de las paredes de la región caudal del macho (Bello *et al.*, 1996).

La espícula es una estructura quitinosa semejante al estilete que se desarrolla por ensanchamiento gradual e invaginación de las paredes de la bolsa espicular, es par y ventralmente curvada o arqueada (Bello *et al.*, 1996).

El ensanchamiento de la pared dorsal de la bolsa espicular forma el gobernáculo, mientras que el telamón como parte del gobernáculo se desarrolla en la unión con la pared ventral de la cloaca. La forma, tamaño de la espícula y del gobernáculo, la presencia de telamón y la capacidad de proyectarse el gobernáculo son caracteres empleados en taxonomía (Bello *et al.*, 1996).

La región caudal es la prolongación postanal del cuerpo, suele ser alargada, filiforme, cónica, conoide o hemisférica. La longitud y forma de la cola muestra una gran variación, puede ser diferente según la fase de desarrollo y si se trata de hembra o macho. Es frecuente observar en las formas endoparásitas sedentarias cola corta o ausente y juveniles con cola bien desarrollada. La cola del macho en las formas que no tienen bursa suele ser semejante a la hembra, por el contrario los que tienen bursa acostumbran a tener cola de conde a cónica, su principal función es ayudar en la locomoción, y también puede facilitar la copulación y la salida de los juveniles de la envuelta del huevo (Bello *et al.*, 1996).

### **2.2.3.- Supervivencia de los nematodos en condiciones desfavorables.**

Muchos de los nematodos fitoparásitos pueden sobrevivir por más de un año en el suelo en ausencia de su planta huésped. Durante este periodo su actividad se detiene y su metabolismo es muy bajo. Este periodo puede ser más o menos largo y está limitado por las reservas alimenticias que posea el nematodo y las condiciones del ambiente en que se encuentra. Los nematodos sobreviven más tiempo a bajas que a altas temperaturas (Frapolli, 1994).

Algunos nematodos, cuando las condiciones son desfavorables, pueden pasar al estado de “vida latente” y sobrevivir por más de veinte años, hasta que las condiciones favorables se restablecen y pasan de nuevo a “vida activa”. Durante el estado de vida latente muchos individuos mueren (Jiménez *et al.*, 1965).

#### 2.2.4.- Nematodos formadores del nódulos del género *Meloidogyne*.

El género *Meloidogyne* está formado por los denominados “nematodos formadores de nódulos”. Se trata de un grupo de nematodos del suelo de gran importancia económica, debido a que causan las pérdidas más significativas en la producción de diversos cultivos (Chitwood, 1949; Whitehead, 1968; Siddiqi, 2000), así como la importancia de algunas especies en cuarentena en el cultivo de la papa (Bello *et al.*, 2008). Estos nematodos son endoparásitos sedentarios que producen nódulos en las raíces. Tienen la capacidad de infectar las raíces de numerosas plantas con un rango de hospedadores que comprende más de 3000 especies vegetales diferentes (Abad *et al.*, 2003), por lo tanto se pueden considerar en general como polívoros. El daño que ocasionan a los vegetales se debe principalmente a la alteración de los tejidos vasculares de la raíz, que reduce sustancialmente la absorción de nutrientes y agua, con el consiguiente debilitamiento de la planta y disminución del rendimiento (Orton Williams, 1972, 1973, 1974 y 1975; Siddiqi, 2000, Abad *et al.*, 2003).

Para España se ha calculado que las pérdidas anuales ascienden a 905 millones de euros, de los cuales un 40% corresponde a las pérdidas en cultivos hortícolas. En segundo lugar están las pérdidas en cereales (21% de pérdidas), seguidas por las de frutales (14%), cítricos (10%) y papas (6%), con el porcentaje restante (9%) correspondido a remolacha azucarera, vid, olivo y leguminosas (Bello *et al.*, 1997), por otra parte también se ha destacado su importancia en cítricos y frutales (Bello, 1983; Bello *et al.*, 1985). Además se debe resaltar que los nematodos del género *Meloidogyne* están incluidos por el MBTOC (Methyl Bromide Technical Options Committee) (2002) en el listado de fitoparásitos para los que se ha utilizado BM (Bromuro de Metilo) en uno o más países en el año 2001, constituyendo en diversos cultivos y países uno de los problemas de importancia en razón

del cual se han solicitado usos críticos de BM, particularmente en áreas de suelos arenosos. En el sur de Europa, España, Grecia, Italia y Portugal los nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* son un problema de valor económico en diversos cultivos (Barres *et al.*, 2006).

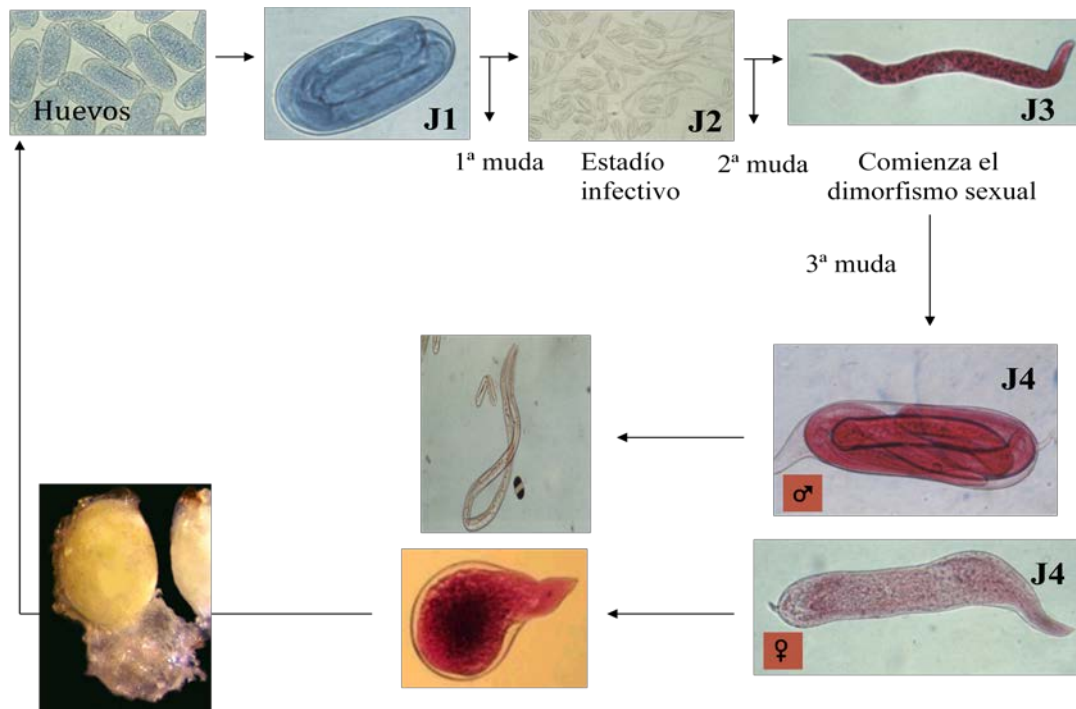
Los nematodos formadores de nódulos son endoparásitos sedentarios, cuyo síntoma más característico es que produce nódulos en los raíces de las plantas a las que parasitan, destacando su importancia en cuanto al daño que causan en cultivos hortícolas, industriales, ornamentales y frutales (Bello *et al.*, 2000; Piedra Buena, 2004).

#### **2.2.4.1.- Ciclo biológico.**

El ciclo biológico de los nematodos del género *Meloidogyne* comienza en el huevo, donde aparece la primera de las cuatro fases juveniles (J1). Dentro del huevo tiene lugar la primera muda, emergiendo como segundo estadio juvenil (J2), el cual posee capacidad migratoria y puede penetrar en los tejidos de la planta (fase infectiva). El estadio J2 tiene energía suficiente para permanecer al menos un mes en la búsqueda y penetración de la raíz, estableciendo un sitio de alimentación. Al penetrar en la raíz se mueve intercelularmente, ingresando a la altura de la base del cilindro vascular y migrando hacia arriba. En la zona de diferenciación de la misma se vuelve sedentario y establece un punto de alimentación permanente. Este punto de alimentación se forma en respuesta a las secreciones que el nematodo inyecta a las células del hospedante, las cuales inducen varias divisiones nucleares sin citoquinesis, dando lugar a células grandes, multinucleadas, llamadas “células gigantes” (Orton Williams, 1973; Williamson y Gleason, 2003).

Las células de la planta alrededor del lugar de alimentación se dividen e hinchan, lo cual se manifiesta externamente como nódulos (“agallas”). El nematodo ingiere el citoplasma de las células gigantes derivadas de la planta a través de sus estiletes, ya que estas células gigantes funcionan como fosas metabólicas que canalizan los recursos de la planta hacia el nematodo parásito. Posteriormente pasa por las dos fases juveniles

restantes (J3 y J4) hasta convertirse en adulto. Tanto el estadio J2 como el adulto poseen un estilete, mientras que los estadios J3 y J4 pueden carecer de él (Orton Williams, 1973; Williamson y Gleason, 2003).

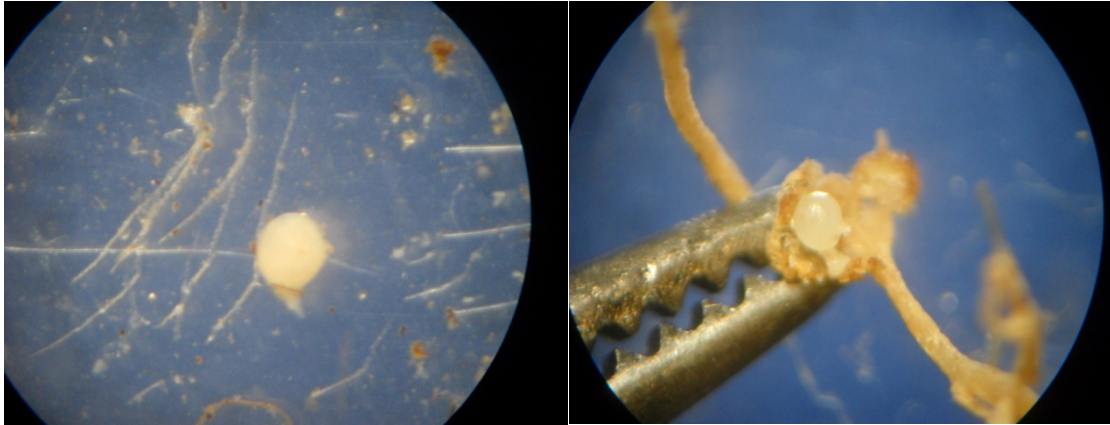


**Figura 7: Ciclo biológico de *Meloidogyne* spp. (Cedido por Santos, 2012).**

#### **2.2.4.2.- Características morfológicas.**

Entre las características morfológicas del género *Meloidogyne* se señala que las hembras adultas son de formas redondeadas a piriformes, blancas, sedentarias, con un cuello corto que se proyecta, no tiene fase de quiste. En el extremo posterior la vulva y el ano están próximos, rodeados de un patrón cuticular característico (patrón perineal), que presenta diferencias en las distintas especies. Los fasmidios se abren con forma de poro, a cada lado del ano, levemente elevados. La cutícula es gruesa y estriada. El estilete es delgado, entre 12-15  $\mu\text{m}$ , con nódulos basales pequeños. El poro excretor está por delante del bulbo medio, con frecuencia cercano a la base del estilete. Los ovarios son dos, prodélficos, convolutos. Las glándulas rectales son seis, de tamaño grande, y

segregan una sustancia gelatinosa en la cual se depositan los huevos, que no son retenidos dentro del cuerpo de la hembra (Orton Williams, 1973; Williamson y Gleason, 2003).



**Figura 8 y 9: Hembra de *Meloidogyne*.**

El macho es vermiforme, de hasta 2 mm de longitud, con el extremo de la región posterior curvado. La cutícula es fuertemente estriada, con campos laterales con cuatro estrías longitudinales. La región labial es redondeada, poco prominente, con un disco labial marcado y pocas estrías (una a tres). Los sectores laterales son más anchos que los submedianos asemejándose a “mejillas”. El estilete es robusto (18-25  $\mu\text{m}$ ) con nódulos basales grandes. Las glándulas esofágicas están situadas principalmente en posición ventral. Las espículas son delgadas, generalmente entre 25-33  $\mu\text{m}$  de longitud, con el gubernaculum entre 7-11  $\mu\text{m}$  de longitud. Tiene un testículo, o dos si hubo un desarrollo sexual revertido. La región posterior es redondeada, con fasmidios como poros cerca de la abertura cloacal, que es subterminal. No presentan bursa (Orton Williams, 1973; Williamson y Gleason, 2003).

Los juveniles tienen diferente aspecto según el estadio. El J1 tiene el término de la región posterior roma, realizando la muda dentro del huevo. La segunda y tercera muda se realiza dentro de la cutícula del J2. El J2 es vermiforme, posee capacidad migratoria, siendo el estado infectivo. El cuerpo es recto a arqueado en reposo, midiendo por lo general menos de 0,6 mm de longitud. La región anterior es generalmente redondeada



con uno a cuatro estrías gruesas, un disco labial diferenciado y una estructura levemente esclerotizada. Los sectores laterales son más anchos que los submedianos. El estilete es delgado, de menos de 20  $\mu\text{m}$  de longitud. El poro excretor está por detrás del hemizónido. La región posterior tiene una porción hialina claramente visible, con la punta angosta e irregular en el contorno. El J3 es sedentario, hinchado con forma de “salchicha” y una región posterior corta y roma. El J4 también es sedentario e hinchado, con el ano terminal (Orton Williams, 1973; Williamson y Gleason, 2003).

#### **2.2.4.3.- Especies más frecuentes:**

- *Meloidogyne arenaria*, (Neal, 1889) Chitwood, 1949.
- *Meloidogyne hapla*, Chitwood, 1949.
- *M. incognita*, (Kofoid y White, 1919) Chitwood, 1949.
- *M. javanica*, (Treub, 1885) Chitwood 1949.

Las características morfológicas biológicas y agroecológicas de estas especies se recogen con mayor detalle en la colección “*Description of Plant Parasitic*” del Commonwealth Institute of Helminthology (CIH): *M. arenaria* (Orton Williams, 1975), *M. hapla* (Orton Williams, 1974), *M. incognita* (Orton Williams, 1973) y *M. javanica* (Orton Williams, 1972), así como su distribución tanto mundial como en la Península Ibérica y sus hospedantes más importantes, la relación con otros patógenos y las posibles alternativas de manejo.

#### **2.2.4.4.- Relación *Meloidogyne* - hospedante.**

Los nematodos del género *Meloidogyne* están altamente adaptados al parasitismo radicular, dependiendo del establecimiento de los puntos de alimentación especializados dentro de la raíz para su crecimiento y reproducción. Una vez establecidos, los

nematodos tiene un suministro constante de agua y alimento desde el hospedante, así como la protección dentro del nódulo para la hembra y su progenie (Siddiqi, 2000).

Su alta adaptación se traduce en su capacidad de infectar más de 3.000 especies de plantas, incluyendo hortícolas, frutales, cereales y ornamentales (Abad *et al.*, 2003). Una vez que los nematodos endoparásitos entran en la planta, inducen la formación de “un punto para su alimentación”. Una vez inducido dicho punto de alimentación, el nematodo depende completamente de éste para su crecimiento y desarrollo. Si el punto de alimentación se vuelve no funcional, el nematodo por el cual se indujo la formación de la estructura para su alimentación morirá. Esta estrategia permite a los nematodos endoparásitos parasitar una amplia gama de especies vegetales, aspecto importante en agricultura que conviene estudiar mejor, para el manejo alternativo de los nematodos más persistentes (Goverse *et al.*, 2000). Por otro lado se han señalado la interacción directa o indirecta de las secreciones glandulares de los nematodos endoparásitos sedentarios en las células vegetales (Hussey, 1989; Favery *et al.*, 1998). Con el genoma nuclear vegetal, tema que todavía no se conoce totalmente, se ha destacado la importancia de conocer el perfil completo de los productos secretados por el estilete durante el ciclo parasitario como elemento clave para conocer su base molecular (Hussey *et al.*, 2002).

### **2.3.- Alternativas de manejo.**

El manejo de los nematodos fitoparásitos, plantea ciertas dificultades que han sido analizadas por Bello (1983), aunque una de las primeras revisiones de estos nematodos en España fue realizada por Jiménez Millán *et al.*, (1965), quienes señalan en primer lugar el hecho de que los nematodos parásitos de plantas, especialmente los que se encuentran en el suelo no son visibles con facilidad. Un problema importante en el estudio de los organismos del suelo es que la muestra seleccionada puede ser representativa del cultivo y problema que se pretende estudiar, por ello los muestreos deben planificarse teniendo en cuenta las características biológicas y ecológicas de los nematodos fitoparásitos, que permitan una valoración de la población que tenga un nivel

aceptable de precisión. Uno de los factores más importantes a tener en cuenta en la planificación de un muestreo es el modelo de distribución-temporal que presentan los nematodos aunque teóricamente los nematodos pueden presentar una distribución regular, al azar o en agregados, la distribución espacial característica de los nematodos fitoparásitos es de tipo agregado o contagiosa, como consecuencia de las pautas de micro y macro distribución relacionadas con la biología y fuente de alimento. El análisis nematológico, las determinaciones con base a la morfología del aparato digestivo, el estudio preciso de la morfometría, biología y biotecnología, las características de la planta hospedadora, el estudio de la distribución espacial y temporal de los nematodos teniendo en cuenta además el estado fenológico del cultivo y la estación del año en la que se realiza el muestreo, así como su fluctuaciones, deben ser labor de expertos. Los nematodos del suelo se encuentran en ocasiones distribuidos por focos y la localización de los mismos, así como su caracterización no es siempre fácil, por lo que incluso las fases previas de muestreo podrían inducir a errores, si no son realizadas por expertos y de conformidad con protocolos de muestreo adecuados al área espacial a estudiar, teniendo muy en cuenta las características del cultivo y la época del año, destacando la importancia del manejo de la biodiversidad tanto biológica como ambiental (García Álvarez *et al.*, 2005).

La distribución temporal y las fluctuaciones estacionales de las poblaciones de nematodos parásitos de plantas están determinadas por la biología, ciclo de vida y dinámica de población de las especies objeto de estudio, así como por las relaciones huésped-parasito y las interacciones con el medio ambiente. El conocimiento básico de la biología de estos organismos es imprescindible para poder considerar los resultados de un muestreo representativo de la población, siendo necesario en ocasiones realizar muestreos en diferentes épocas del año para determinar las fluctuaciones estacionales. El conocimiento de las relaciones huésped-parasito es también fundamental para localizar y estimar correctamente la densidad de población de muchas especies. Así, por ejemplo, las especies de los géneros *Ditylenchus*, *Meloidogyne* y *Pratylenchus* son endoparásitos y pueden pasar inadvertidas en muestras de suelos recogidas durante la primavera o

principios de verano, puesto que la mayoría de los individuos están en el interior de los tejidos del tallo o raíces respectivamente.

Además, los síntomas que los nematodos producen en las plantas en las etapas iniciales del parasitismo se pueden confundir con los asociados a otros problemas, por lo que los diagnósticos pueden ser en ocasiones erróneos o difíciles de establecer (Barres *et al.*, 2006).

Así, por ejemplo, las plantas afectadas por nematodos fitopatógenos del sistema radicular suelen mostrar en su parte aérea una sintomatología similar a la causada por estados nutricionales carenciales. Dependiendo del tipo de nematodo que parasite la planta, en las raíces se pueden observar síntomas específicos, como la formación de nódulos, en el caso del género *Meloidogyne*, pequeños engrosamientos en los ápices radicales, en el caso de nematodos vectores de virus de los géneros *Xiphinema*, *Longidorus* y *Trichodorus*; pequeños engrosamientos en las raíces secundarias, en el caso de parasitismo por *Tylenchulus semipenetrans*; proliferación excesiva y crecimiento anormal de las raíces secundarias, en el caso de presencia de patógenos de los géneros *Heterodera* y *Meloidogyne*, en este último caso se llegan a formar nódulos o “agallas”; necrosis en el punto de alimentación, con carácter general cuando se trata de nematodos ectoparásitos; y putrefacción, en situaciones de interacciones de nematodos con bacterias u hongos (Barres *et al.*, 2006).

Una vez confirmada la identificación correcta de las especies, es necesario el conocimiento del ciclo de vida de estos organismos y su dinámica, densidad de poblaciones, ecología, síntomas, cultivos y flora arvense que parasitan, así como de las alternativas de manejo. Este conocimiento es imprescindible para seleccionar en cada caso las alternativas de prevención sanitarias y manejo, sin afectar a las poblaciones de otros microorganismos beneficiosos o no patógenos para los cultivos. Así, por ejemplo, aunque una parte importante de tilénquidos son fitoparásitos, algunas especies se alimentan de hongos o son depredadores. Por el contrario, los doriláimidos no suelen ser fioparásitos, excepción hecha de los géneros *Longidorus* y *Xiphinema*, que son fundamentalmente transmisores de virus. El buen estado sanitario de las raíces de los

cultivos es necesaria para que tengan lugar los procesos fisiológicos de modo normal y los rendimientos de los cultivos sean aceptables (Barres *et al.*, 2006).

Un aspecto fundamental para la correcta utilización de las alternativas de manejo, está relacionado con la acción de los nematodos sobre las plantas, las características biológicas y ecológicas de migratorio o sedentario, así como de ectoparásito o de endoparásito; resultan esenciales para la elección de los métodos de muestreo y manejo más adecuados de los nematodos fitoparásitos en cada caso. Así los nematodos ectoparásitos y los endoparásitos migratorios en general pueden controlarse con sistemas alternativos al BM y a tratamientos químicos. Por el contrario, el manejo de los nematodos endoparásitos sedentarios requiere una adecuada armonización de técnicas alternativas que deben ser contrastadas para cada caso concreto (Barres *et al.*, 2006).

Además se debe de tener en cuenta que existe la posibilidad de la presencia simultánea de diferentes especies en ciertas circunstancias, por lo que conviene conocer las interacciones entre dicho conjunto de nematodos, sean ectoparásitos o endoparásitos, migratorios o sedentarios, puesto que puede afectar a la eficacia de la técnica de manejo que se pretende aplicar (Bello *et al.*, 2008).

### **2.3.1.- Tratamientos con nematicidas de síntesis.**

En épocas pasadas los nematicidas de síntesis fueron la técnica de manejo de estos parásitos en la mayoría de los casos, particularmente cuando la enfermedad se presente de modo severo. Por otro lado, la mayoría de los nematicidas de síntesis han sido eliminados o su uso en determinadas áreas geográficas tiene limitaciones para su aplicación por su impacto sobre la salud de las personas o sobre el ambiente. Diversas fuentes documentales, como AGRINNOVA del centro de competencia para la innovación en el sector agroambiental de la Universidad de Turín (Italia), Asociación Australasiática de Nematólogos, EPA de EEUU, Instituto de Nematología Agraria de Bari (Italia), Facultad de Ciencia Agronómicas de Santiago de Chile, Universidad de California y Universidad de

Florida coinciden en clasificar los nematicidas de síntesis en dos grandes grupos, los fumigantes y los no fumigantes. Estos últimos en diversas situaciones han demostrado menor eficacia que los fumigantes y tienen su actividad nematicida fundamentalmente sobre los estadios activos de los nematodos pero no sobre huevos, retrasando su eclosión. Estos nematicidas no fumigantes no son tan fitotóxicos como los fumigantes, por lo que en muchas ocasiones solo se pueden usar en postplantación. El uso de fumigantes para el suelo ha sido el método químico más comúnmente usado, pero las tendencias a la prohibición de los mismos y el precio elevado ha limitado su utilización, cuanto menos en determinados cultivos (Sanz y Dueñas, 1973). El potencial de carcinogenicidad de los productos nematicidas de síntesis, así como su efecto en la contaminación de las aguas, o el impacto de sus emisiones a la atmosfera, han figurado entre las razones presentadas para la revisión por las autorizaciones de registro y de uso de algunos de estos productos, tanto en el UE como en otros países como EEUU (Barres *et al.*, 2006).

#### **2.3.1.1.- Fumigantes del suelo.**

Los fumigantes utilizados y permitidos en la actualidad como nematicidas incluyen las mezclas de 1,3-D (1,3-dicloropropeno), generadores de isotiocianato de metilo (metam sodio, metam potasio y dazomet), tetratiocarbonato de sodio que libera disulfuro de carbono y el ioduro de metilo (este último no registrado en muchos de los países que aún utilizan BM). En un principio los metam ya sea el sódico o el potásico así como el dazomet no son fumigantes pero tras su aplicación en el suelo desprenden metilisotiocianato (Barres *et al.*, 2006). A continuación se describen los principales fumigantes utilizados para el control de nematodos (Liñán, 2009).

##### **- 1,3-D (1,3-dicloropropeno):**

Se trata de un hidrocarburo clorado con acción fumigante del suelo. Tiene propiedades nematicidas, fungicidas, insecticidas y herbicidas. El producto actúa como

esterilizante en contacto con la plaga o enfermedad. El poder nematicida procede de su producto de degradación 3-cloroalil alcohol. También protege a la viña de la “degeneración infecciosa”, transmitida por el nematodo *Xiphinema index*. No altera el equilibrio dinámico de los microorganismos del suelo a las dosis recomendadas. La degradación del dicloropropeno en el suelo es rápida; la velocidad del proceso viene determinada por el tipo de suelo. Las pérdidas ocurren por volatilización, degradación por los microorganismos, hidrólisis, absorción irreversible y pérdidas a la atmosfera. En el suelo se hidroliza a los correspondientes alcoholes 3-cloroalilos que son también biocidas y que se degradan principalmente por vía biológica. Estos alcoholes quedan fuertemente retenidos en las partículas del suelo. El 1,3-D puede lixiviarse si las aguas son someras y los suelos arenosos con bajo porcentaje de materia orgánica y en zonas de riesgos o lluvias frecuentes. Su campo de actividad para nematodos incluye nematodos formadores de quistes: *Globodera* spp. y *Heterodera* spp; nematodos formadores de nódulos: *Meloidogyne incognita*, etc. y los nematodos ectoparásitos y endoparásitos; *Pratylenchus penetrans*, *Tylenchulus semipenetrans*, *Ditylenchus dipsaci*, *Anguina tritici*, *Xiphinema* spp, etc.

**- Cloropicrina (tricloronitrometano, Pic):**

Fumigante que se empela como insecticida en graneros y como nematicida en aplicación al suelo. Se formula con BM con el fin de disminuir la concentración de este último y detectar su presencia. En el aire se degrada por fotólisis a CO<sub>2</sub> con una vida media de unos cuatro días.

**- Dazomet (tetrahidro-3,5-dimetil-1,3,5-tiadia):**

Fumigante del suelo, prácticamente esterilizador, controla insectos, hongos, nematodos o malas hierbas. Su modo de acción es hasta ahora desconocido pero se supone que interfiere la acción de las enzimas sulfhidrúlicas combinándose con ellas. En suelo húmedo actúa como un tratamiento de vapor por descomposición a isotiocianato de metilo, su agente activo, formaldehído y otros productos. Indirectamente produce

cierto efecto fertilizante. Su persistencia es de 6-8 semanas. En el suelo, en presencia de humedad, se degrada a isotiocianato de metilo que se evapora rápidamente, a formaldehído, a sulfuro de hidrógeno y a metilamina. Recomendado en el control de *Ditylenchus dipsaci*, *Globodera rostochiensis*, *Heterodera schachtii* y sus quistes, *Meloidogyne arenaria*, *M. exigua*, *M. hapla*, *M. incognita*, *M. javanica* y otros nematodos.

**- Metam (ácido N-metilditiocarbámico):**

Se puede encontrar en varias formulaciones como la sal amónica o metam amonio (N-metilditiocarbamato amónico), sal potásica o metam potasio (N-metilditiocarbamato potásico), sal sódica o metamsodio (N-metilditiocarbamato sódico), aunque en la actualidad el metam amonio no se comercializa. La sustancia activa es el metil isotiocianato, metabolito principal de la descomposición del metam-potasio y metam-sodio en el suelo. El metil isotiocianato es una sustancia química muy volátil que se difunde en el suelo en forma de gas y que posee actividad fungicida, insecticida, nematocida y herbicida. Actúa sobre las especies sensibles interfiriendo por quelación con las enzimas con radical metálico; por otra parte, impide la absorción de oxígeno en la respiración celular. La acción del metam-potasio sobre nematodos es superior a la del metam-sodio. El metam-potasio ha sido especialmente desarrollado para sustituir al metam-sodio en suelos salinos. Su vida media en el suelo es muy variable: en suelos de textura limoarenosa, pobres en materia orgánica, poco húmedos y a temperatura entre 15-20 °C su vida media es de unos pocos minutos; en suelos agrícolas francos su vida media puede alcanzar de cuatro o más días. Su campo de acción son los siguientes nematodos: *Ditylenchus* spp., *Hoplolaimus* spp., *Meloidogyne* spp., *Patylenchus* spp., *Rotylenchus* spp., etc. El comportamiento del metam-potasio y del metam-sodio es similar pero muy distinto según sea el pH del suelo, así en los suelos ligeramente básicos se oxida y se produce metil isotiocianato, hidróxido potásico o sódico y azufre elemental, mientras que en los neutros las sales sódicas o potásicas se descomponen en metil isotiocianato, e hidrogenosulfuro potásico o sódico. En los suelos ácidos: se descompone de forma no oxidativa dando metil isotiocianato, sulfuro potásico, sulfuro de carbono y metilamina. La cantidad de metil isotiocianato que se obtiene en los suelos ligeramente



básicos y neutros es máxima, mientras que en los ácidos puede no superar el 50% de la obtenida en suelos ligeramente básicos y neutros. En general, la velocidad de difusión del metil isotiocianato a través del suelo aumenta al disminuir su humedad. En suelos ricos en materia orgánica, la difusión es menos favorable y se produce un efecto de adsorción del metil isotiocianato que obliga a elevar moderadamente la dosis de aplicación. Los vapores del metil isocianato son muy fitotóxicos por lo que no debe usarse en cultivos establecidos.

**- Tetratiocarbonato sódico (tetratiocarbonato de sodio):**

Fumigante y desinfectante de suelos con actividad nematicida y fungicida. Una vez en el suelo se transforma rápidamente, dependiendo del tipo de suelo, humedad y temperatura, en  $S_2C$  (disulfuro de carbono),  $H_2SO_4$  y  $NaOH$ , siendo  $S_2C$  el agente biocida; en un paso posterior por oxidación bacteriana, pasa a bicarbonato sódico y sulfato sódico. El  $S_2C$  es muy volátil y se difunde por el suelo en 3-5 días. Aproximadamente entre el 50-100% del  $S_2C$  se volatiliza y el resto se oxida, dependiendo de la porosidad del suelo. Pasados 30 días, los residuos del suelo consisten en las sales sódicas de los ácidos carbónico y sulfúrico. En el agua se hidroliza con una vida media de 30 minutos. El  $S_2C$  puede permanecer en el suelo varias horas, ser incorporado al cultivo y ser traslocado. Recomendado para el control de *Ditylenchus* spp., *Globodera* spp., *Heterodera* spp., *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Tylenchulus semipenetrans* y otros nematodos.

**2.3.2.2.- No fumigantes del suelo.**

Los nematicidas o nematostáticos no fumigantes pueden ser una alternativa al BM. Dentro de este grupo se incluyen organofosforados como etoprofos y el fenamifos, así como el carbamato oxamilo. Los nematicidas no fumigantes actualmente existentes en el mercado se aplican al suelo, salvo el oxamilo, que se puede aplicar foliarmente. A continuación se describen los principales productos no fumigantes utilizados para el control de nematodos (Liñán, 2009).

**- Etoprofos (ditiofosfato de O-etilo y de S,S-dipropilo):**

Organofosforado no sistémico con actividad insecticida y nematicida por contacto. Interfiere la transmisión de impulsos nerviosos por inhibición de la acetilcolinesterasa. Su actividad residual puede durar hasta 2 meses. Se ha observado que la biodegradación del etoprofos es más rápida en suelos que ya habían sido tratados antes con este producto que en los tratados por primera vez. Su vida media en el suelo depende de la textura y pH; así, en suelos con alto contenido en carbono orgánico y con pH 4,5 es de 87 días y en los limo-arenosos con pH 7,2 y 7,3 es de 14-28 días. Se estima una vida media en condiciones aeróbicas de 43 días. Su campo de actividad contra los siguientes nematodos: *Criconemoides* spp., *Ditylenchus* spp., *Globodera rostochiensis*, *Helicotylenchus* spp., *Hetrodera* spp., *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Trichodorus* spp., *X. index* (nematodo transmisor del virus del entrenudo corto de la vid), etc; su eficacia depende de la humedad del suelo; una sequia después de la aplicación puede reducirla. Puede ser aplicado en presiembra o preplantación o bien una vez que el cultivo esté bien arraigado. Debe advertirse su aplicación con los oportunos carteles durante los siete días siguientes al tratamiento. La siembra o plantación puede realizarse siete días después de su aplicación.

**- Fenamifos (N-isopropilforoamidato de etilo y de 4-metilitio-m-tolilo):**

Organofosforado sistémico con actividad nematicida e insecticida por contacto e ingestión, de amplio espectro; se distingue por su elevada actividad sobre nematodos ectoparásitos y endoparásitos de las raíces y de la parte aérea. Puede ser absorbido por vía foliar y por las raíces, si bien únicamente se aplica al suelo. Actúa interfiriendo la transmisión de los impulsos nerviosos por inhibición de la colinesterasa. Su actividad se deja sentir tanto cuando se utiliza en tratamientos preventivos como cuando se aplica con fines curativos. Tiene además un notable efecto secundario contra insectos, ácaros y otras plagas de la parte aérea. Su actividad se estima entre 6-8 semanas. La sustancia activa se aplica en el suelo con el agua de riego. Posteriormente es absorbida por la

planta y puede ser letal para los nematodos que se encuentran en el interior de las raíces. Por su buena capacidad de distribución en el suelo controla los nematodos que se encuentran a mayor profundidad. Resulta efectivo en el control de *Aphelenchus avenae*, *Aphelenchus* spp., *Criconema* spp., *Criconemoides* spp., *Ditylenchus dipsaci*, *Ditylenchus* spp., *Globodera rostochiensis*, *Helicotylenchus* spp., *Heterodera schachtii*, *Heterodera* spp., *Longidorus* spp., *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Radopholus similis*, *Rotylenchus* spp., *Trichodorus* spp., *Tylenchorhynchus* spp., *Tylenchulus semipenetrans*, *Xiphinema index*, etc. En cultivos herbáceos puede usarse antes, durante y después de la siembra, así como sobre cultivos ya establecidos. En cultivos leñosos se ha de usar en primavera. Puede ser aplicado en el agua de riego, siendo su persistencia en el suelo de 3-4 meses. Su metabolismo en suelos aerobios se realiza a través de reacciones tales como mezcla con otros plaguicidas, salvo los expresamente aconsejados por el fabricante. No tiene efectos sobre los microorganismos del suelo. Por su acción sistémica, el uso de fenamifos requiere tener en cuenta eventuales problemas de residuos en la parte aérea de los vegetales, así como en su caso tubérculos u otras partes aprovechables para consumo de los mismos.

**- Oxamilo (N,N-dimetil-2-dimetilcarbao, N.metilcarbamato de N,N,-dimetilcarba):**

Carbamato sistémico con actividad insecticida, acaricida y nematocida de contacto. Se absorbe por raíces y hojas, presentando traslocación acrópeta y basípeta. Interfiere la transmisión de los impulsos nerviosos por inhibición de la colinesterasa. Aplicar inmediatamente antes o la vez que la siembra o plantación. En el campo su vida media es de una semana. Tiene alguna movilidad en el suelo y puede lixiviarse. En condiciones anaerobias, la oxidación a CO<sub>2</sub> y su incorporación a la materia orgánica es lenta. Controla tanto *Pratylenchus* spp., *Tirchodorus* spp., y otros nematodos parásitos como *Meloidogyne* spp., además de insectos y ácaros que afectan a las partes aéreas.

**2.3.2.- Alternativas no químicas para el manejo de nematodos.**

Ante la gravedad de los problemas fitonematológicos planteados y la dificultad de su control con alternativas químicas, es necesario encontrar alternativas no químicas que se adapten a las características agronómicas de cada área. En la actualidad los ciudadanos están exigiendo una agricultura respetuosa con el ambiente y la salud de los ciudadanos, lo que está derivando en un cambio en el enfoque de la producción agraria hacia nuevos modelos de gestión de los cultivos, en especial para el manejo de plagas y enfermedades (Castro, 2010).

A continuación se recogen las alternativas no químicas actualmente disponibles para el manejo de los problemas que causan los nematodos, principalmente del género *Meloidogyne* en los cultivos (MBTOC 2007).

**- Medidas sanitarias:**

La primera medida sanitaria es la valoración del estado fitonematológico del cultivo anterior, para poder prevenir los posibles problemas en el cultivo futuro es necesario tener en cuenta especialmente los síntomas de clorosis en rodales irregulares, que con frecuencia indican la presencia de nematodos patógenos. En caso de duda frente a un problema fitonematológico potencial, se debe contar con el asesoramiento de un laboratorio especializado para hacer un análisis del suelo y raíz que permita un conocimiento más exacto de las características del problema. Una vez caracterizado un problema fitonematológico grave se debe ser sumamente cuidadoso, para impedir la propagación de los nematodos a través de personas, animales, aperos o el agua, procurando sobre todo no realizar movimientos de tierra contaminada.

Cuando se trate de cultivos destinados a la producción de materiales de propagación (semillas, bulbos, plántulas, etc.) estos deben estar libres de patógenos para evitar su posible incorporación al suelo en el que se van a cultivar, se deben de establecer inspecciones sanitarias y medidas cuarentenarias, que deben de estar perfectamente reguladas. En algunos casos estas características se puede observar a simple vista, pero

en la gran mayoría es necesario un análisis de laboratorio para confirmarlo (Díez Rojo *et al.*, 2006). Además para los patógenos de cuarentena, las certificaciones fitosanitarias deben acreditar que estos no existen en donde se multiplicó el material de propagación, que la semilla o partes de plantas usadas para su producción se encuentran libres del patógeno y que el material vegetal se protegió mediante protocolos de sanidad vegetal normalizados. Estas medidas deben completarse con otras para evitar la dispersión de nematodos y reducir en lo posible su propagación (Barres *et al.*, 2006).

**- Tratamientos con agua caliente:**

Los tratamientos del material vegetal de propagación con agua caliente son una práctica común y antigua en diversos cultivos. Heald (1987) los propone para el control de nematodos en material vegetal infectado y en sustratos. Westerdahl *et al.* (2003) han destacado el interés del manejo de *Pratylenchus penetrans* en material de vivero de bulbos para ornamentales, mediante el tratamiento de dicho material vegetal con agua caliente a 49 °C durante 35 minutos o a 46 °C durante 90 minutos, para reducir significativamente las poblaciones del nematodo. También se ha utilizado para control de nematodos formadores de nódulos en patrones de vid. Esta práctica se puede complementar con la adición de productos de síntesis, como el hipoclorito sódico (Barres *et al.*, 2006).

Por otro lado, Runia y Greenberger (2004) han propuesto el uso de aire caliente como método de desinfección de suelos, estando aún en etapa de ensayo. Los tratamientos con agua caliente tienen una función importante para el control de nematodos en medidas de cuarentena (Barres *et al.*, 2006). Esta alternativa se está utilizando en cultivos protegidos en Japón (Kuniyasu y Takeuchi, 1986), sobre todo en el control de *Monosporascus* en raíces del Melón, el cual no se puede controlar con solarización (Sakai *et al.*, 1998, Eguchi *et al.*, 2002). La técnica se basa en filtrar 250 L/m<sup>2</sup> de agua caliente entre 70-75 °C, produciendo mejoras en la producción en muchos casos mayores al 30% debido al cambio en las condiciones físicas o químicas del suelo como

pueden ser la eliminación de sales, la mineralización del nitrógeno procede de los microorganismos del suelo muertos (Hashimoto y Nishi, 2001; Nishi, 2002).

**- Vapor de agua:**

Los tratamientos con vapor de agua consisten en la incorporación de vapor de agua en el suelo para matar a los patógenos mediante el calor latente liberado cuando el vapor se condensa (Bungay, 1999; Nishi, 2002). Para que sea eficaz es necesario mantener una temperatura de 70 °C durante al menos media hora para controlar enfermedades de plantas y semillas de flora arvense, aunque algunos tratamientos pueden realizarse entre 60-80 °C durante aproximadamente una hora (Runia, 1983). La temperatura del suelo y la duración del tratamiento determinan si la eliminación de patógenos del suelo es completa (esterilización) o parcial (pasteurización). La pasteurización con vapor entre 70-80 °C es tan eficaz para el control de patógenos como el BM (Runia, 1983), con la ventaja de que mantiene una parte significativa de la microflora, la cual actúa como “barrera biológica” frente a la posible reinfestación por organismos patógenos. Si se supera esta temperatura se produce una esterilización del suelo, que da como resultado un “vacío biológico” donde cualquier microorganismo, incluidos los patógenos, puede recolonizarlo.

Para corregir el “vacío biológico” que genera, inmediatamente después de la aplicación de vapor hay que agregar compost o algún organismo beneficioso (*Trichoderma*, bacterias benéficas) (Pizano, 2004 a, b). Además, si este tratamiento a alta temperatura (80-120 °C) es prolongado puede afectar negativamente a la estructura del suelo, así como la liberación de metales pesados, acumulación de sales solubles (particularmente Mn) toxicidad por amonio, así como la aparición de sustancias fitotóxicas de la materia orgánica del suelo. Sin embargo, si se controlan los parámetros de temperatura del vapor y el tiempo del tratamiento, es una alternativa que puede utilizarse de modo eficaz para el control de los patógenos, sin efectos fitotóxicos secundarios, por lo cual no es necesario esperar un determinado periodo de tiempo para efectuar la plantación del cultivo. Desde el punto de vista económico es un tratamiento

costoso, tanto por el gran gasto de energía requerida como por la inversión de capital necesaria y por las limitaciones de aplicación que se presentan en algunos tipos de suelos.

Estas limitaciones llevan a que no se suele justificar su uso en suelos, excepto en algunos países como Holanda donde sí es rentable. Su uso es más habitual en la desinfección de semillas, bulbos y sustratos (MBTOC, 1995; Escuer *et al.*, 2004; Pizano 2004 a).

**- Solarización:**

La solarización es una alternativa no química de control de patógenos del suelo de los vegetales y de la flora arvense descrita por Katan (1981). Consiste en captar la radiación solar para aumentar la temperatura del suelo previamente húmedo y cubierto con una lámina de plástico transparente de polietileno por periodos prolongados ( $\geq 4$  semanas), hasta un nivel que elimina a las poblaciones de patógenos de los vegetales del suelo (Katan, 1981, 1993; Horiuchi, 1991). Su modo de acción se relaciona tanto con el efecto directo que tiene el aumento de la temperatura sobre los patógenos como con el estímulo que ejerce sobre microorganismos benéficos (MBTOC, 1995). Por otro lado, se ha puesto de relieve que los cambios ocasionados en la microbiota edáfica propician el incremento del crecimiento y la producción en las plantas (Stapleton y Vay, 1984; Medina, 2002). Su eficacia en el control de patógenos de origen edáfico mejora cuando se combina con otras alternativas. Las ventajas de combinar solarización + biofumigación (biosolarización) es reducir el tiempo necesario para la solarización, incrementar la eficacia y la consistencia de la solarización para el control de patógenos, ampliando su espectro de acción a nematodos fitoparásitos y permitiendo su utilización en condiciones de menor temperatura (MBTOC, 2002) pudiéndose aplicar incluso en cultivos instalados como se ha visto en olivo (Tjamos, 1998), tomate cherry, almendro y pistacho (Piedra Buena, 2004), viñedo (Diez Rojo, 2006). También mejora su eficacia con los tratamientos químicos, así Greco *et al.*, (1990) redujeron la dosis convencional de 1,3-D a 100 L/ha a 35 cm de profundidad, en lugar de a 20 cm, seguido de un periodo de solarización de entre 4-8 semanas, controlando al nematodo formador de quistes *Heterodera carotae* en

zanahoria y se produjo un aumento de cosecha en términos similares a los de la fumigación con 250 L/ha de 1,3-D.

La solarización por sí sola, puede ser una alternativa de manejo en las áreas de clima cálido y donde las horas de radiación solar son altas. En un principio esta técnica se aplicaba en zonas áridas y semiáridas con alta radiación solar y pocas precipitaciones (MBTOC, 2007), sin embargo se han desarrollado nuevas tecnologías que la están extendiendo a otras regiones donde parecía una alternativa imposible de realizar (Horiuchi, 1991; Chellemi *et al.*, 1997 a; Gullino y Minuto, 1997; Lamberti *et al.*, 2001; Ozturk *et al.*, 2002). Además su eficacia puede aumentar utilizando doble lámina de un polímero plástico e impermeable de color negro (Arbel *et al.*, 2003), doble cubierta de plástico o plástico VIF (Virtually Impermeable Film). Actualmente se están desarrollando nuevas tecnologías como son la utilización de plásticos que se pueden aplicar al suelo mediante pulverización o nuevas formulaciones de plásticos con el fin de aumentar la temperatura del suelo (Tjamos y Niklis, 1990; Chellemi *et al.*, 1997 a, b; Stapleton, 2000; Tamietti y Valentino, 2000; Gamliel *et al.*, 2001; Cebolla 2002 a, b; Fritsch, 2002).

La solarización es un método que por sí solo no siempre es eficaz, especialmente en el control de organismos móviles como pueden ser los nematodos, puesto que estos con el aumento de la temperatura se desplazan a zonas más profundas del suelo. Escuer *et al.*, 2004 señalan que la eficacia de la solarización es limitada para las formas móviles de nematodos, puesto que al calentarse el suelo se desplazan en profundidad y el tratamiento no tiene eficacia. Con carácter general la solarización mejorada con técnicas complementarias (plásticos, fumigantes o plaguicidas químicos, antagonistas biológicos, enmiendas orgánicas, prácticas de cultivo adecuadas, etc.) puede ser una alternativa potencial a las fumigaciones con productos químicos, no así la solarización utilizada de forma aislada (Barres *et al.*, 2006).

**- Cultivares resistentes e injerto:**



El uso de cultivares con genes de resistencia presenta como ventaja el ser una práctica eficaz, ambientalmente segura y no costosa. Permite mantener bajas las poblaciones de nematodos y reducir los periodos de rotación de cultivos, además de no necesitar técnicas especiales para su aplicación y pueden ser obtenidos con técnicas de mejora tradicional. Para los nematodos del género *Meloidogyne* existen actualmente cultivares resistentes de tomate y pimiento disponibles a nivel comercial. Entre sus principales desventajas está la susceptibilidad frente a poblaciones virulentas, generalmente seleccionadas por el uso reiterado de variedades o patrones resistentes. Por tanto el uso de variedades resistentes sería válido en suelos donde las poblaciones de nematodos no son virulentas, pues de otro modo en un mayor o menor periodo de tiempo pueden incrementarse las poblaciones virulentas y afectar a la resistencia de las plantas (Lacasa *et al.*, 2002; Ros *et al.*, 2004). Por otro lado, Trudgill (1991) y León de *et al.* (2002) observaron que la resistencia se perdía cuando la temperatura del suelo era elevada y cuando las raíces eran parasitadas por hongos.

Las principales limitaciones del empleo de cultivares y patrones resistentes se deben a que no es posible producir plantas resistentes para la amplia gama de patógenos y sus distintas poblaciones que las parasitan. Las características agronómicas de las variedades resistentes suelen ser, con frecuencia, inferiores a las de las variedades tradicionales, si bien esto último puede subsanarse realizando un injerto donde se utilice el cultivar resistente como patrón, injertando sobre él la variedad con las características agronómicas deseadas. Tello y Lacasa (1997) encontraron que al tercer año de utilizar patrones de pimiento sobre el mismo suelo la presión de selección estableció poblaciones virulentas. Ornat *et al.* (1999) establecían las desventajas en el empleo de tomates resistentes ligados a la calidad del fruto y a la estabilidad de la resistencia frente a temperaturas altas del suelo (más de 28 °C). Por tanto el empleo de variedades con genes de resistencia debe hacerse siempre y cuando las poblaciones sean lo suficientemente bajas para que en caso de registrar temperaturas altas, no se puedan seleccionar poblaciones virulentas (MBTOC, 2007).

**- Resistencia inducida:**

La resistencia sistémica adquirida (SAR: Systemic acquired resistance) es un mecanismo natural de defensa de las plantas, mediante el cual las plantas activan sus defensas en respuesta a la acción de un patógeno o de un parásito. Una planta que expresa SAR puede ser protegida contra una gama amplia de patógenos durante semanas a varios meses. Sin embargo contra algunos patógenos estos mecanismo tienen poco efecto (Walters *et al.*, 2005). Existen una serie de organismos del suelo que actúan induciendo resistencia en las plantas por diferentes mecanismos. Las bacterias del género *Rhizobium* en leguminosas, estableciendo mecanismos de competencia entre *Rhizobium* y *Meloidogyne* por zonas de la raíz, permitiéndoles soportar mayor nivel poblacional y disminuyendo los índices de nodulación por nematodo. Las micorrizas son asociaciones simbióticas generalmente beneficiosas entre ciertos hongos especializados y las raíces de algunas plantas. Las micorrizas vesículo-arbusculares (VAM Vesicular Arbuscular Micorriza) han sido las más estudiadas, puesto que mejoran la captación del fósforo y otros nutrientes desde el suelo, mejorando la nodulación por rizobacterias en leguminosas y el crecimiento de las plantas en general. A su vez establece una barrera física que dificulta el acceso de los nematodos a la raíz y confiere a las plantas cierta tolerancia frente a *Meloidogyne*. En cualquier caso el incremento de fósforo en el suelo disminuye la colonización y producción de esporas. Los endófitos son organismos que se desarrollan normalmente en el interior de la mayoría de las especies de plantas induciéndoles resistencia. El uso de endófitos elimina la dependencia de condiciones ambientales propias de los organismos de control biológico, ampliando el rango de condiciones a aquellas que sean adecuadas para la planta (MBTOC, 1995). En ensayos de campo con plantas de pepino se ha encontrado que las plantas inoculadas con endófitos eran resistentes a varios organismos fitopatógenos y tenían mayores rendimientos que las plantas no inoculadas (Ryder *et al.*, 1994).

**- Agentes de control biológico:**

El control biológico se fundamenta en el uso de organismos antagonistas, tales como hongos, actinomicetos, otros nematodos o microartrópodos que reducen las

poblaciones de nematodos. Los mecanismos de actuación son múltiples e incluyen la antibiosis a través de metabolitos, específicos o no, de origen microbiano, parasitismo, predación y competencia. En condiciones de equilibrio, el control biológico de nematodos se producirá de manera natural. En situaciones en las que tal equilibrio está alterado posiblemente el fin último de las técnicas de control biológico es modificar tales condiciones, hasta conseguir otras nuevas en las que los nematodos no sean un problema para el cultivo (Barres *et al.*, 2006). Se conocen diversos organismos predadores, parásitos y patógenos que son enemigos naturales de los nematodos, pudiendo reducir las poblaciones de estos. Generalmente los agentes de control biológico tienen un espectro de actividad estrecho y una especificidad alta con respecto al hospedador y su eficacia varía bajo diferentes condiciones del cultivo (MBTOC, 1995).

La efectividad de la aplicación de agentes de biocontrol no ha sido muy satisfactoria en suelos con alta biodiversidad, pero su uso se considera de interés para la recuperación de aquellos suelos afectados por el empleo intensivo de agroquímicos que tienen baja o nula biodiversidad. Se considera que en lugar de introducir agentes de control biológico, lo mejor es favorecer su presencia y desarrollo utilizando criterios ecológicos que permitan incrementar la capacidad autorreguladora del sistema edáfico.

En la actualidad los agentes de control biológico existentes en el mercado no suelen ser considerados alternativas *per se* de control de nematodos y de acuerdo con la experiencia actual no es previsible a corto plazo la sustitución de los nematicidas de síntesis por los agentes de control biológicos, pero éstos sí pueden tener una función en las alternativas de control integrado o biológico tanto en países desarrollados como en países en desarrollo. Con carácter general, el control biológico con agentes nematicidas o nematostáticos es menos consistente y efectivo, resultando más lento en su acción que los nematicidas de síntesis (Barres *et al.*, 2006). El MBTOC (1995) realizó una revisión de los agentes biológicos más eficaces para el control de los nematodos del género *Meloidogyne*, señalando las siguientes especies:

***Paecilomyces lilacinus***. Actinomicete antagonista de los nematodos del género *Meloidogyne*. Su modo de acción es la penetración de la hifa en el nematodo. Este organismo actúa como parásito eficiente de huevos y juveniles dentro del huevo, disminuyendo las poblaciones del nematodo (Hewlett *et al.*, 1990), así como también parasita a las hembras aunque en menor proporción (40% vs 70%). El parasitismo de huevos y juveniles comienza con el crecimiento de las hifas del hongo en la matriz gelatinosa en que están envueltos los huevos, mientras que las hembras son parasitadas a través del ano (Gautam *et al.*, 1995). Para que su acción sea efectiva, necesita elevadas temperaturas en el suelo y un número alto de propágulos. Es capaz de multiplicarse sobre los restos de hojas, por lo que los restos de cultivo favorecen su desarrollo (Siddiqi *et al.*, 1995).

**Bacterias del grupo *Pasteuria penetrans***. Entre los antagonistas de importancia destacan también las bacterias del grupo *Pasteuria penetrans* (sin.= *Bacillus penetrans*). Son bacterias gram negativas, formadoras de endosporas, lo cual les proporciona resistencia a condiciones adversas como el calor, la desecación o a algunos tratamientos del suelo como la solarización. Las bacterias del grupo *Pasteura* son parásitos obligados los de nematodos fitoparásitos, siendo importantes agentes potenciales de control biológico para los principales nematodos causantes de enfermedades, dada su capacidad para evitar la reproducción y eventualmente tienen efecto letal sobre los nematodos formadores de nódulos y otros nematodos parásitos. Actúa mediante su adhesión a la cutícula de juveniles de segundo estadio (J<sub>2</sub>) y de hembras del género *Meloidogyne* (Davies y Danks, 1993), reduciendo la infectividad y fecundidad de los nematodos. Su rango de hospedantes alcanza 102 géneros y 236 especies de nematodos (Ciancio *et al.*, 1994), pero su campo de acción es muy específico, por lo que ante una eventual diversidad de fitoparásitos algunos de éstos pueden escapar a tal acción nematicida por ser altamente específica. Además, no son capaces de proliferar en el suelo en ausencia de nematodos (Barres *et al.*, 2006).

***Pochonia chlamydosporia* (sin.= *Verticillium chlamidosporum*)**. Hongo antagonista de nematodos, que actúa como parásito de distintas especies de *Globodera*,

*Heterodera* y *Meloidogyne*. En ausencia de sus hospedantes puede sobrevivir como saprófito sobre restos orgánicos. En ensayos de inoculación de este hongo en macetas y campo se observó que el nivel de inóculo inicial así como las condiciones del ambiente edáfico en el momento de la inoculación eran determinantes para que se estableciera de modo eficaz. *P. chlamydosporia* necesita suelos aireados y disponibilidad de nutrientes, por lo cual en suelos pobres deben agregarse nutrientes o aumentarse el nivel de inóculo. A altas temperaturas (30 °C) el desarrollo del hongo es más lento que el de los juveniles dentro del huevo del nematodo, que de esa forma escapan del antagonista (Leij de *et al.*, 1993). La eficacia de *P. chlamydosporia* como agente de control biológico de nematodos formadores de nódulos se ve afectada por la cantidad de hongo en la rizosfera, el tamaño de los nódulos en los que se desarrollan las hembras del nematodo, así como la tasa de desarrollo de los huevos en las masas de éstos. *P. chlamydosporia* resulta menos efectivo en el control de nematodos en suelos muy infectados porque los nódulos más grandes y muchos huevos escapan al parasitismo del hongo.

**Bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR).** Son rizobacterias, que actúan como antagonistas de patógenos del suelo o, al colonizar las raíces, establecen “barreras biológicas” para eludir su invasión por nematodos y otros patógenos (Keel *et al.*, 1990). Otro efecto beneficioso observado frecuentemente es el estímulo del crecimiento en las plantas que están en contacto con las bacterias, por ello su nombre de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) (Suslow, 1982). Actualmente existen preparados comerciales de rizobacterias que se vienen utilizando con éxito, empleándose generalmente como cobertura de semillas, de modo que cuando la planta germina la bacteria coloniza a la raíz y la protege desde las primeras etapas del crecimiento, que suele ser el periodo más crítico (MBTOC, 1995).

***Bacillus subtilis.*** Bacteria gram negativas, formadoras de endosporas, lo cual les proporciona resistencia a condiciones adversas. Su acción puede mejorar el crecimiento de las plantas al suprimir patógenos no parásitos de las raíces, o mediante la producción de sustancias biológicamente activas (Broadbent *et al.*, 1977).

***Muscodor albus***. Hongo endófito que posee la capacidad de producir una mezcla de compuestos orgánicos volátiles capaces de controlar un rango amplio de hongos y bacterias patógenos de las plantas y de los seres humanos (Strobel *et al.*, 2001; Worapong *et al.*, 2001; Grimme y Zidack, 2007), entre ellos los de origen edáfico (Stinson *et al.*, 2003; Mercier y Manker, 2005).

**Monónquidos**. Por último no se debe olvidar la existencia de nematodos depredadores, especialmente el grupo de los monónquidos, aunque estos no aparecen con frecuencia en los cultivos convencionales por la acción de los agroquímicos sobre el suelo (Thorne, 1927).

**- Prácticas culturales:**

Las técnicas de manejo de nematodos fitoparásitos asociadas a las prácticas de cultivo incluyen las rotaciones, asociaciones de cultivos, el barbecho y el manejo de malas hierbas, la poda y eliminación de raíces enfermas, la elección de la época de plantación, laboreo profundo, uso de cubiertas, cultivos trampa, manejo de la nutrición de las plantas, las medidas de sanidad y limpieza, el manejo del agua, así como el cultivo en sustratos y sin suelo. La regulación de las poblaciones de nematodos se facilita mediante el conocimiento de sus características agroecológicas y a través de un manejo adaptado a las condiciones que los favorecen en cada caso. Su eficacia varía según el sistema de cultivo y las condiciones ambientales de la zona, por lo cual es necesario realizar adaptaciones a nivel local según cada condición. En la mayoría de los problemas de enfermedades se puede diseñar un sistema de cultivo adecuado para su manejo (MBTOC, 1995).

Las técnicas agronómicas de manejo de la humedad, temperatura, pH y otros parámetros del suelo pueden contribuir favorablemente al control de estos patógenos, en alguno de sus estadios sensibles a las condiciones ambientales específicas. La dificultad reside en que no en todos los casos existe el suficiente conocimiento sobre cuáles son las

condiciones, y el momento adecuado para realizar las distintas alternativas de manejo (Barres *et al.*, 2006).

**Rotación de cultivos.** Estas alternativas son válidas especialmente para el manejo de nematodos formadores de quistes como *Heterodera* y *Globodera* que son nematodos específicos (Cooke y Thomason, 1979; Cooke, 1991, 1993; Duda y Liste, 1991; Dimov, 1997). La rotación de cultivos suele considerarse de valor limitado para nematodos con un rango amplio de hospedadores como *Meloidogyne* (Trudgill, 1997). Para las distintas especies de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* es necesario conocer el comportamiento en relación con los hospedadores para poder planificar las rotaciones de cultivo, así por ejemplo las poblaciones de *M. javanica* procedentes de las zonas hortícolas más representativas de España, no parasitan a distintos cultivares de pimientos (Robertson *et al.*, 2006). Sin embargo, es posible aumentar la supresividad del sistema incluyendo cultivos que inhiban el desarrollo (MBTOC, 2007). Algunas plantas son malas hospedadoras, como los cereales (maíz, sorgo), los forrajes (*Crotalaria* spp., *Eragrostis curvula*), las crucíferas (repollo, coliflor), y otros cultivos tales como el sésamo, *tagetes*, ajo, cebolla, fresa, cacahuete (al menos para *M. arenaria*, *M. javanica* y *M. incognita*), perejil, mandioca, rábano y otros cultivos locales (Atherton y Rudich, 1986). Además, las brasicas producen metil-isotiocianato y compuestos relacionados que poseen actividades nematocidas y fungicidas, pudiéndose utilizar como abonos verdes en la biodesinfección de suelos. El sésamo y algunas especies de *Tagetes* también han mostrado efectos nematocidas, pudiéndose utilizar como cultivo supresor único, o entre las filas de un cultivo principal como en cultivos asociados (Tanda *et al.*, 1989). También se pueden realizar cultivos intercalares, para reducir las poblaciones de patógenos como el nematodo formador de quistes *Heterodera schachtii* mediante el uso de Pegleta en el cultivo de la remolacha (Villarías, 1999, citado en Urbano, 2008).

**Cultivos asociados y extractos de plantas.** Algunas plantas contienen compuestos alelopáticos, es decir, sustancias capaces de inhibir o ser tóxicas para el desarrollo de otras plantas, de patógenos o de nematodos. Estos compuestos vegetales pueden llegar al suelo al incorporar dichas plantas como enmienda orgánica o como extractos

vegetales, o ser liberados al mismo mientras la planta sigue su ciclo de cultivo, cualidad que es aprovechada incluyendo dichas plantas en rotaciones o asociaciones de cultivos (MBTOC, 2007). Las plantas más estudiadas han sido el neem (*Azadirachta indica*), sésamo (*Sesamun orientale*), diferentes especies de *Tagetes*, ricino (*Ricinus communis*) y mostaza (*Brassica campestris*).

**Barbechos o no cultivo.** Tienen por objetivo fundamental reducir las poblaciones al no encontrar el nematodo un hospedador adecuado (MBTOC, 2007). La principal limitación se debe a la presencia de plantas adventicias que puedan actuar como plantas hospedadoras y hacer que la alternativa pierda su efectividad. Las plantas adventicias deben ser eliminadas de forma inmediata para que el nematodo no encuentre un hospedador adecuado, o cuando *Meloidogyne* ya ha comenzado a parasitarlas pero aún no aparecen masas de huevos utilizando las plantas como “trampa” para el nematodo. El uso del barbecho está limitado en invernaderos donde la superficie de cultivo es escasa (Piedra Buena, 2004). No obstante se han descrito técnicas mixtas de barbecho y biofumigación cuyo efecto conjunto en viñedo es altamente positivo (Bello *et al.*, 2004). Las prácticas que incluyen la destrucción o eliminación de las raíces parasitadas o susceptibles de parasitar por los nematodos, detener la reproducción de los parásitos, reducir las poblaciones de éstos y eliminar, en su caso, la parte aérea, constituyen actuaciones favorables al control de nematodos.

**Época de plantación.** Es la adaptación de la fecha de plantación para que coincida con épocas donde las condiciones ambientales son desfavorables para la actividad del nematodo, como son las temperaturas inferiores a 15 °C en el caso de las especies termófilas, así como cuando la densidad de sus poblaciones del mismo son bajas, para prevenir daños en los cultivos. Esta práctica puede tener limitaciones en aquellos cultivos o zonas donde el periodo de producción está muy limitado, ya sea por condicionantes climáticas como comerciales (MBTOC, 1995).

**Laboreo.** El laboreo profundo puede reducir las poblaciones de nematodos al transportarlas a mayor profundidad del suelo, donde no llegan las raíces, a la vez que



estimula a la microflora antagonista edáfica y contribuye a la pérdida de humedad del suelo (MBTOC, 1995).

**Manejo de agua.** En algunas áreas donde la disponibilidad de agua y de suelo no son factores limitantes se pueden realizar periodos de inundación como medida de manejo de las poblaciones de nematodos. El efecto de esta práctica proviene de la anaerobiosis que causa, la cual actúa sobre los nematodos tanto de forma directa, disminuyendo el oxígeno disponible para su respiración, como de forma indirecta, por la producción de metabolitos por parte de los microorganismos anaerobios del suelo, los cuales son tóxicos para varios patógenos edáficos (Cook y Baker, 1983). La efectividad de la inundación aumenta con la incorporación previa de materia orgánica al suelo (MBTOC 1995). Además, se debe destacar que la lluvia y el agua de riego favorecen la propagación y dispersión de los nematodos. Un manejo adecuado del riego puede ayudar a prevenir algunos casos de propagación. Las técnicas de riego localizado pueden ayudar para que no se produzca su dispersión (Barres *et al.*, 2006). Por otro lado, Goitia (2004) ha destacado el impacto sobre la propagación de nematodos de la puesta en riego de áreas de viñedo que tradicionalmente se han cultivado en secano en la Península Ibérica.

**Cubiertas vivas.** Son cultivos no comerciales que se siegan en cierto estado de madurez, dejándolos sobre el suelo como cubiertas verdes o secas lo cual permite regular la temperatura del suelo, influyendo en la duración del ciclo de los nematodos. Por otra parte, su descomposición estimula la actividad de los microorganismos antagonistas de los patógenos del suelo (MBTOC, 1995).

**Cubiertas muertas o malojo.** También se pueden utilizar como cubiertas otros materiales, como cáscara de arroz o serrines provenientes de la industria forestal. Al igual que las cubiertas vivas, principalmente estas regulan la temperatura del suelo.

**Cultivos trampa.** Son una alternativa que puede contribuir favorablemente al manejo de las poblaciones de nematodos endoparásitos sedentarios, como los formadores de nódulos del género *Meloidogyne* o los formadores de quistes del género

*Heterodera*. Su empleo consiste en cultivar plantas que tengan un desarrollo rápido, sobre todo con un elevado desarrollo radicular y eliminarlas en el momento oportuno, antes de que los nematodos adultos realicen la puesta de huevos, es decir, completen un ciclo de vida. Resulta esencial en esta técnica destruir las raíces del cultivo trampa, para interrumpir el cultivo y al mismo tiempo también el desarrollo de las poblaciones de nematodos. Los cultivos trampa no resultarían eficaces en el caso de nematodos migratorios, sean ectoparásitos o endoparásitos, puesto que los estadios juveniles y adultos se desplazan continuamente de unas raíces a otras, sin que se les pueda impedir su alimentación y desarrollo. Convendría desarrollar protocolos o recomendaciones, que describan los modos de actuación más adecuados para la consecución de modo óptimo de los objetivos del cultivo trampa en el manejo de nematodos (Barres *et al.*, 2006).

**Fertilización del suelo y nutrición vegetal.** La resistencia de las plantas a los patógenos, cuando se realiza una fertilización y nutrición de la planta adecuadas, es bien conocido en agricultura. Por otro lado, hay que tener en cuenta que se ha demostrado que la fertilización nitrogenada puede tener efectos negativos sobre los nematodos fitoparásitos, y sobre todo su empleo por exceso puede repercutir negativamente en la capacidad de autorregulación de los suelos al reducir también los nematodos saprófagos y depredadores, al mismo tiempo que se ha observado un efecto negativo en la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa, encontrando una disminución de la nodulación producida por esta bacteria en los suelos tratados con dosis altas de nitrógeno (Bello *et al.*, 1994 a, b). Además una correcta fertilización puede estimular a los microorganismos antagonistas, o aumentar la resistencia del hospedador (resistencia inducida) o a través de otros mecanismos. La fertilización afecta tanto a la planta como a los patógenos, un efecto de lo cual es el efecto perjudicial que tiene el agregado de urea o fuentes de nitrógeno amoniacal sobre los nematodos fitoparásitos (Spiegel y Netzer, 1984). Este efecto se puede deber a cambios en la actividad de los microorganismos del suelo (MBTOC, 1995) o a los gases liberados por la descomposición biológica de estos fertilizantes en el suelo.

**Sustratos.** La utilización de sustratos es una alternativa muy empleada como medio de cultivo, sobre todo en determinadas formas de producción y cultivos en que no

es posible o efectivo el control de los patógenos. Su uso tiene como desventajas la desinfección de los sustratos, el manejo de residuos y prevención de vertidos, tanto de los propios sustratos como de las soluciones nutritivas (Barres *et al.*, 2006). Algunos sustratos (restos forestales compostados o no compostados) pueden tener un efecto supresivo sobre patógenos del suelo, especialmente hongos tales como *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* y varias *formae specialis* de *Fusarium oxysporum*. Su uso suele estar limitado a plantas ornamentales en maceta, pero tienen potencial para ser utilizados como fuentes de microorganismos antagonistas inductores de supresividad (Diáñez *et al.*, 2002, 2003).

**Manejo integrado.** El manejo integrado consiste en la utilización de técnicas de monitorización de las plagas y enfermedades, así como en la combinación de alternativas de manejo que sean respetuosas con el medio ambiente y viables desde el punto de vista económico. Los programas de tratamientos incluyen diferentes métodos biológicos, culturales, físicos, químicos y mecánicos, pero sobre todo hay que tener en cuenta que se deben basar en criterios ecológicos y agronómicos. En los sistemas agrarios en los cuales se venía utilizando el BM, es necesario sustituir su uso a través de sistemas de manejo integrado con criterios ecológicos, tanto por las ventajas que presentan, como por el hecho de que no existe una alternativa única que tenga la misma eficacia que este agroquímico (Rodríguez Kabana, 1986), señalando Bello *et al.* (1996, 1997, 2008 a) que es necesario diseñar una metodología teniendo en cuenta cada situación.

Oka (2010) hace una excelente revisión de los mecanismos relacionados con la supresión de organismos del suelo patógenos de vegetales, mediante la aplicación de gran variedad de materiales de origen orgánico, tales como abonos verdes y de origen animal, compost, plantas con efecto nematicida, materiales de origen proteico y otros, señalando que la eficacia en el control de nematodos no es siempre satisfactoria. Se resalta el interés de evaluar no sólo su eficacia, sino también la seguridad de los materiales de origen orgánico seleccionado, siendo necesario que se realicen, junto a las investigaciones multidisciplinarias que propone el autor, como aspectos fitoquímicos, microbiológicos de suelo, química y ecología, así como sobre los conocimientos en nematodos del suelo.



---

*Material y Métodos*

### **3.- Material y Métodos.**

#### **3.1.- Introducción.**

Se va a proceder a evaluar el poder nematicida y desinfectante de cuatro productos MANVERT®, cuya materia activa está constituida por un extracto vegetal. No se dispone de más información sobre estos productos debido a que este trabajo forma parte de un contrato de transferencia de resultados de investigación con la empresa responsable de la producción de éstos.

El ensayo se realizó sobre cultivo de tomate variedad San Pedro en un invernadero en la Universidad de Almería. Se ha llevado a cabo en dos fases, dependiendo del objetivo:

- primera fase: los productos se aplican como desinfectantes (***pre-trasplante***)
- segunda fase: los productos se aplican como nematicidas (***post-trasplante***)

En cuanto a instalaciones empleadas en la realización del ensayo se refiere, éste se divide también en dos etapas. Por un lado, una etapa de laboratorio y cámara de cultivo, para la cual se han empleado las instalaciones del departamento de Protección Vegetal de la Universidad de Almería, donde se han realizado todas las operaciones previas y posteriores al trabajo, como diseño de los tratamientos, inoculación, preparación de disoluciones, análisis de datos, etc. Por otro lado una etapa de campo donde se han empleado los invernaderos pertenecientes a la Universidad de Almería, en los que se han realizado las aplicaciones de los tratamientos con los productos, así como todas las operaciones que se derivan del ensayo.

#### **3.2.- Diseño experimental.**

En el presente ensayo se ha llevado a cabo la aplicación de tres productos suministrados por MANVERT®. La aplicación ha sido comparada con otros productos existentes en el mercado, Telone® (1,3-Dicloropropeno), Vydate® (Oxamilo) y una mezcla peroxiacética, y teniendo como referencia el tratamiento T0 (testigo) en el cual no se aplica ningún producto para discutir los resultados. Las aplicaciones se han realizado antes del trasplante y después del trasplante según las recomendaciones del fabricante y según el esquema siguiente:

**Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante):**

Con los siguientes tratamientos:

- T0: Testigo (sin producto)
- T1: Producto 1 (SUMINISTRADO MANVERT®)
- T2: Producto 2           “   “           “   “
- T3: Producto 3           “   “           “   “
- T4: Mezcla peroxiacética
- T5: Telone®

**Fase 2: Nematicida (post-trasplante):**

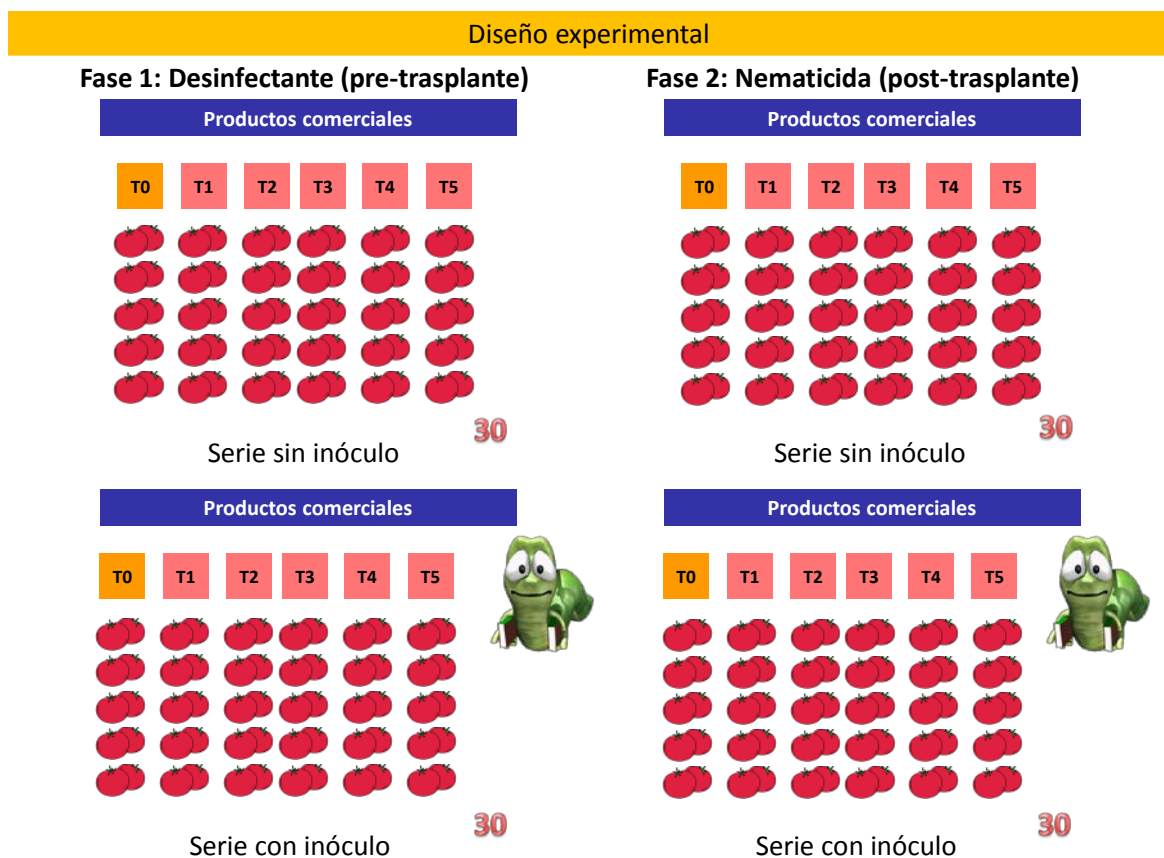
Los tratamientos son los siguientes:

- T0: Testigo (sin producto)
- T1: Producto 1 (SUMINISTRADO MANVERT)
- T2: Producto 2           “   “           “   “
- T3: Producto 3           “   “           “   “
- T4: Mezcla peroxiacética
- T5: Vydate®

En ambas fases se hacen dos series, una con inóculo de nematodos y otra adjunta a ésta con los mismos tratamientos pero sin inóculo para evaluar el efecto de los productos sobre el cultivo.

Cada tratamiento ha constado de cinco repeticiones, es decir, cinco macetas de 1 L, con dos plantas de tomate cada una.

Todo esto se puede observar en el siguiente esquema (*figura 10*):



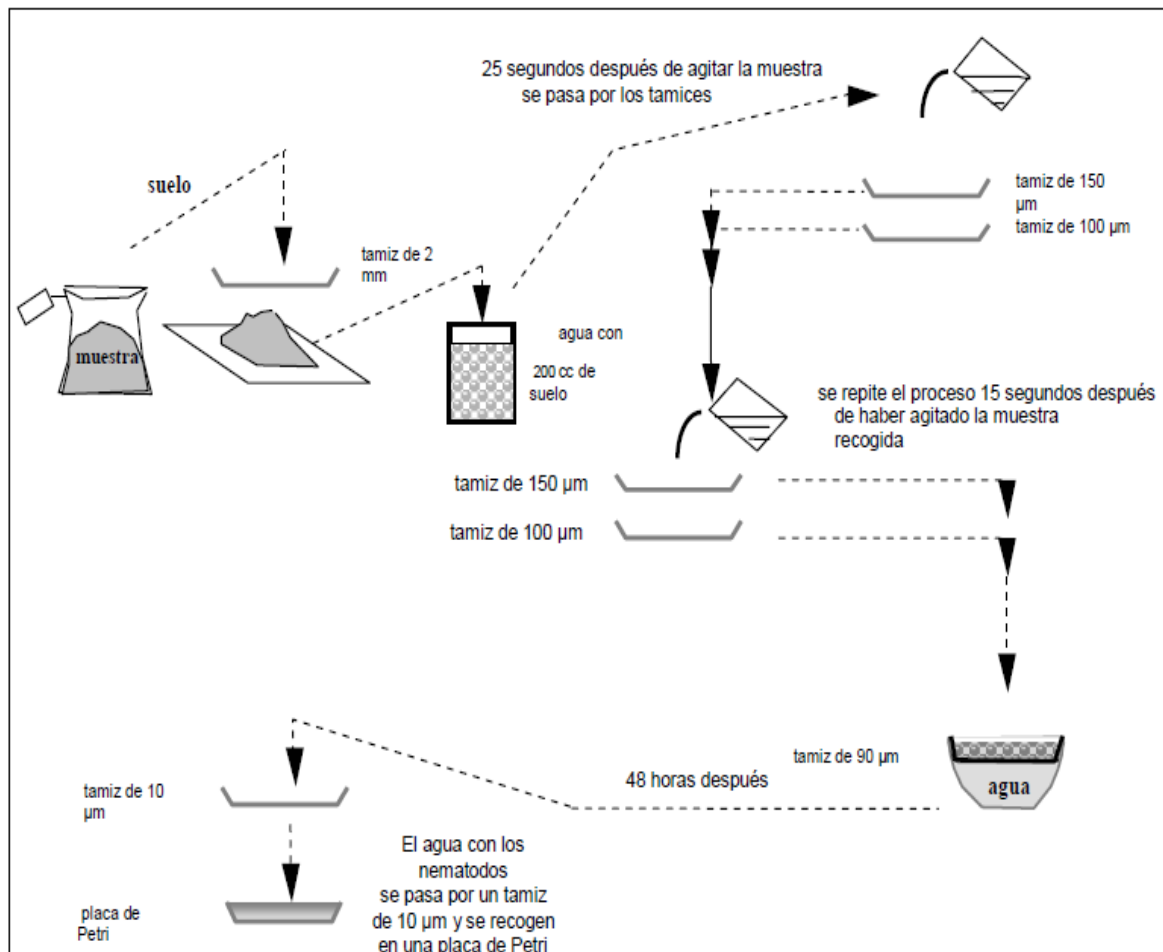
*Figura 10:* Diseño experimental del ensayo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética) y T5: Tratamiento 5 (Telone® en la Fase 1: desinfectante (pre-trasplante) y Vydate® en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante)) y el símbolo del tomate corresponde a cada repetición (macetas de 1 L con dos plantas de tomate).

### 3.3.- Inóculo.



La fuente de inóculo usada fueron trozos de raíces de plantas de melón y tomate y suelo infectados con nematodos del género *Meloidogyne* extraídos de un cultivo de la Finca Experimental UAL-ANECOOP.

Para corroborar la presencia de nematodos en la muestra, se procedió a la extracción de los mismos mediante el método de Flegg (1967) que se observa en la **figura 11**:



**Figura 11: Método de extracción de nematodos de Flegg (1967).**

Este método (**figura 11**) se fundamenta en los siguientes procesos: una vez pasado el periodo de remojo necesario de la muestra en un vaso de precipitado, se deposita en un recipiente de unos 30 cm de diámetro, añadiendo agua a presión y agitando activamente la muestra con la mano para poner en suspensión las partículas. Después de 25 segundos de sedimentación, el fluido sobrenadante se decanta a través de una batería

de dos cedazos de 150  $\mu\text{m}$  de apertura de malla el mayor y de 100  $\mu\text{m}$  el menor. El residuo recogido en los cedazos se lava suavemente y se recoge en un recipiente. Se repite el procedimiento y tras 15 segundos de sedimentación se decanta de nuevo a través de la misma batería de cedazos y se recoge igualmente el residuo.

El residuo de los cedazos se lava cuidadosamente y se vierte sobre un cedazo de nylon de 90  $\mu\text{m}$  de luz de malla y 12 cm de diámetro, que se coloca en un recipiente de plástico con diámetro diferenciado, 8,5 cm en la base y 13,5 cm en la parte superior y una altura aproximada de 9 cm, con agua suficiente para que el filtro y los residuos queden remojados. Pasadas 48 horas, el contenido del recipiente se pasa por un tamiz de 10  $\mu\text{m}$  de luz de malla y se recoge cuidadosamente en una placa de Petri para confirmar al observar a la lupa la presencia de nematodos libres en el suelo.



**Figura 12:** Mezcla de turba con la fuente de inóculo.

Una vez confirmada la presencia de nematodos se procedió a mezclar el suelo fuente de inóculo y las raíces afectadas troceadas con turba para aumentar el volumen de inóculo disminuyendo la densidad de las poblaciones de nematodos para simular al máximo posible unas condiciones reales de campo, este proceso se observa en la **figura 12**.

### **3.4.- Aplicación de los productos.**

La aplicación de los productos se realizó en el laboratorio del Departamento de Protección Vegetal de la Universidad de Almería y con el siguiente protocolo de actuación, dependiendo de las distintas fases del ensayo y según las recomendaciones del fabricante.

#### **3.4.1.- Aplicación de los productos en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante).**

En esta fase se pretende evaluar el poder desinfectante de los tratamientos, comparada su efectividad con dos productos comerciales, Telone® (1,3-Dicloropropeno) y una mezcla peroxiacética.

Antes de aplicar los tratamientos se prepara el sustrato, por un lado con nematodos (30 L: de mezcla de turba con suelo fuente de inóculo) y por otro libre de éstos (30 L: mezcla de turba y suelo fuente de inóculo esterilizado), para el cual se procedió a la esterilización en autoclave (**figura 13**) del suelo infectado por nematodos durante tres días consecutivos, a una esterilización de 1h a 121 °C por día para eliminar el efecto de la sintomatología por nematodos u otros patógenos.



**Figura 13: Autoclave.**

Una vez preparados los sustratos se procede al llenado de las macetas. Según el diseño experimental, preparamos 30 macetas con suelo inoculado y otras 30 con suelo libre de nematodos.



**Figura 14:** Soluciones de los productos de aplicación en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante).

La preparación de las soluciones de los productos se hizo con las siguientes dosis de aplicación (**cuadro 1**):

Tratamiento	Producto	Dosis L/ha
T1	Compuesto 1	100
T2	Compuesto 2	100
T3	Compuesto 3	100
T4	Mezcla peroxiacética	80
T5	Telone®	150

**Cuadro 1:** Dosis de las soluciones de los productos en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante).

A continuación se tratan las macetas (**figura 15**) simulando una aplicación al suelo con un volumen de caldo de 300 L/ha que equivale a aplicar 100 mL de solución de cada producto en sus correspondientes repeticiones (5 macetas para cada tratamiento), en dos series, una con inóculo y otra sin él. Tras esta operación restan 5+5 macetas, que son las que corresponden al tratamiento T0 y que se utilizan como testigo para comparar los resultados y a las que no se aplica ningún producto.



**Figura 15: Aplicación de los productos en las macetas en la Fase 1: Desinfectante**

Una vez preparadas todas las repeticiones se rotulan éstas para llevar un orden en el seguimiento, colocándolas por tratamientos en bandejas para recoger el agua de drenaje.

Para asegurar la efectividad del producto en el suelo se deja actuar durante una semana, colocando papel de aluminio sobre las macetas (**figura 16**) para evitar pérdidas por volatilización.



**Figura 16:** Conservación de las macetas tratadas durante una semana en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante).

Una vez transcurrido este tiempo se procede al trasplante (*figura 17*) de las plántulas de tomate procedentes de un semillero comercial, suministradas por la empresa responsable de la producción de los productos a aplicar, trasplantando dos en cada maceta.



**Figura 17:** Trasplante de plántulas de tomate procedentes de un semillero comercial.



A partir de este momento se comienza con la toma de datos de la aparición o no de síntomas característicos de infección por nematodos.

Hasta que el tamaño de las plantas lo permite están en la cámara de cultivo perteneciente al Departamento de Protección Vegetal de la Universidad de Almería, la cual está programada para que la duración del fotoperiodo sea de 16 horas de luz por día, la luminosidad sea de 18000 lux y el intervalo medio de temperatura diaria de 25-28°C.

Se realizaron riegos periódicos con fertilizante (Sumisolub<sup>®</sup>) a una dosis de 1 g/L de agua.

Cuando el desarrollo del cultivo lo requirió, se trasladaron las bandejas al invernadero para su mejor desarrollo (*figura 18 y 19*).



**Figura 18 y 19:** Plantas en la cámara de cultivo (izquierda), plantas en el invernadero (derecha).

### **3.4.2.- Aplicación de los productos en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante).**

En esta fase se utilizan los mismos 3 compuestos suministrados por MANVERT, pero esta vez los productos comerciales con los que se comparan sus eficacias son: Vydate<sup>®</sup> (Oxamilo) y la mezcla peroxiacética.

Para la aplicación de los tratamientos en esta fase se preparan, al igual que en la anterior 60 macetas, la mitad de ellas infectadas con nematodos y la otra mitad no, correspondiendo en repeticiones de 10 a cada uno de los tratamientos.

En esta fase llamada nematicida, la aplicación de los tratamientos se hace posterior al trasplante de las plántulas, que vuelve a ser de 2 plántulas por maceta.

Al igual que en la fase desinfectante las macetas y sus correspondientes bandejas para recoger el drenaje son rotuladas (**figura 20**) para seguir un orden y seguimiento adecuado.



**Figura 20:** Trasplante de las plántulas y rotulación en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante).

Pasados tres días desde la fecha de trasplante para que se supere el posible estrés producido por éste, se procede a la primera aplicación de los productos del ensayo con las siguientes dosis de aplicación (**cuadro 2**):



Tratamiento	Producto	Dosis L/ha
1	Compuesto 1	6
2	Compuesto 2	6
3	Compuesto 3	6
4	Mezcla peroxiacética	2,5
5	Vydate® (Oxamilo)	10

**Cuadro 2: Dosis de aplicación en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante).**

Se simula un tratamiento a través de riego por goteo a una dosis de riego de 50000 L/ha que equivale a aplicar 100 mL de cada solución a su correspondiente repetición.



**Figura 21: Preparación de las soluciones de los productos de aplicación en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante) en la campana extractora de gases.**

En esta fase las aplicaciones de los productos se repiten cada 10 días en el caso de 1, 2, 3 y 4, mientras que el 5 (Vydate®) sólo se lleva a cabo 3 veces a lo largo del ciclo (recomendación del fabricante).

Se realizan riegos periódicos con fertilizante y se trasladan las bandejas al invernadero cuando su desarrollo lo exige, igual que en la fase anterior.

### **3.5.- Evaluación de la eficacia de los productos objeto de estudio.**

Para la evaluación de la eficacia de los productos ensayados, se analiza la presencia o ausencia de síntomas y signos característicos de las infecciones provocadas por nematodos comparada con los correspondientes testigos y productos comerciales.

Para ello la evaluación se divide en dos fases, una en la que se analiza la parte aérea de la planta y otra la parte radicular.

#### **3.5.1.- Evaluación de la eficacia de los productos analizando la parte aérea.**

En esta fase de la evaluación se analizan la presencia de síntomas característicos de una infección por nematodos en la parte aérea de las plantas. Los más característicos suelen ser la aparición de amarillos foliares y un menor desarrollo del crecimiento, enanismo, e incluso la muerte de la planta.

Para llevar a cabo esta evaluación se revisan las plantas haciendo la toma de datos los lunes, miércoles y viernes de cada semana a partir del trasplante.

#### **3.5.2.- Evaluación de la eficacia de los productos analizando el sistema radical y el suelo.**

Para evaluar la eficacia de los tratamientos analizando el sistema radical y el suelo se espera hasta el final del ensayo, ya que para esta evaluación hay que proceder al arranque del cultivo.

Una vez eliminada la parte aérea se procede a separar las raíces de la fracción de suelo en la medida de lo posible para realizar los dos análisis.

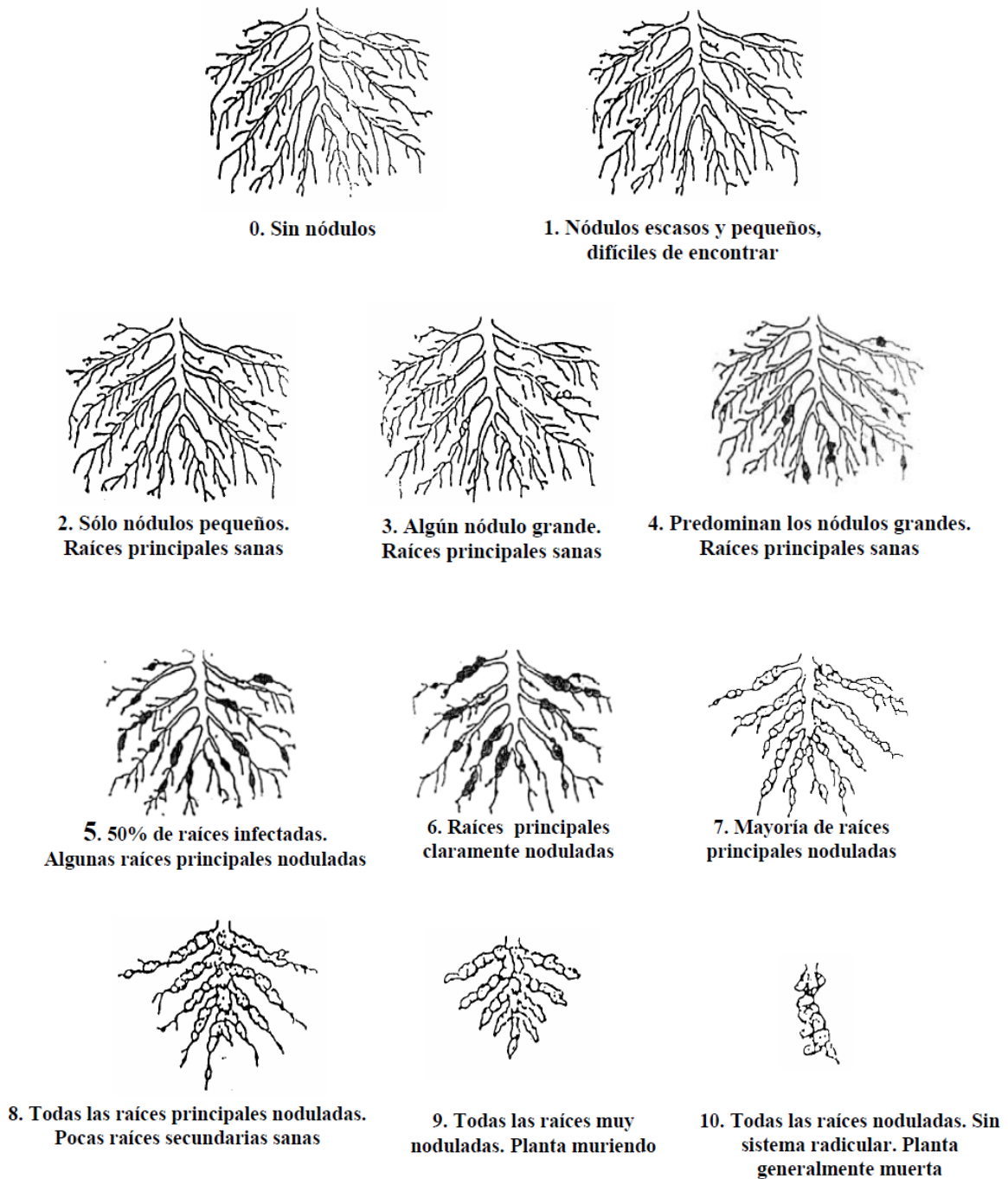
### 3.5.2.1.- Evaluación de la eficacia de los productos analizando el sistema radical.

Para analizar el sistema radical se lleva a cabo un proceso que consiste en someter las raíces, una vez separadas del suelo, a un fuerte lavado para separar las partículas de tierra que puedan quedar adheridas, obteniendo así las raíces limpias, ya que lo que vamos a cuantificar es la presencia de nódulos en éstas.



**Figura 22 y 23: Planta recién arrancada (izquierda). Raíces lavadas (derecha).**

Una vez contabilizados y anotados los nódulos de cada una de las plantas se procede a calcular el índice de nodulación, para lo cual se utiliza el índice visual de nodulación de Bridge y Page (1980) modificado (**figura 24**):



**Figura 24:** Índice visual de nodulación de Bridge y Page (1980) modificado.

**3.5.2.2.- Evaluación de la eficacia de los productos analizando el suelo.**

Para evaluar la eficacia de los productos analizando el suelo se confirma la ausencia o presencia de machos o juveniles libres en él mediante el método de extracción

de nematodos de Flegg (1967) anteriormente explicado, ya que se utilizó al analizar la muestra de suelo fuente de inóculo.

### **3.6.- Análisis estadístico de los datos obtenidos.**

Con los parámetros de índice de nodulación registrados se ha realizado un análisis estadístico con Statgraphics Plus 5.1 según el método LSD al 95%.

---

## *Resultados y Discusión*

## **4.- Resultados y Discusión.**

### **4.1.- Introducción.**

Los resultados del ensayo se agrupan según el diseño experimental del mismo en dos fases, la nematicida y la desinfectante, y éstas a su vez en dos series, una serie con nematodos en la que se pretende evaluar el efecto desinfectante-nematicida de los tratamientos, y otra adjunta a ésta para evaluar el posible efecto de los tratamientos sobre las plantas de tomate sin inóculo.

Los días de lectura de la aparición de síntomas en la parte aérea se han realizado los lunes, miércoles y viernes de cada semana.

La obtención de los resultados finales en los que se analizan las raíces y el suelo se han llevado a cabo al final del ensayo.

### **4.2.- Resultados de la evaluación de la eficacia de los productos en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante).**

#### **4.2.1.- Serie de tratamientos sin inóculo.**

Los resultados de esta serie se representan como una evolución de síntomas provocados por el efecto de los productos aplicados 7 días antes del trasplante y se sigue la siguiente escala (alfa-numérica) de valoración:

**0:** Sin síntomas (Planta sana)

**1:** Aparición de síntomas (Amarillos iniciales, enanismo)

**2:** Síntomas avanzados (Amarilla entera, planta muy pequeña)

**3:** Planta muerta

**#:** Marchitez (deshidratación)

**\*:** Marchitez en verde (quemaduras y seca de hojas)

**&:** Enanismo

## *Resultados y Discusión*

Se muestra en los **cuadros 3 y 4** el seguimiento de diferentes días de lectura y la evolución de los síntomas en la parte aérea.



<b>1 - TRATAMIENTO CON PRODUCTOS COMERCIALES</b>													
<b>SIN INÓCULO - ANTES DE TRANSPLANTAR</b>													
TRATAMIENTO	DÍAS DE COMPROBACIÓN DE LA APARICIÓN DE SÍNTOMAS EN LA PARTE AÉREA												
T0 (Testigo)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
T01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>T1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T11	0	1*	1*	1*	1*	1*	0	0	0	0	0	0	0
T12	1	1*	1*	1*	1*	1*	0	0	0	0	0	0	0
T13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>T2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T21	0	0	1	1	1	1	1&	1&	1&	1&	1&	1&	1&
T22	0	0	1	1	1	1*	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&
T23	0	1	1	1	1	1	1&	1&	1&	1&	1&	1&	1&
T24	0	1	1*	1*	1*	1*	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&
T25	0	1*	1*	1*	1*	3							
<b>T3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T31	1*	3											
T32	1*	3											
T33	1*	3											
T34	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>T4</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T42	1	3											
T43	0	0	1	1	1	1&	1&	1&	1&	1&	1&	1&	1&
T44	0	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*
T45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>T5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	REPETICIÓN			<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
T51	1#	3				1#	1#*	3					
T52	1#	3				1#	1#*	3					
T53	1#	3				1#	1#*	3					
T54	1#	3				1#	1#*	3					
T55	1#	3				1#	1#*	3					

**Cuadro 3:** Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea. Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante), Serie sin inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T5: Tratamiento 5 (Telone®), REPETICIÓN: 2º trasplante sobre el mismo suelo tras causarse la muerte del 1º, y en la escala de valores: 0: Planta sana, 1: aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta, #: Marchitez (deshidratación), \*: Marchitez en verde (quemaduras y seca de hojas) y &: Enanismo.

<b>1 - TRATAMIENTO CON PRODUCTOS COMERCIALES</b>													
<b>SIN INÓCULO - ANTES DE TRANSPLANTAR</b>													
TRATAMIENTO	DÍAS DE COMPROBACIÓN DE LA APARICIÓN DE SÍNTOMAS EN LA PARTE AÉREA												
T0 (Testigo)	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
T01	0	0	0	0	0								
T02	0	0	0	0	0								
T03	0	0	0	0	0								
T04	0	0	0	0	0								
T05	0	0	0	0	0								
<b>T1</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T11	0	0	0	0	0								
T12	0	0	0	0	0								
T13	0	0	0	0	0								
T14	0	0	0	0	0								
T15	0	0	0	0	0								
<b>T2</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T21	1&	1&	1&	1&	1&								
T22	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&								
T23	1&	1&	1&	1&	1&								
T24	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&								
T25													
<b>T3</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T31													
T32													
T33													
T34	0	0	0	0	0								
T35	0	0	0	0	0								
<b>T4</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T41	0	0	0	0	0								
T42													
T43	1	1	1	1	1								
T44	1	1*	1*	1*	1*								
T45	0	0	0	0	0								
<b>T5</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>
T51													
T52													
T53													
T54													
T55													

**Cuadro 4:** Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea. Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante), Serie sin inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T5: Tratamiento 5 (Telone®), REPETICIÓN: 2º trasplante sobre el mismo suelo tras causarse la muerte del 1º, y en la escala de valores: 0: Planta sana, 1: aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta, #: Marchitez (deshidratación), \*: Marchitez en verde (quemaduras y seca de hojas) y &: Enanismo.

**- Tratamiento 1 (Producto 1), T1:**

Se puede observar en la evolución de los síntomas para este tratamiento un amarilleo inicial en las repeticiones T11 y T12 que posteriormente se superó, produciéndose un desarrollo normal de las mismas sin diferencias con el desarrollo de las plantas no tratadas (T0).

**- Tratamiento 2 (Producto 2), T2:**

En la evolución en el desarrollo de las plantas tratadas con este producto se han observado síntomas desde la segunda lectura, finalizando el ensayo con evidentes síntomas de amarilleo y enanismo.

**- Tratamiento 3 (Producto 3), T3:**

En los resultados mostrados para el tratamiento 3 se ha observado que las repeticiones T31, T32 y T33 murieron al comienzo del ciclo, mientras que las otras dos repeticiones restantes no presentaron síntomas.

**- Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T4:**

El efecto de este tratamiento fue la aparición temprana de amarilleo, e incluso la muerte de una de las repeticiones, indicando una cierta fitotoxicidad.

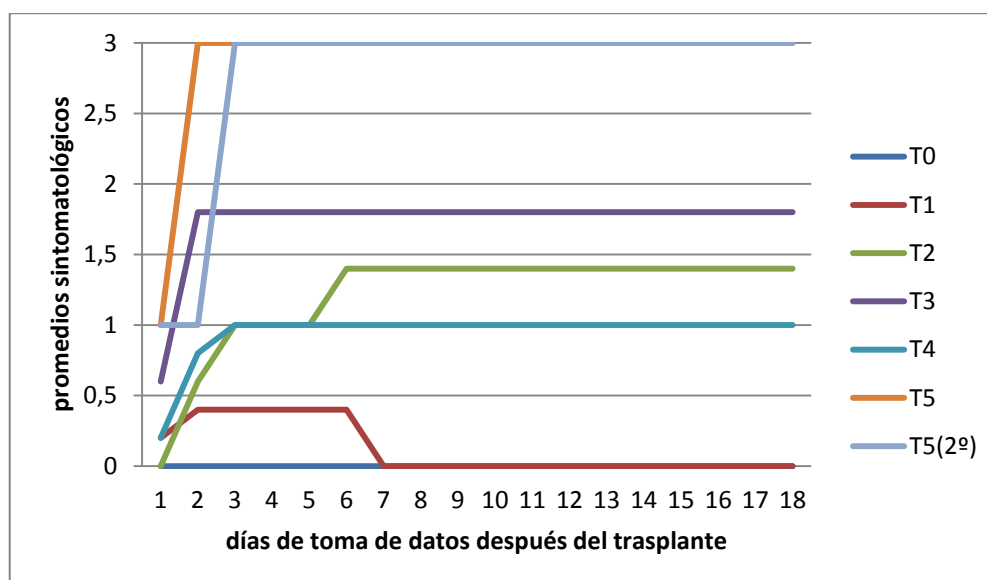
**- Tratamiento 5 (Telone®), T5:**

En este tratamiento apareció una fitotoxicidad clara al principio del ciclo, provocando la muerte de todas las plantas en el segundo día de lectura. Se realizó una repetición de trasplante transcurridos 13 días de la muerte de las primeras y se volvió a observar que provoca la muerte de éstas.



**Figuras 25, 26, 27, 28, 29 y 30: Sintomatología presentada en la parte aérea en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante), Serie sin inóculo. Donde (de izquierda a derecha y de arriba abajo) T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética) y T5: Tratamiento 5 (Telone®).**

En las **figuras 25, 26, 27, 28, 29 y 30** se puede observar la presencia de síntomas fitotóxicos en todos los tratamientos, excepto en el tratamiento 1 y en las dos repeticiones del tratamiento 3 que no murieron. El tratamiento 1 incluso presentó mayor desarrollo que el testigo.



**Figura 31:** Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante). Serie sin inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T5: Tratamiento 5 (Telone®), T5 (2º): Repetición del Tratamiento 5 (Telone®) y en la escala de valores: 0: Planta sana, 1: Aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados y 3: Planta muerta.

Al igual que en las figuras anteriores, en la **figura 31** se puede observar la evolución sintomatológica ya comentada, donde en todos los tratamientos aparecieron sintomatologías fitotóxicas tempranas, a los pocos días del trasplante, excepto en el T0 ya que es el tratamiento testigo y no se aplicó ningún producto. T1 presentó síntomas tempranos pero evolucionó finalmente con un desarrollo normal, en cambio estos síntomas permanecieron hasta el final del ensayo en T2 y T3 y T4. En el caso de T5 y su repetición T5 (2º) las plantas murieron a los pocos días del trasplante.

#### 4.2.2.- Serie de tratamientos con inóculo.

## *Resultados y Discusión*

En los **cuadros 5 y 6** se muestran los resultados obtenidos en cuanto a la aparición de síntomas en la parte aérea de las plantas se refiere. Éstas son en las que se aplicaron los productos antes del trasplante y fueron inoculadas con nematodos.

<b>3 - TRATAMIENTO CON PRODUCTOS COMERCIALES CON INÓCULO - ANTES DE TRANSPLANTAR</b>													
TRATAMIENTO	DÍAS DE COMPROBACIÓN DE LA APARICIÓN DE SÍNTOMAS EN LA PARTE AÉREA												
T0 (Testigo)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
T01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
T02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
T03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
T04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
T05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
T1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
T11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T2	1	2	REPETICIÓN			1	2	3	4	5	6	7	8
T21	1*	3				0	1	1	1*	1*	1*	3	
T22	3					0	1	1	1*	1*	1*	1*	1*
T23	3					0	1	1	1*	1*	1*	3	
T24	1*	3				0	1	1	1*	1*	1*	1*	1*
T25	1*	3				0	1	1	1*	1*	1*	3	
T3	1	REPETICIÓN			1	2	3	4	5	6	7	8	9
T31	3				0	1*	1*	1*	1*	0	0	0	0
T32	3				0	1*	1*	1*	1*	0	0	1	1
T33	3				0	0	0	0	0	0	0	0	0
T34	3				0	0	0	0	0	0	0	0	0
T35	3				0	0	0	0	0	0	0	0	0
T4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
T41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
T42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
T43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
T44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
T45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
T5	1	2	REPETICIÓN			1	2	3	4	5	6	7	8
T51	1#	3				1#	1#*	3					
T52	1#	3				1#	1#*	3					
T53	1#	3				1#	1#*	3					
T54	1#	3				1#	1#*	3					
T55	1#	3				1#	1#*	3					

**Cuadro 5:** Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea. Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante), Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T5: Tratamiento 5 (Telone®), REPETICIÓN: 2º trasplante sobre el mismo suelo tras causarse la muerte del 1º y en la escala de valores: 0: Planta sana, 1: aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta, #: Marchitez (deshidratación), \*: Marchitez en verde (quemaduras y seca de hojas) y &: Enanismo.

<b>3 - TRATAMIENTO CON PRODUCTOS COMERCIALES CON INÓCULO - ANTES DE TRANSPLANTAR</b>													
TRATAMIENTO	DÍAS DE COMPROBACIÓN DE LA APARICIÓN DE SÍNTOMAS EN LA PARTE AÉREA												
T0 (Testigo)	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
T01	1	1	1	1	1								
T02	1	1	1	1	1								
T03	1	1	1	1	1								
T04	1	1	1	1	1								
T05	1	1	1	1	1								
T1	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
T11	0	0	0	0	0								
T12	0	0	0	0	0								
T13	0	0	0	0	0								
T14	0	0	0	0	0								
T15	0	0	0	0	0								
T2	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
T21													
T22	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&							
T23													
T24	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&							
T25													
T3	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
T31	0	0	0	0	0								
T32	1	1	1	1	1								
T33	0	0	0	0	0								
T34	0	0	0	0	0								
T35	0	0	0	0	0								
T4	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
T41	1	1	1	1	1								
T42	1	1	1	1	1								
T43	1	1	1	1	1								
T44	1	1	1	1	1								
T45	1	1	1	1	1								
T5	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
T51													
T52													
T53													
T54													
T55													

**Cuadro 6:** Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea de las plantas en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante), Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T5: Tratamiento 5 (Telone®), REPETICIÓN: 2º trasplante sobre el mismo suelo tras causarse la muerte del 1º y en la escala de valores: 0: Planta sana, 1: aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta, #: Marchitez (deshidratación), \*: Marchitez en verde (quemaduras y seca de hojas) y &: Enanismo.



**- Tratamiento 1 (Producto 1), T1:**

Los resultados de los análisis sintomatológicos no mostraron síntomas de fitotoxicidad, enanismo ni clorosis provocada por nematodos.

**- Tratamiento 2 (Producto 2), T2:**

Con la aplicación de este producto se presentó una elevada fitotoxicidad que causó la muerte de las plantas en el primer y segundo día de lectura. Transcurridos 17 días de la muerte de éstas se volvió a plantar, produciéndose de nuevo la muerte de tres de las repeticiones y dejando en mal estado las otras dos.

**- Tratamiento 3 (Producto 3), T3:**

Los resultados en este tratamiento también fueron de altos síntomas de fitotoxicidad, produciéndose la muerte de la plantas en el primer día de lectura. En este caso también se hizo otro trasplante transcurridos 17 días, donde aparecieron algunos síntomas de amarilleo, pero las plantas continuaron su desarrollo.

**- Tratamiento 4 (Ácido acético), T4:**

Con la aplicación de este tratamiento se han obtenido como resultados un leve amarilleo al final del ciclo, provocados por la infección por nematodos, dato que se corroboró con el análisis de las raíces.

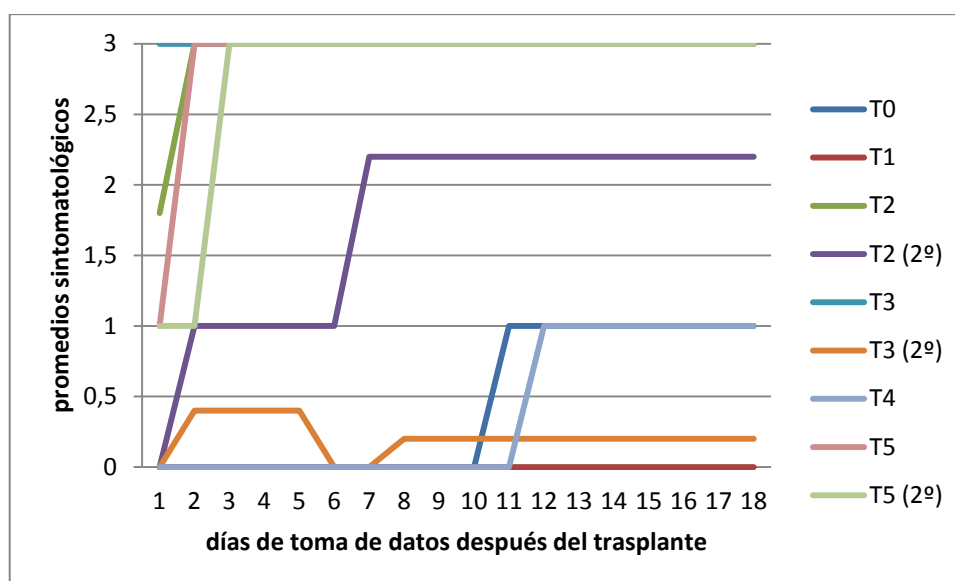
**- Tratamiento 5 (Telone®), T5:**

Al igual que en la serie sin inóculo (pre-trasplante) se produjo una alta fitotoxicidad produciéndose la muerte de las plantas tanto en la primera como en la segunda repetición (transcurridos 13 días desde la muerte de las primeras).



**Figuras 32, 33, 34, 35, 36 y 37:** Sintomatología presentada en la parte aérea de las plantas en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante), serie con inóculo. Donde (de izquierda a derecha y de arriba abajo) T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética) y T5: Tratamiento 5 (Telone®).

En las **figuras 32, 33, 34, 35, 36 y 37** se observa un evidente enanismo en los tratamientos T2, T3 y T5 provocados por fitotoxicidad, se presentaron en los primeros días tras la aplicación de los tratamientos. En T1 se observa un desarrollo normal y en T4 un leve amarilleo. En el tratamiento testigo no se aprecian síntomas, pero apareció después amarilleo provocado por la infección de nematodos.



**Figura 38:** Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante). Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T2 (2º) Repetición de T2, T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T3 (2º) Repetición de T3, T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T5: Tratamiento 5 (Telone®), T5 (2º): Repetición del Tratamiento 5, y en la escala de valores: 0: Planta sana, 1: Aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados y 3: Planta muerta.

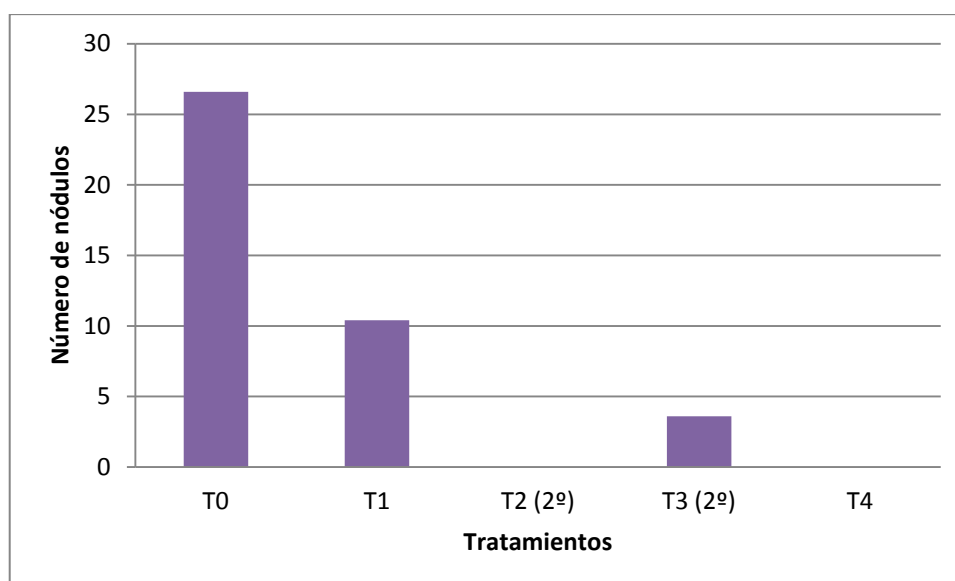
En la **figura 38** se puede observar visualmente los resultados obtenidos en la evolución sintomatológica de la parte aérea de las plantas. La presencia de síntomas característicos de las infecciones de nematodos aparecieron como amarilleo en el tratamiento 0 (testigo) ya que es el único tratamiento en el que no se aplicó ningún producto. En la segunda repetición del tratamiento 3 y en el tratamiento 4 también se presentaron estos síntomas característicos. La presencia de los síntomas en T2, T3 y T5, es provocada por la fitotoxicidad que ya apareció anteriormente en la serie que no estaba inoculada con nematodos y se presentó este síntoma muy temprano, no pudiendo haber infectado los nematodos a las plantas aún.

Al final del ensayo, una vez que se eliminó la parte aérea se contabilizó el número de nódulos presentes en las raíces de las plantas y se calculó en índice de nodulación mediante el índice visual de Bridge y Page (1980), dando como resultados (**cuadro 7**):

## Resultados y Discusión

TRATAMIENTO	NÚMERO DE NÓDULOS	ÍNDICE DE NODULACIÓN
<b>T0</b>		
T01	35	2
T02	52	2
T03	24	1
T04	12	1
T05	10	1
<b>T1</b>		
T11	7	1
T12	15	1
T13	13	1
T14	9	1
T15	8	1
<b>T2 (2º)</b>		
T21	0	0
T22	0	0
T23	0	0
T24	0	0
T25	0	0
<b>T3 (2º)</b>		
T31	0	0
T32	0	0
T33	0	0
T34	0	0
T35	0	0
<b>T4</b>		
T41	0	0
T42	0	0
T43	0	0
T44	0	0
T45	0	0

**Cuadro 7:** Resultados en la contabilización de nódulos de las raíces e índice de nodulación al final del ensayo en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante). Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2 (2º): Repetición del Tratamiento 2 (Producto 2), T3 (2º): Repetición del Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética) y los valores del índice de nodulación: 0: sin nódulos, 1: nódulos escasos y pequeños, difíciles de encontrar y 2: sólo nódulos pequeños, raíces principales sanas.



**Figura 39:** Resultados en la contabilización de nódulos de las raíces al final del ensayo en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante). Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2 (2º): Repetición del Tratamiento 2 (Producto 2), T3 (2º): Repetición del Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética).

En el **cuadro 7** y en la **figura 39** se reflejan los resultados de la aplicación de los productos en el sistema radical. El mayor número de nódulos lo presentó el tratamiento T0 (Testigo), lo que indica cierta efectividad del resto de los tratamientos al ser éste el único en el que no se aplicó ningún producto. T4 no presentó ningún nódulo siendo la efectividad del producto 4 total, en cambio en el caso de T1 y T3 (2º) hubo presencia de nódulos, lo que indica que los productos aplicados en estos tratamientos no son eficaces. En los tratamiento T2, T3, T5 y T5 (2º) las plantas murieron por fitotoxicidad antes del análisis radicular, aunque éstas no presentaban nódulos.

Una vez analizadas las raíces se analizó el suelo mediante el método de extracción de Flegg (1967) para comprobar la presencia o ausencia de nematodos libres en el suelo. Los resultados de estos análisis fueron positivos en T0, T1, y T3 (2º) evidenciando una vez más la baja eficacia de los correspondientes productos y negativos en T2, T2(2º), T3, T4, T5 y T5 (2º), pero presentando las plantas tratadas con los correspondientes productos

una gran fitotoxicidad, a excepción del tratamiento 4, donde sólo se presentó un leve amarilleo al final del ensayo.

A la vista de los resultados se deduce que en cuanto a eficacia desinfectante de nematodos los productos 2, 3, 4 y 5 son claramente eficaces, ya que no aparecieron ni síntomas ni signos provocados por nematodos, pero sí una alta toxicidad hacia las plantas (menor en el producto 4), es decir, estos productos actuarían en una relación directa eficacia/fitotoxicidad, a mayor eficacia mayor fitotoxicidad. En el caso del producto 1 no provocó fitotoxicidad pero sí hubo signos característicos de infecciones por nematodos.

#### **4.3.- Resultados de la evaluación de la eficacia de los productos en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante).**

Los resultados de esta fase corresponden a las plantas tratadas después del trasplante.

##### **4.3.1.- Serie de Tratamientos sin inóculo.**

Al igual que en la fase anterior se hizo una serie adjunta a la principal para observar el efecto de los tratamientos sobre el cultivo. Los resultados obtenidos del seguimiento en la parte aérea se exponen en los **cuadros 8 y 9**:

<b>2 - TRATAMIENTO CON PRODUCTOS COMERCIALES</b>													
<b>SIN INÓCULO - DESPUES DE TRANSPLANTAR</b>													
TRATAMIENTO	DÍAS DE COMPROBACIÓN DE LA APARICIÓN DE SÍNTOMAS EN LA PARTE AÉREA												
T0 (Testigo)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
T01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>T1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>T2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>T3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T31	0	0	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	0	0	0	0
T32	0	0	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	0	0	0	0
T33	0	0	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	0	0	0	0
T34	0	0	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	0	0	0	0
T35	0	0	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	0	0	0	0
<b>T4</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>T5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T51	0	1*	1*	1*	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&
T52	0	1*	1*	1*	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&
T53	0	1*	1*	1*	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&
T54	0	1*	1*	1*	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&
T55	0	1*	1*	1*	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&

**Cuadro 8:** Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante), Serie sin inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T5: Tratamiento 5 (Vydate®) y en la escala de valores: 0: Planta sana, 1: aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta, #: Marchitez (deshidratación), \*: Marchitez en verde (quemaduras y seca de hojas) y &: Enanismo.

<b>2 - TRATAMIENTO CON PRODUCTOS COMERCIALES</b>													
<b>SIN INÓCULO - DESPUES DE TRANSPLANTAR</b>													
TRATAMIENTO	DÍAS DE COMPROBACIÓN DE LA APARICIÓN DE SÍNTOMAS EN LA PARTE AÉREA												
T0 (Testigo)	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
T01	0	0	0	0	0	0	0						
T02	0	0	0	0	0	0	0						
T03	0	0	0	0	0	0	0						
T04	0	0	0	0	0	0	0						
T05	0	0	0	0	0	0	0						
<b>T1</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T11	1	1	1	1	1	1	1						
T12	0	0	0	0	0	0	0						
T13	0	0	0	0	0	0	0						
T14	1	1	1	1	1	1	1						
T15	0	0	0	0	0	0	0						
<b>T2</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T21	0	0	0	0	0	0	0						
T22	1	1	1	1	1	1	1						
T23	1	1	1	1	1	1	1						
T24	1	1	1	1	1	1	1						
T25	1	1	1	1	1	1	1						
<b>T3</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T31	0	0	0	0	0	0	0						
T32	0	0	0	0	0	0	0						
T33	0	0	0	0	0	0	0						
T34	0	0	0	0	0	0	0						
T35	0	0	0	0	0	0	0						
<b>T4</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T41	0	0	0	0	0	0	0						
T42	0	0	0	0	0	0	0						
T43	0	0	0	0	0	0	0						
T44	0	0	0	0	0	0	0						
T45	0	0	0	0	0	0	0						
<b>T5</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T51	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&						
T52	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&						
T53	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&						
T54	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&						
T55	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&	1*&						

**Cuadro 9:** Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante), Serie sin inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T5: Tratamiento 5 (Vydate®) y en la escala de valores: 0: Planta sana, 1: aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta, #: Marchitez (deshidratación), \*: Marchitez en verde (quemaduras y seca de hojas) y &: Enanismo.



**- Tratamiento 1 (Producto 1), T1:**

Los resultados obtenidos en la aplicación de este tratamiento mostraron leves síntomas de fitotoxicidad en dos de las repeticiones al final del ciclo, presentando amarilleo.

**- Tratamiento 2 (Producto 2), T2:**

En este tratamiento se presentó amarilleo y enanismo al final del ciclo de cultivo en la mayoría de las plantas, presentando éstas una fitotoxicidad moderada.

**- Tratamiento 3 (Producto 3), T3:**

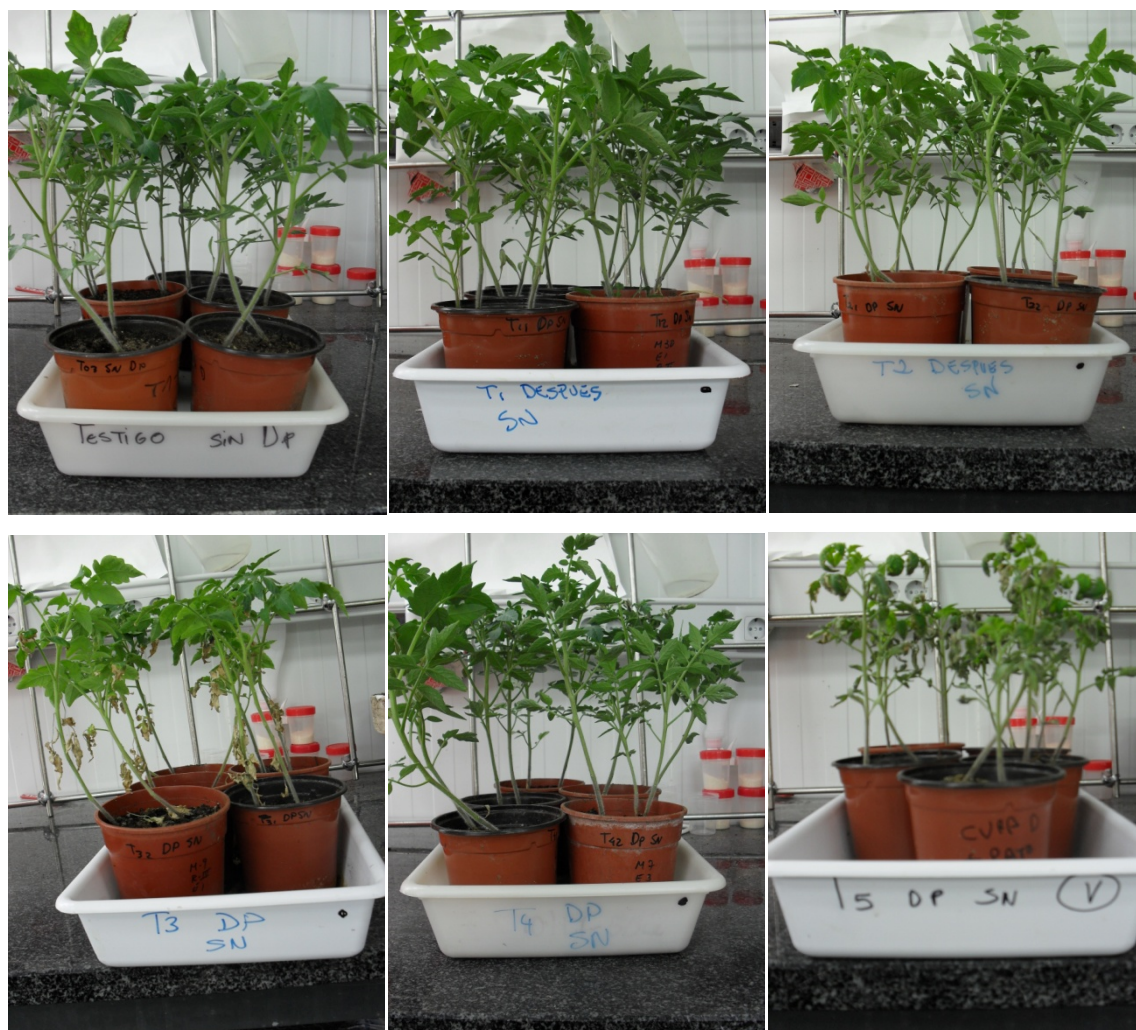
Al comienzo de las observaciones sintomatológicas en la parte aérea los resultados que se obtuvieron fueron la aparición de amarilleo y marchitez que con el desarrollo de la planta se superaron.

**- Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T4:**

Las plantas tratadas con el producto 4 no presentaron ningún tipo de síntoma, tuvieron un desarrollo normal, comparado con el testigo, durante todo el ciclo.

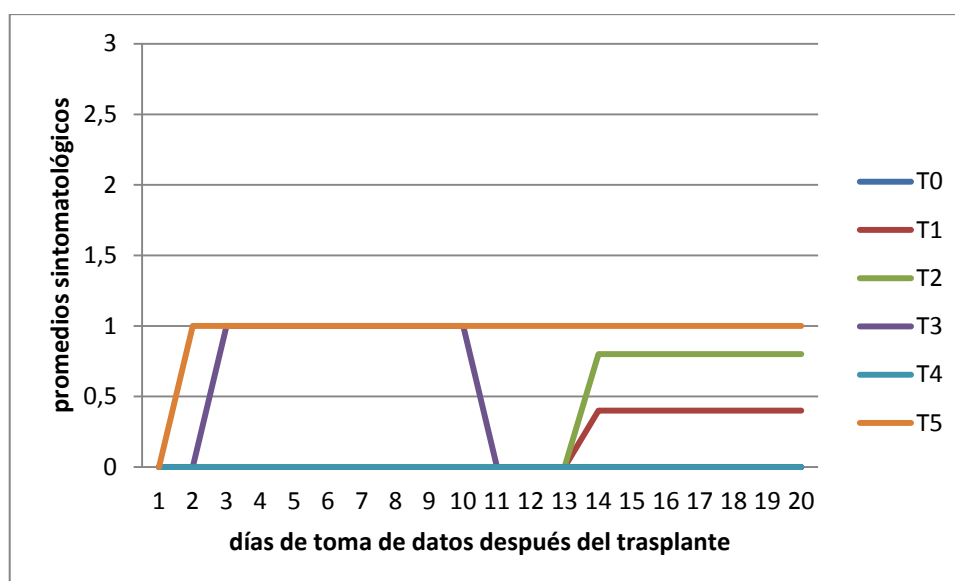
**- Tratamiento 5, (Vydate®), T5:**

En los resultados de la aplicación de este producto comercial se presentó una gran fitotoxicidad desde el principio, impidiendo el desarrollo normal de la planta.



**Figuras 40, 41, 42, 43, 44 y 45:** Sintomatología presentada en la parte aérea de las plantas en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante), serie sin inóculo. Donde (de izquierda a derecha y de arriba abajo) T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética) y T5: Tratamiento 5 (Vydate®).

En las **figuras 40, 41, 42, 43, 44 y 45** se pueden observar los síntomas fitotóxicos que se presentaron en la serie sin inóculo de la fase nematicida, donde aparecieron síntomas evidentes respecto al testigo en T2 y T3 (moderada) con amarilleo en T2 y T3, y seca de hojas en la zona basal de T3 y T5 (alta) con un enanismo acentuado.



**Figura 46:** Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie sin inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T5: Tratamiento 5 (Vydate®), 0: Planta sana, 1: Aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta.

En la **figura 46** se muestra la evolución de los síntomas provocados por la aplicación de los productos en esta fase, donde T1 y T2 mostraron fitotoxicidad al final del desarrollo, en T3 y T5 apareció al principio del ciclo, superándose con un desarrollo normal comparado con el testigo en el caso de T3 y se mantuvieron hasta el final en T5. El tratamiento T4 no presentó síntomas de fitotoxicidad en todo el ensayo.

#### 4.3.2.- Serie de Tratamientos con inóculo.

A continuación se exponen los resultados obtenidos a través de los distintos análisis para comprobar la eficacia nematicida de los productos ensayados. Los resultados obtenidos a través del análisis de la parte aérea se pueden observar en los **cuadros 10 y 11**:

<b>4 - TRATAMIENTO CON PRODUCTOS COMERCIALES CON INÓCULO - DESPUES DE TRANSPLANTAR</b>													
TRATAMIENTO	DÍAS DE COMPROBACIÓN DE LA APARICIÓN DE SÍNTOMAS EN LA PARTE AÉREA												
T0 (Testigo)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
T01	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>T1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>T2</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
T22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
T23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
T24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
T25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
<b>T3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T31	0	0	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	0
T32	0	0	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	0
T33	0	0	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	0
T34	0	0	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	0
T35	0	0	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	1*	0
<b>T4</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>T5</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
T51	0	0	1*	3									
T52	0	0	1*	3									
T53	0	0	1*	3									
T54	0	0	1*	3									
T55	0	0	1*	3									

**Cuadro 10:** Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante), Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T5: Tratamiento 5 (Vydate®) y en la escala de valores: 0: Planta sana, 1: aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta, #: Marchitez (deshidratación), \*: Marchitez en verde (quemaduras y seca de hojas) y &: Enanismo.

4 - TRATAMIENTO CON PRODUCTOS COMERCIALES CON INÓCULO - DESPUES DE TRANSPLANTAR													
TRATAMIENTO	DÍAS DE COMPROBACIÓN DE LA APARICIÓN DE SÍNTOMAS EN LA PARTE AÉREA												
T0 (Testigo)	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
T01	1	1	1	1	1	1	1						
T02	1	1	1	1	1	1	1						
T03	1	1	1	1	1	1	1						
T04	1	1	1	1	1	1	1						
T05	1	1	1	1	1	1	1						
<b>T1</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T11	0	0	0	0	0	0	0						
T12	0	0	0	0	0	0	0						
T13	0	0	0	0	0	0	0						
T14	0	0	0	0	0	0	0						
T15	0	0	0	0	0	0	0						
<b>T2</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T21	1	1	1	1	1	1	1						
T22	1	1	1	1	1	1	1						
T23	1	1	1	1	1	1	1						
T24	1	1	1	1	1	1	1						
T25	1	1	1	1	1	1	1						
<b>T3</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T31	0	0	0	0	0	0	0						
T32	0	0	0	0	0	0	0						
T33	0	0	0	0	0	0	0						
T34	0	0	0	0	0	0	0						
T35	0	0	0	0	0	0	0						
<b>T4</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T41	0	0	0	0	0	0	0						
T42	0	0	0	0	0	0	0						
T43	0	0	0	0	0	0	0						
T44	0	0	0	0	0	0	0						
T45	0	0	0	0	0	0	0						
<b>T5</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>
T51													
T52													
T53													
T54													
T55													

**Cuadro 11:** Resultados de la evolución en la aparición de síntomas en la parte aérea en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante), Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T5: Tratamiento 5 (Vydate®) y en la escala de valores: 0: Planta sana, 1: aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta, #: Marchitez (deshidratación), \*: Marchitez en verde (quemaduras y seca de hojas) y &: Enanismo.

**- Tratamiento 1 (Producto 1), T1:**

Los resultados obtenidos en la aplicación de este tratamiento no mostraron síntomas en la parte aérea.

**- Tratamiento 2 (Producto 2), T2:**

En este tratamiento se presentó amarilleo y enanismo al final del ciclo de cultivo en las plantas.

**- Tratamiento 3 (Producto 3), T3:**

Al comienzo los resultados fueron la aparición de amarilleo y marchitez que con el desarrollo de la planta desaparecieron.

**- Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética), T4:**

Las plantas no presentaron ningún tipo de síntoma, teniendo un desarrollo normal, comparado con el testigo.

**- Tratamiento 5, (Vydate®), T5:**

En los resultados de la aplicación de este producto comercial se obtuvo un acentuado enanismo y amarilleo desde el principio, que impidió el desarrollo normal de las plantas.





**Figuras 47, 48, 49, 50, 51 y 52:** Sintomatología presentada en la parte aérea de las plantas en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante), serie con inóculo. Donde (de izquierda a derecha y de arriba abajo) T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla peroxiacética) y T5: Tratamiento 5 (Vydate®).

En las **figuras 47, 48, 49, 50, 51 y 52** se pueden observar los síntomas que presentaron los distintos tratamientos, donde los más evidentes se presentaron en el T5 con una gran fitotoxicidad. En T3 también se apreció amarilleo temprano que se superaron posteriormente y en T2 aparecieron más tarde. En T1 y T4 no se mostró ningún síntoma en la parte aérea de la planta.

Al representar los resultados en esta serie como una evolución de los síntomas de la parte aérea mediante gráficas (**figuras 53, 54, 55, 56 y 57**), se ha hecho cada

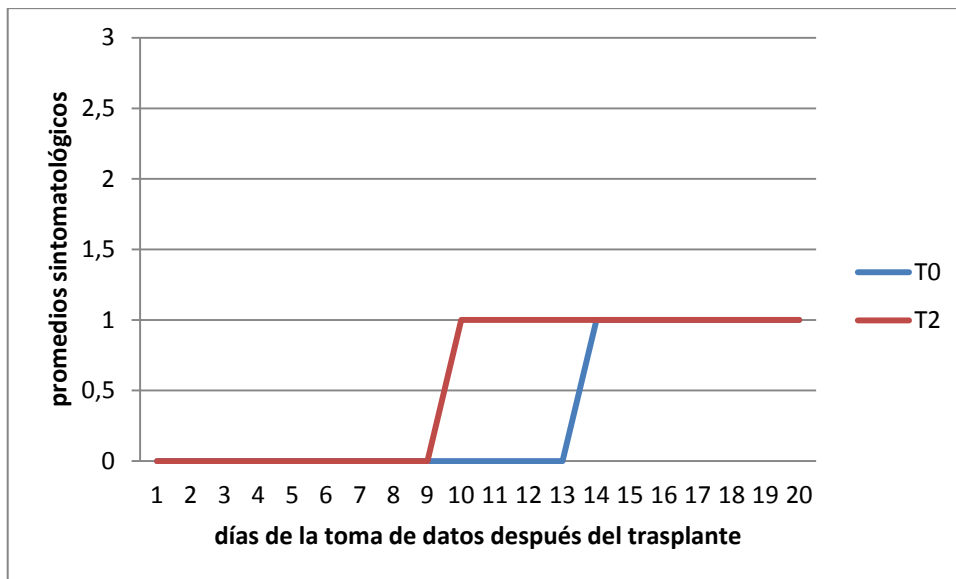
tratamiento por separado comparando con el testigo, ya que se producen muchas zonas de solape con los mismos resultados y es más difícil de analizar visualmente



**Figura 53:** Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), 0: Planta sana, 1: Aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta.

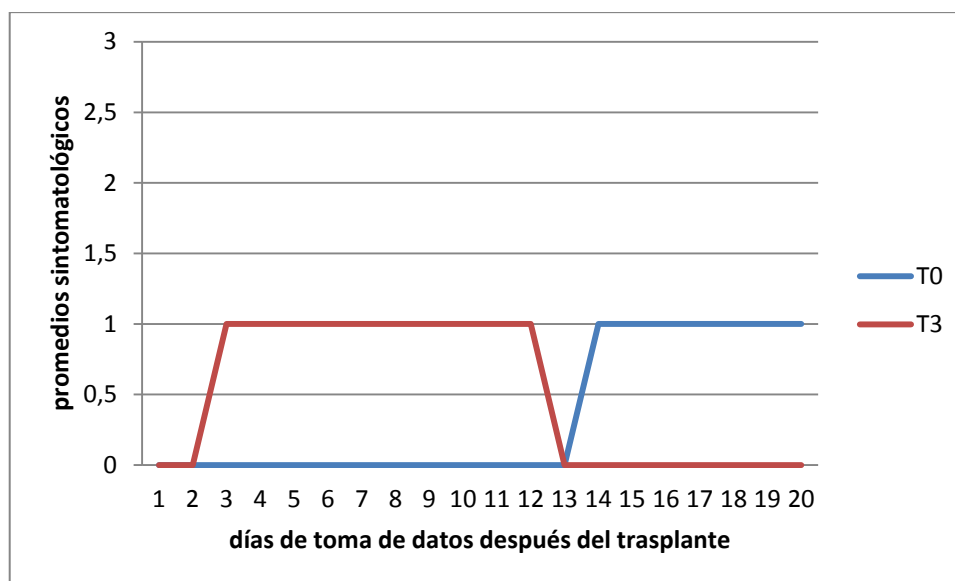
En la **figura 53** se puede observar que el tratamiento 1 fue eficaz aparentemente, no presentando síntomas en la parte aérea. El tratamiento 0 (testigo) si que presentó síntomas en la parte aérea al final del ciclo.





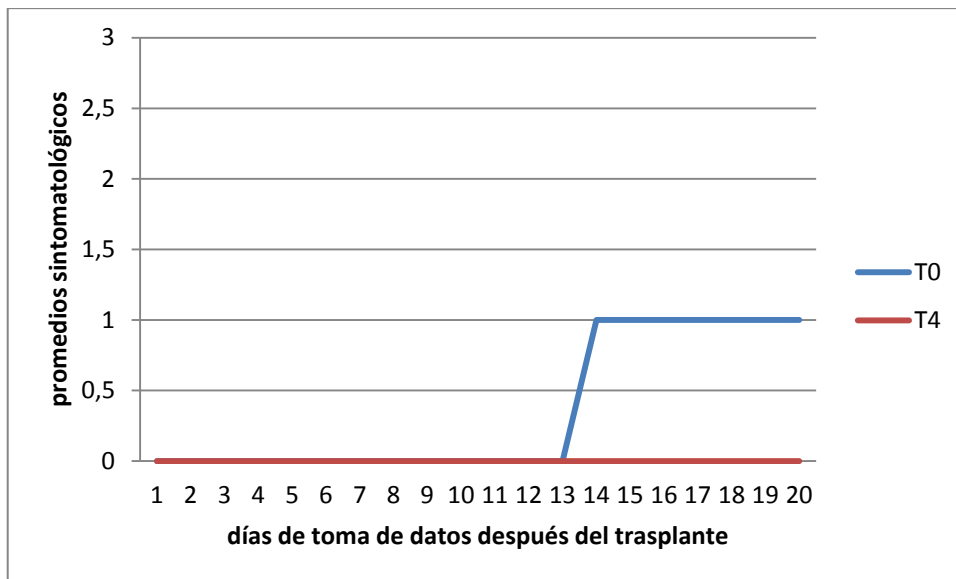
**Figura 54:** Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), 0: Planta sana, 1: Aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta.

La **figura 54** representa gráficamente la evolución en la aparición de los síntomas en la parte aérea de T2 comparado con el tratamiento testigo, donde los dos presentaron síntomas, más prematuros en T2 que en T0, indicando la baja eficacia del producto 2.



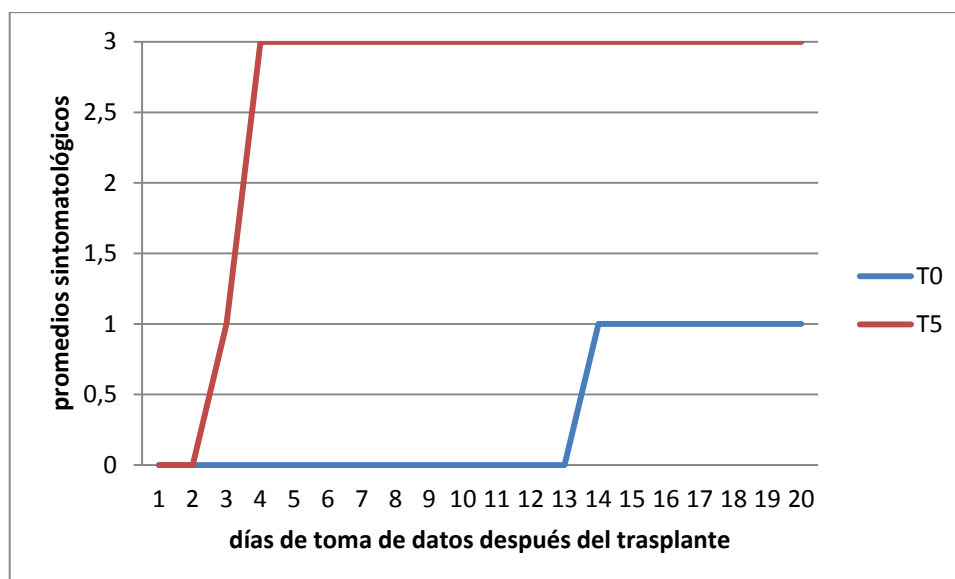
**Figura 55:** Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), 0: Planta sana, 1: Aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta.

En la **figura 55** se muestran los resultados obtenidos en el análisis de la parte aérea en esta fase, del tratamiento 3, donde, comparado con el tratamiento testigo, mostró síntomas iniciales que desaparecieron posteriormente evolucionando con un desarrollo normal.



**Figura 56:** Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T4: Tratamiento 4 (Mezcla Peroxiacética), 0: Planta sana, 1: Aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta.

La **figura 56** se representan los resultados obtenidos en el análisis de la parte aérea en la aplicación del producto 4 (Mezcla peroxiacética). En este tratamiento no aparecieron síntomas característicos de infestaciones por nematodos.



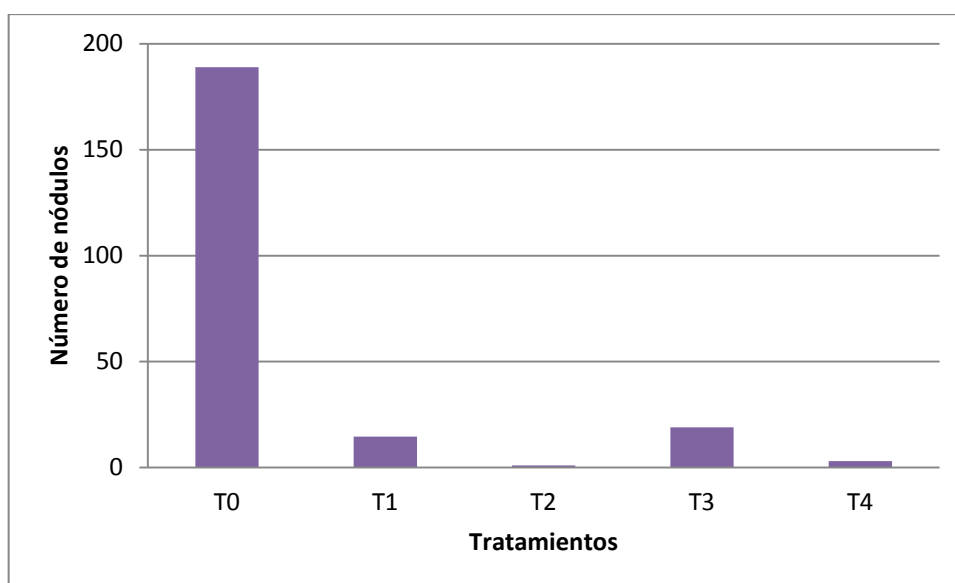
**Figura 57:** Resultados de la evolución de los síntomas en la parte aérea en el tiempo. Promedios sintomatológicos de la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T5: Tratamiento 5 (Vydate®), 0: Planta sana, 1: Aparición de síntomas iniciales, 2: Presencia de síntomas avanzados, 3: Planta muerta.

La **figura 57** muestra gráficamente que se produjo la muerte temprana por fitotoxicidad en las plantas tratadas con el producto 5 (Vydate®).

Al final del ensayo, al igual que en la fase anterior y para corroborar que la presencia de síntomas en la parte aérea son provocados por la infestación de nematodos, una vez eliminada la parte aérea se contabilizó el número de nódulos presentes en las raíces de las plantas y se calculó en índice de nodulación mediante el índice visual de Bridge y Page (1980), dando como resultados (**cuadro 12**):

TRATAMIENTO	NÚMERO DE NÓDULOS	ÍNDICE DE NODULACIÓN
<b>T0</b>		
T01	370	2
T02	269	2
T03	107	2
T04	69	2
T05	130	2
<b>T1</b>		
T11	9	1
T12	30	1
T13	10	1
T14	17	1
T15	7	1
<b>T2</b>		
T21	2	1
T22	3	1
T23	0	0
T24	0	0
T25	0	0
<b>T3</b>		
T31	30	1
T32	33	1
T33	5	1
T34	15	1
T35	12	1
<b>T4</b>		
T41	5	1
T42	0	0
T43	4	1
T44	6	1
T45	0	0
<b>T5</b>		
T51	---	---
T52	---	---
T53	---	---
T54	---	---
T55	---	---

**Cuadro 12:** Resultados en la contabilización de nódulos de las raíces e índice de nodulación al final del ensayo en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3), T4: Tratamiento 4 (Mezcla Peroxiacética), T5: Tratamiento 5 (Vydate®), ---: muerte antes del análisis y los valores del índice de nodulación: 0: sin nódulos, 1: nódulos escasos y pequeños, difíciles de encontrar y 2: sólo nódulos pequeños, raíces principales sanas.



**Figura 58:** Resultados en la contabilización de nódulos de las raíces al final del ensayo en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante). Serie con inóculo. Donde T0: Tratamiento 0 (Testigo), T1: Tratamiento 1 (Producto 1), T2: Tratamiento 2 (Producto 2), T3: Tratamiento 3 (Producto 3) y T4: Tratamiento 4 (Mezcla Peroxiacética).

En el **cuadro 12** y la **figura 58** se reflejan los resultados de la aplicación de los productos en el sistema radical, donde se contabilizó mayor número de nódulos en las plantas del tratamiento T0 (Testigo) que en el resto, lo que indica cierta efectividad de los productos. T2 y T4 presentaron pocos nódulos en comparación con el testigo y en T1 y T3 tuvieron una mayor presencia de éstos, pero siempre menor que el T0. En T5 las plantas murieron por fitotoxicidad antes del análisis radicular, aunque éstas no presentaban nódulos.

Una vez analizadas las raíces también se analizó el suelo mediante el método de extracción de Flegg (1967) para comprobar la presencia o ausencia de nematodos libres en el suelo. Los resultados de estos análisis fueron positivos en todos los tratamientos excepto en T5, evidenciando una vez más la baja eficacia de los correspondientes productos.

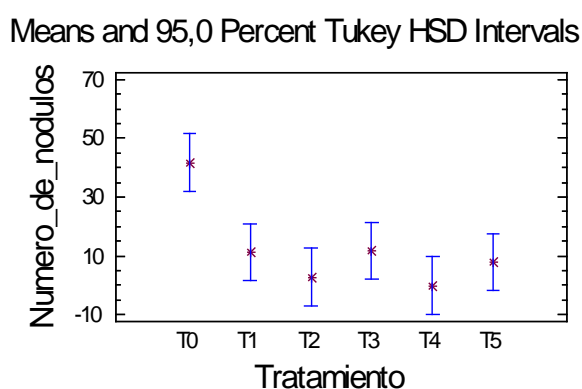
#### 4.4.- Discusión.

Los ensayos realizados han puesto de manifiesto que la eficacia de los productos objeto de estudio es baja o nula, tanto en las aplicaciones como desinfectantes (pre-trasplante) como en las nematicidas (post-trasplante).

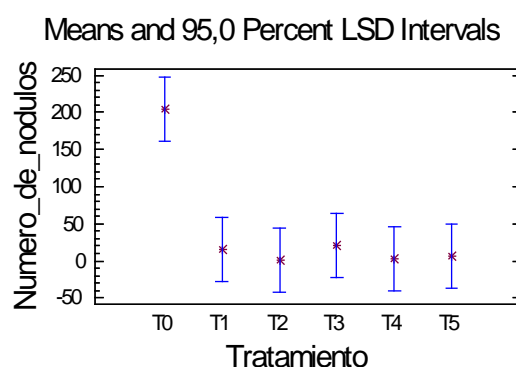
En la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante) los tratamientos T2 (Producto 2), T4 (Mezcla Peroxiacética) y T5 (Telone®) no presentaron ningún nódulo siendo la efectividad total, pero las plantas presentaron alta fitotoxicidad incluso la muerte en el caso de T2 y T5.

En la Fase 2: Nematicida (post-trasplante) el tratamiento T0 (Testigo) presentó mayor número de nódulos que el resto de los tratamientos, lo que indica cierta efectividad, pero en ningún caso absoluta, habiendo presencia de nematodos en todos los tratamientos excepto en T5 (Vydate®), donde las plantas murieron por fitotoxicidad.

En ninguna de las dos fases se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos correspondientes a la aplicación de los productos y el testigo, como se observa en los análisis estadísticos (**figuras 59 y 60**):



**Figura 59: Análisis estadístico en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante).**



**Figura 60: Análisis estadístico en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante).**

A pesar de que no se observan diferencias significativas en el índice de nodulación, para los tratamientos ensayados, hay que tener en cuenta tanto el estado de las plantas debido tanto a la fitotoxicidad como a la aparición de los síntomas observados. De todos los tratamientos con aplicación de productos, el que da lugar a una planta sana (sin fitotoxicidad), es el tratamiento T1.

A la vista de los resultados cabría hacerse ciertas preguntas:

**1- En el compuesto nº 3 como desinfectante de suelo, sin nematodos se mueren 3 de las 5 plantas. En cambio con nematodos funciona perfectamente, ¿cómo puede ser esto?**

Existe una diferencia clave que podría dar una respuesta a esta pregunta. El suelo donde se realiza el experimento que indica “sin inóculo”, es el mismo que “con inóculo”, pero éste último no está esterilizado. La esterilización del suelo elimina no sólo los nematodos sino toda la microbiota presente que obviamente amortigua el efecto tóxico de los productos químicos. Esto es algo que ya se tenía en cuenta que podía suceder. Se podría haber utilizado un suelo diferente no infectado con nematodos, pero hubiera dado resultados aún más dispares.



**2- Si Telone® y Vydate® funcionan en la vida real y cotidiana (y en este ensayo no, pues las plantas se mueren por fitotoxicidad), ¿qué se ha hecho hecho mal?**

En ninguno de los tratamientos se realizó ningún lavado antes del trasplante para el caso de la desinfección usando Telone®. Si bien hay que indicar que para nada tiene que ver una situación de maceta a lo que ocurre realmente en el suelo. La aplicación de Telone® en suelo para desinfección va acompañado de una situación de radiación solar, durante un periodo de 8-10 días, que se aplica el producto acompañado con un riego abundante, y colocación de un plástico. Tras este proceso, cuando se trata de suelos arenados, hay que esperar entre 1 mes o mes y medio para realizar trasplante, con el fin de que se produzca la degradación del producto. En el ensayo se ha mantenido la desinfección durante 1 semana según protocolo. En el caso del Vydate®, la fitotoxicidad va acompañada de un contacto directo de las raíces con el producto, dado que no se trata de un riego por goteo en el que el contacto no es tan directo, generando mortandad a lo nematodos libres en el suelo.

**3- En cuanto a las evaluaciones, como puede ser que se use la misma escala para evaluar fitotoxicidad que eficacia, ¿eso significa que se está evaluando la fitotoxicidad en términos de eficacia ó al revés?**

No, la fitotoxicidad se ha medido en las plantas que no están inoculadas, para diferenciar síntomas debido a nematodos o al propio producto. Si los productos de alguna forma reducen el tamaño de la planta hay que distinguirlos del enanismo producido por nematodos. Así la eficacia del producto como nematocida, que es realmente lo que se pretende se estudió en las plantas que fueron inoculadas con nematodos. En cuanto al valor de la escala, 0 es planta sana, 3 es planta muerta, los valores intermedios vienen referidos a síntomas observados que no tienen porque ser los mismos, obviamente.

**4- ¿ Qué aspectos positivos se pueden observar en el ensayo?**

## *Resultados y Discusión*

Uno de los aspectos más positivos que se ha podido comprobar es que para el tratamiento T1, a pesar de que se observaron agallas en las raíces, las plantas tienen la misma altura que los testigos sin inocular, no existen diferencias en el desarrollo. No aparecieron síntomas secundarios como pueden ser amarilleo u otra sintomatología producida por nematodos. Además, no se observaron apenas machos adultos ni tampoco juveniles tras el análisis de los suelos. La presencia de nematodos en el suelo es habitual en los suelos cultivados, es decir, la convivencia con el patógeno es lo normal, pero siempre existe sintomatología, por lo que, la ausencia de síntomas en estas plantas que están infestadas, quiere decir que de alguna forma se produjo un control debido obviamente a la aplicación del producto.

A continuación se exponen los algunos resultados obtenidos en el control de nematodos fitoparásitos:

En el cultivo de tomate en Florida (EEUU), el metam-sodio a 295 L/ha en inyección y 1,3-D (1,3-Dicloropropeno)+Pic (cloropicrina) (35%) reducen de forma significativa la formación de nódulos de *Meloidogyne* spp.. Con respecto a parcelas testigo, si bien no es tan eficaz como los tratamientos de BM+PIC (35%) a 500 kg/ha de BM inyectado (Noling, 2000; Noling y Gilreath, 2004).

La Universidad de California propone algunas alternativas al BM, que incluyen, en preplantación metam-sodio, tetratiocarbonato de sodio (Enzone) o 1,3-D y en post-plantación fenamifos o tetratiocarbonato de sodio. Para el control de nematodos formadores de nódulos en cucurbitáceas, recomienda distintos tratamientos como pueden ser etoprofos en preplantación, oxamilo en preplantación, plantación y post-plantación, 1,3-D y metam-sodio en casos de presencia conjunta de *Pratylenchus*, *Longidorus* y *Paratrichodorus* con nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* (Castro Lizazo, 2010).

En California en el cultivo de flor cortada el 1,3-D (1,3-Dicloropropeno) resulta eficaz en suelos arenosos en los que su contenido en humedad puede reducirse a menos

## *Resultados y Discusión*

de un 12% pero no es aceptable en suelos infestados de nematodos, de acuerdo con las normas de certificación de California (Schneider *et al.*, 2003,2004). El 1,3-D aplicado en goteo, así como ioduro de metilo (IM) en inyección son dos alternativas con una eficacia comparable al del BM, tanto en poblaciones de nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* como de *Tylenchulus semipenetrans* en la mayoría de patrones de vid en ensayos realizados en California, en replantación de viñedo (Schneider *et al.*, 2003, 2004). En replantación de rosales el IM actúa de manera tan efectiva como el BM en las raíces y residuos de estas del anterior cultivo y elimina nematodos fitoparásitos como *M.incognita*, *H.schachtii*, *Pratylenchus vulnus* y *T. semipenetrans* (Ohr *et al.*, 1996, Becker *et al.*, 1998 a, b).

La mezcla de 1,3-D (1,3-Dicloropropeno)/Pic (cloropicrina) proporciona en suelos para pimiento en invernadero en la Región de Murcia niveles de control similares al BM para *Meloidogyne* (Guerrero *et al.*, 2004). En fresa en Huelva la misma mezcla proporciona niveles de control similares al BM, para los niveles bajos a moderados existentes de nematodos fitoparásitos (López Aranda *et al.*, 2004). En viñedo el 1,3-D se ha recomendado en el tratamiento de parcelas sin cultivo destinadas a nuevas plantaciones en las que se precisa controlar *Heterodera*, *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Tylenchulus* (Goitia, 2004). Los nematicidas fumigantes incluidos el 1,3-D producen un efecto sinérgico en su utilización combinada con materia orgánica (Greco *et al.*, 1992).

El uso de variedades resistentes sería válido en suelos donde las poblaciones de nematodos no son virulentas, pues de otro modo en un mayor o menor periodo de tiempo pueden incrementarse las poblaciones virulentas y afectar a la resistencia de las plantas (Lacasa *et al.*, 2002; Ros *et al.*, 2004). Por otro lado, Turdgill (1991) y León *et al.* (2002) observaron que la resistencia se perdía cuando la temperatura del suelo era elevada y cuando las raíces eran parasitadas por hongos.

---

*Conclusiones*

## **5.- Conclusiones.**

**1.-** En los ensayos realizados ha quedado demostrado que la eficacia de los productos ensayados para combatir las infecciones por nematodos tanto en la Fase 1: Desinfectante (pre-trasplante) como en la Fase 2: Nematicida (post-trasplante) sobre plantas de tomate es muy baja, al no haber diferencias significativas con respecto al testigo e incluso provocando efectos fitotóxicos en las plantas, excepto el tratamiento 1.

**2.-** Se recomienda el tratamiento T1 con posibilidad de variación en las dosis para mejorar su efecto y reducir al máximo la viabilidad de los nematodos, ya que presentó un desarrollo normal de las plantas pero hubo cierta presencia de nematodos.

---

## *Bibliografía*

**6.- Bibliografía.**

- **Abad P., Favery B., Rosso M. N. y Castagnone-Sereno P.,** 2003. Root-knot nematode parasitism and host response: molecular basis of a sophisticated interaction. *Molecular Plant Pathology* 4, 217-224.

- **Altieri M. A.,** 1997. Agroecología. Bases científicas para la agricultura sustentable. Clades. La Habana, Cuba, 249 pp.

- **Arbel A., Sti M., Katan J. y Gamliel A.,** 2003. Innovative plastic films enhance solarization efficacy and pest control. Annual internacional research conference on MB alternatives and emissions reductions, 3-6 nov., San Diego, California, EE UU, 4.1-4.2.

- **Atherton J. G. y Rudich J.,** 1986. The biology and control of some important pests. Nematodes, roundworms. In: Atherton J. G. y Rucich J. (Eds). The tomato crop. A scientific basis for improvement. Univ. Press, Cambridge, 404-409.

- **Barres M. T., Bello A., Jordá C. y Tello J.,** 2006. La eliminación del bromuro de metilo en la protección de cultivos como modelo mundial para la conservación del medio ambiente. Univ. Almería, MAPA, Madrid, 515 pp.

- **Becker J., Hutchinson C., Ohr H., McGiffen M. y Sims J.,** 1998 a. Efficacy of MB and methyl iodide against lesion nematodes harbored in rose roots. Annual inetrnacional research conference on MB alternatives and emissions reductions, 7-9 dic., Orlando, Florida, EE UU, 111.1-111.2.

- **Becker J., Ohr H., Grech N., McGiffen M. y Sims J.,** 1998 b. Evaluations of methyl iodide as a soil fumigant in container and small field plot studies. *Pest science* 52, 58-62.

- **Belda J., Casado E., Gómez V., Rodríguez M. y Saenz E.,** 1994. Plagas y enfermedades de los cultivos hortícolas intensivos. *Phytoma España* 57. Almería, España.

- **Bello A.**, 1983. Nematodos patógenos de los árboles frutales. Boletín del servicio de defensa contra plagas e inspección fitopatológica 9, 133-165.
  
- **Bello A.**, 2008. La crisis del cultivo del tomate en Canarias. Alternativa desde la agroecología. Agropalca 3, 16 p.
  
- **Bello A. y Díez Rojo M. A.**, 2004. Situación del bromuro de metilo como fumigante de suelo en el año 2005. Usos críticos y alternativas en España. Phytoma España 161, 20-25.
  
- **Bello A., Escuer M. y Arias M.**, 1994 a. Nematological problems, production systems and mediterranean environments. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 24, 383-391.
  
- **Bello A., Escuer M. y Pastrana M. A.**, 1994 b. Nematodos fitoparásitos y su control en ambientes mediterráneos. In: Llácer G., López M. M., Trapero A. y Bello A. (Eds). Patología vegetal. SEF, Valencia, 1039-1069.
  
- **Bello A., López Pérez J. A., Díez Rojo M. A., López Cepero J. y García Álvarez A.**, 2008 a. Principios ecológicos en la gestión de los agrosistemas. Arbor, ciencia, pensamiento y cultura 729, 19-29.
  
- **Bello A., López Pérez J. A., Sanz R., Escuer M. y Herrero J.**, 2000. Biofumigation and organic amendments. Regional Workshop on methyl bromide alternatives for North Africa and Southern European Countries, United Nations Environment Programme (UNEP), Francia, 113.141.
  
- **Bello A., Navas A., Belart C. y Alvira M. P.**, 1985. Nematodos de los cítricos. Excmo. Ayto. de Castellón de la Plana, 222 pp.



- **Bello A., Pastrana M. A., González J. A., Escuer M. y Orts C., 1997.** Control de nematodos sin bromuro de metilo y producción integrada en España. In: Bello A., González J. A., Pérez Parra J. y Tello J. (Coords). Alternativas al bromuro de metilo en agricultura. Seminario internacional, 29-30 de abril, 1996, Almería. Consejería de Agricultura y Pesca, 155-171.

- **Bello A., Rey J. M., Arias M. y González J. A., 1996.** Valores agroambientales de los viñedos de La Mancha y protección de cultivos. La vid y el vino en Castilla-La Mancha. JCCM, 155 pp.

- **Bridge J. y Page S. L. J., 1980.** Estimation of root-knot nematodes levels using a rating chart. Tropical pest management 26, 296-298.

- **Broadbent P., Baker K. F., Franks N. y Holland J., 1977.** Effect of *Bacillus* spp. On increased growth of seedling in steamed and in non treated soil. Phytopathology 67, 1027-1034.

- **Bungay D. P., 1999.** Steam sterilization as alternative to methyl bromide. Methyl bromide and soilborne diseases. Tenth annual interdisciplinary meeting of the soil-borne plant. Diseases interest group, 8-9 sept., Stellenbosch, South Africa.

- **Castro Lizazo I., 2010.** Biodesinfección de suelos en relación con la diversidad en hortalizas y platanera. Tesis doctoral. Universidad de Almería. Madrid.

- **Castro Lizazo I., Díez Rojo M. A., López Pérez J. A., Díaz Viruliche L. y Bello A., 2010.** Biodesinfección de suelos en producción ecológica. Cuaderno Técnico SEAE (En prensa).

- **Cebolla V., 2002 a.** Alternatives to methyl bromide in vegetables and strawberry crops in Spain. In: Batchelor T. y Bolívar J.M. (Eds). International conference on

alternatives to methyl bromide. 5-8 mar., Sevilla. Office for official publications of the European communities (UE): Luxembourg, 61-65.

- **Cebolla V.**, 2002 b. Four years of research on improved soil solarization and other alternatives to methyl bromide on strawberry crops. In: Batchelor T. y Bolívar J.M. (Eds). International conference on alternatives to methyl bromide. 5-8 mar., Sevilla, 359-362.

- **Chellemi D. O., Mc Sorley R. M., Rich J. R. y Olson S. M.**, 1997 a. Field validation of soil solarization for fall production of tomato. Florida State horticultural society 110, 330-332.

- **Chellemi D. O., Olso S., Mitchell D. J., Secker I. y Mc Sorley R. M.**, 1997 b. Adaptation of soil solarization to the integrated management of soil-borne pests of tomato under humid conditions. *Phytopathology* 87, 250-258.

- **Chitwood B. G.**, 1949. Root-knot nematodes. Part I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. *Proceedings of the helminthological society of Washington* 16, 90-104.

- **Ciancio C., Bonsignore R., Vovlas N. y Lamberti F.**, 1994. Host range and spore morphometrics of *Pasteura penetrans* group parasites of nematodes. *J. Invertebrates Pathology* 63, 260-267.

- **Cooke D. A.**, 1991. The effect of beet cyst nematode. *Heterodera schachtii*, on the yield of sugar beet in organic soils. *Annual of applied biology* 118, 153-160.

- **Cooke D. A.**, 1993. Nematodes parasites of sugar beet. In: Evans K., Trudgill D. L. y Webster J. M. (Eds). *Plant parasitic nematodes in temperature agriculture*. CABI, 133-170.

- **Cooke D. A. y Thomason I. J.**, 1979. The relationship between population density of *Heterodera schachtii*, soil temperature and sugar beet yields. *J. Nematology* 11, 124-128.
  
- **Cooke R. J. y Baker K. F.**, 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. APS, St. Paul, 539 pp.
  
- **Curti A. y Zarga S.**, 1992. Análisis de las tendencias de la utilización de fertilizantes. Boletín trimestral FAO de estadísticas 5, 4-6.
  
- **Davies K. G. y Danks C.**, 1993. Carbohydrate/protein interactions between the cuticle of infective juveniles of *Meloidogyne incognita* and spores of the obligate hyperparasite *Pasteuria penetrans*. *Nematologica* 39, 53-64.
  
- **Diáñez F., Criado J., Santos Hernández M., Cara M. de, Martínez R., Segura I., García Gámez A., Chebaani M., Bello A., Avilés M. y Tello J. C.**, 2003. Control of *Phytophthora capsici* by biofumigation. IOBC WPRS Bulletin. Colloque international lute integrèe cultures protégées climat mediterranéen. Agadir, Marruecos, 150-151.
  
- **Diáñez F., Santos Hernández M., Blanco M. R., Chebaani M., Castillo P., Yelamos J. A., Gea F. J., Trillas M. I., Avilés M., Sinobas J. y Tello J. C.**, 2002. Supresividad de la mircobiota bacteriana presente en el compost de orujo de vid frente a hongos fitopatógenos. V Cong. SEAE y I Cong iberoamericano de agroecología, Gijón, 983-991.
  
- **Díez Rojo M. A.**, 2006, Fundamentos fitotécnicos para la aplicación de subproductos agrarios en la mejora de suelos cultivados. Trabajo experimental fin de carrera. ETSI Agrónomos. Univ. Polit. Madrid, 251 pp.
  
- **Dimov I.**, 1997. Long term investigations of crops rotations involving sugar beet. *Rasteniev" dni Nauki* 34, 65-68.

- **Duda A. y Liste H. J.**, 1991. Crop rotations as a measure for limiting damage due to *Heterodera schachtii* on sugar beet. *Bodenkultur* 42, 153-260.

- **Eguchi T., Moriyama M. y Yokoyama T.**, 2002. Control of loss from root lesion nematodes (*Pratylenchus vulnus*) and effect on soil microorganisms by hot water injection on strawberry garden. *Kyushu agricultural research* 64, 91 p.

- **Escuer M., Cano A. y Bello A.**, 2004. Nematodos fitoparásitos de la Región de Murcia y alternativas de control. Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento. II Jornadas sobre alternativas viables al BM en pimiento de invernadero. Serie: Jornadas y Congresos, 16, Región de Murcia, Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, 27-57.

- **Escuer M., Rodríguez M. D., Rodríguez M. P., Lastres J. y Bello A.**, 1996. Incidencia de *Meloidogyne* en cultivos hortícolas de Almería. Abstracts del VIII Congreso nacional de fitopatología. Córdoba, España.

- **Favery B, Lecomte P., Gil N., Bechtold N., Bouchez D., Damalzo D. y Abad P.**, 1998. The endosymbiosis-induced genes ENOD40 and CCS52 are involved in endoparasitic-nematode interaction in *Medicago truncatula*. *Molecular plant microbe interactions* 15, 1008-1013.

- **Federation of American Scientists (FAS) y United States Department of Agriculture (USDA)**, 2003. Horticultural & Tropical Products Division. Processed tomato products outlook and situation in selected countries, 7p.

- **Flegg J. J. M.**, 1967. Extraction of *Xiphinema* and *Longidorus* species from soil by a modification of Cobb's decanting sieving technique. *Annals of applied biology* 60, 429-437.

- **Font Quer P.**, 1982. Diccionario de Botánica.

- **Frapolli E.**, 1994. Nematodos. Sanidad vegetal en la horticultura protegida. Junta de Andalucía, Consejería de Agricultura y Pesca. Sevilla, España.

- **Fritsch J.**, 2002. The current status of alternatives to MB in vegetable crops in France. In: Batchelor T. y Bolívar J. M. (Eds). Inter. conf. on alternatives to MB, "The remaining challenges". UE, Sevilla, 5-8 marzo. Office for official publications of the european communities (UE), Luxembourg, 193-195.

- **Gamliel A., Skutelsky Y., Peretz Alon Y. y Becker E.**, 2001. Soil solarization using sprayable plastic polymers to control soilborne pathogens in field crops. 2001 Annual international research conference on methyl bromide alternatives and emissions reductions, 5-9 nov., San Diego, California, EE UU, paper 10.

- **García Álvarez A., Gutiérrez C., Escuer M. y Bello A.**, 2005. Management of nematodes and landscape diversity in potato crops in La Rioja (Spain). Russian J. Nematology 13, 1-12.

- **Gautam A., Siddiqi Z. A. y Mahmood I.**, 1995. Integrated management of *Meloidogyne incognita* on tomato. Nematol. Medit. 23, 245-247.

- **Goitia C.**, 2004. Epidemiología, control y repercusión económica de los nematodos transmisores de virus de la vid en España. Tesis doctoral. Univ. Polit. Madrid, ETSIA, 333 pp.

- **Goverse A., de Almedia Engler J., Verhees J., Van Der Krol S., Helder J. y Gheysen G.**, 2000. Cell cycle activation by plant parasitic nematodes. Plant molecular biology, Netherlands 43, 747-761.

- **Greco N., D'Addabbo T., Brandonisio A. y Zweep A.,** 1990. Combined effect of soil solarization and 1,3-D for the control *Heterodera carotae*. Nematol. Medit. 18, 261-264.
- **Greco N., D'Addabbo T., Stea V. y Brandonisio A.,** 1992. The synergism of soil solarization with fumigant nematicides and straw for the control of *Heterodera carotae* and *Ditylenchus dipsaci*. Nematol. Medit. 20, 25-32.
- **Grimme E. y Zidack N. K.,** 2007. Comparison of *Muscodor albus* volatiles with a biorational mixture for control of seedling diseases of sugar beet and root-knot nematode on tomato. Plant disease 91, 220-225.
- **Guerrero M. M., Guirado P., Lacasa A., Ros C., Torres J., Martínez M. C., Oncina M., Bielza P. y Contreras J.,** 2004. La mezcla de dicloropropeno y cloripicrina, una alternativa al BM en la desinfección de suelos para pimiento. II Jornadas sobre alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero. Serie: Jornadas y congresos, 16, Región de Murcia, Consejería de Agricultura y Pesca, Agua y Medio Ambiente, 99-125.
- **Gullino M. L. y Minuto G.,** 1997. Alternativas al bromuro de metilo como desinfectante del suelo, con especial referencia a la situación en Italia. In: Bello A., González J. A., Pérez Parra J. y Tello J. C. (Eds). Alternativas al bromuro de metilo en agricultura. Congresos y jornadas, Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía 44/97, 173-183.
- **Hashimoto T. y Nishi K.,** 2001. Effect of soil sterilization with hot water injection on bacterial and protozoan dynamics. Kyushu agricultural research 63, 52 p.
- **Heald C.,** 1987. Classical nematode management practices. In: Veech J., Dickson D. (Eds). Vistas on nematology, Society of Nematologists, Hyattsville, MD, 100-104.

- **Hewlett T. E., Dickinson D. W., Mitchell D. J. y Kannwischker M. K. E., 1990.** Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* as a biological control agent of *Meloidogyne javanica* in tobacco. *J. Nematology* 20, 578-584.
  
- **Horiuchi S., 1991.** Soil solarization in Japan. In: Katan J. y De Vay J. J. (Eds). *Soil solarization*. CRC Press. Boca Raton, 216-225.
  
- **Hussey R. S., 1989.** Disease-inducing secretions of plant parasitic nematodes. *Ann. Rev. Phytopath.* 27, 123-141.
  
- **Hussey R. S., Davis E. y Baum T., 2002.** Secrets in secretions: genes that control nematode parasitism of plants. *Braz. J. Plant physiol.* 14, 183-194.
  
- **Jiménez Millán F., Arias M., Bello A. y López Pedregal J. M., 1965.** Catálogo de nematodos fitoparásitos y peri-radicales encontrados en España. *Bol. R. Soc. Española Hist. Nat. (Biol.)* 63, 47-104.
  
- **Julca A., 2000.** Efecto de un producto bio-orgánico (Biomor®) sobre el tomate cultivado bajo plástico en la provincia de Almería (S.E. de España). Tesis doctoral. Universidad de Almería. Almería, España.
  
- **Katan J., 1981.** Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. *Annual Review of Phytopathology* 19, 211-236.
  
- **Katan J., 1993.** Replacing pesticides with nonchemical tools for the control of soilborne pathogens – A realistic goal? *Phytoparasitica* 21, 95-99.
  
- **Keel C., Koller B. y Defago G., 1990.** Plant growth-promoting rhizobacteria: progress and prospects. Second international workshop on PGPR. Interlaken, Switzerland, 418 pp.

- **Kuniyasu K. y Takeuchi S.**, 1986. Control of fusarium wilt of tomato by soil sterilization with hot water. Bulletin of the vegetable and ornamental crops research station Japan, Ser. A. 14, 141-148.

- **Lacasa A., Gerrero M. M., Guirado P. y Ros C.**, 2002. Alternatives to methyl bromide in sweet pepper crops in Spain. In: Batchelor T. y Bolívar J. M. (Eds). Inter. Conf. alternatives to MB. "The remaining challenges", UE, 5-8 marzo, Sevilla. Office for official publications of the european communities, Luxembourg, 187-192.

- **Lamberti F., Sasanelli N., D'Addabbo T. y Carella A.**, 2001. Combination of soil solarization and chemical treatments for the control of root-knot nematodes in southern Italy. Annual international research conference on methyl bromide alternatives and emissions reductions, 5-9 nov., San Diego, California, EE UU, paper 11.

- **Leij F. A. A. M. de, Kerry B. R. y Dennehy J. A.**, 1993. *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent for *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* in pot and micro-plot tests. Nematologica 39, 115-126.

- **León L., Acosta P. y Bello A.**, 2002. Investigación participativa y compromiso social para una gestión ecológica en horticultura. V Cong. SEAE Iberoamericano de agroecología, 16-21 sept., Gijón, Tomo I, 389-397.

- **Liñán C.**, 2009. Vademecum de productos fitosanitarios y nutricionales (25ª Edición). Edit. Agrotécnicas, 784 pp.

- **López Aranda J. M., Miranda L., Romero F., Santos B. de los, Soria C., Medina J. J., Montes F., Vega J. M., Paez J. I., Bascón J., Martínez-Treceño A., García Sinovas D., García-Méndez E., Becerril M., Cal A. de, Salto T., Martínez Beringola M. L., Melgarejo P.**, 2004. Main results of trials on MB alternatives for strawberry fruit and runners produced in Spain. In: Batchelor T. y Alfarroba F. (Eds). Fifth inter. conf. alternatives to MB, 27-30 sept., Lisboa, Portugal, European commission, Brussels, Belgium, 35-39.



- **López L., Castillo J., Fuentes M., Palomar F., Fernández E., Viseras J. y López F.,** 1994. Caracterización de los sistemas de producción hortícola de invernadero en la provincia de Almería. FIAPA e Instituto de Fomento de Andalucía. Almería, España.
- **MBTOC,** 1995. Report of the methyl bromide technical options committee. Assessment. Montreal Protocol on substances that deplete the ozone layer. UNEP, Nairobi, Kenia, 309 pp.
- **MBTOC,** 2002. Report of the methyl bromide technical options committee. UNEP, Nairobi, Kenia, 468 pp.
- **MBTOC,** 2007. Report of the methyl bromide technical options committee. 2006 assessment. 2006 MBTOC Assessment Report. UNEP, Nairobi, Kenia, 468 pp.
- **Medina J. J.,** 2002. Soil solarization and biofumigation in strawberry in Spain. In: Batchelor T. y Bolívar J. M. (Eds). Internacional conference on alternatives to MB “The remaining challenges”, European commission, 5-8 mar., Sevilla. Office for official publications of the European communities, Luxemburg, 123-125.
- **Mercier J. y Manker D. C.,** 2005. Biocontrol of soil-borne diseases and plant growth enhancement in glasshouse soilless mix by the volatile producing fungus *Muscodor albus*. Crop. Protection 24, 355-362.
- **Nishi K.,** 2002. Hot water soil sterilization: Theories and records of application. Japan greenhouse horticulture association, Tokyo, 185 pp.
- **Noling J.,** 2000. Impacts of alternative fumigants on soil pest control and tomato yield. Annual international research conference on MB alternatives and emissions reductions, 6-9 nov., Orlando, Florida, EE UU, 30.1-30.3.

- **Noling J. y Gilreath J.**, 2004. Evaluations of chemical alternatives to MB for nematode control and tomato yield in field microplots. Annual international research conference on MB alternatives and emissions reductions, 31 oct.-3 nov., Orlando, Florida, EE UU, 50,1-50.3.
  
- **Ohr H., Sims J., Grech N., Becker J. y McGiffin M.**, 1996. Methyl iodide, ozone-state alternative for MB as a soil fumigant. *Plant Dis.* 80, 731-735.
  
- **Oka**, 2010. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendents. A review. *Applied soil ecology* 44, 101-115.
  
- **Ornat C., Verdejo-Lucas S., Sorribas F. y Santoro I.**, 1999. El nematodo *Meloidogyne* en los cultivos hortícolas en los invernaderos de Almería. *Phytoma España* 106. España.
  
- **Orton Williams K. J.**, 1972. *Meloidogyne javanica*. CIH. Descrip. plant parasitic nematodes, Set 1, nº 3, 4 pp.
  
- **Orton Williams K. J.**, 1973. *Meloidogyne incognita*. CIH. Descrip. Plant Parasitic Nematodes, Set 2, nº 18, 4 pp.
  
- **Orton Williams K. J.**, 1974. *Meloidogyne hapla*. CIH. Descrip. Plant Parasitic Nematodes, Set 3, nº 31, 4 pp.
  
- **Orton Williams K. J.**, 1975. *Meloidogyne arenaria*. CIH. Descrip. Plant Parasitic Nematodes, Set 5, nº 62, 4 pp.
  
- **Ozturk A., Yilmaz S., Kececi M., Unlu A., Deviren A., Ozelik A., Cetinkaya S., Cevri H., Akkaya F. y Ozkan CF.**, 2002. Alternatives to methyl bromide for tomato and cucumber production in Turkey. In: Batchelor T. Y Bolívar J. M. (Eds). Int. conference on alternatives to methyl bromide, 5-8 mar., Sevilla, 209-214.

- **Piedra Buena A.**, 2004. Agroecología de *Meloidogyne göldi*, 1982 (Nematoda: Heteroderidae) en cultivos hortícolas protegidos. Tesis doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Univ. Almería, 397 pp.
  
- **Pizano M.**, 2004 a. Overview of alternatives to methyl bromide for cut flower production in industrialized countries. In: Batchelor T. y Alfarroba F. (Eds). Fifth Int. Conference on alternatives to methyl bromide, 27-30 sept., Lisboa, Portugal.
  
- **Pizano M.**, 2004 b. Alternatives to MB for the production of cut flower and bulbs in developing countries. In: Batchelor T. y Alfarroba F. (Eds). Fifth Int. Conference on alternatives to methyl bromide, 27-30 sept., Lisboa, Portugal, 81-86.
  
- **Reche J.**, 2010. Cultivo de tomate en invernadero. Publicado por: Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.
  
- **Robertson L., López Pérez J. A., Bello A., Díez Rojo M. A., Escuer M., Piedra Buena A., Ros C. y Martínez C.**, 2006. Characterization of *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* and *M. hapla* populations from Spain and Uruguay on resistant pepper (*Capsicum annum* L.) cultivars. Crop protection 25, 440-445.
  
- **Rodríguez Kabana R.**, 1986. Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. J. Nematol. 18, 129-135.
  
- **Ros C., Gerrero M. M., Lacasa A., Guirado P., González A., Bello A., López-Pérez J. A. y Martínez M. A.**, 2004. El injerto en pimiento. Comportamiento de patrones frente a hongos y nematodos. Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento. II J. sobre alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero, Serie: J. y Cong., 16, Región de Murcia, Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, 279-311.
  
- **Runia W.**, 1983. A recent development in steam sterilization. Acta Hortic. 152, 195-199.

- **Runia W. y Greenberg A.**, 2004. Dutch approach on alternatives to MB including a new development: hot air treatment. In: Batchelor T. y Alfarroba F. (Eds). Fifth Inter. conference on alternatives to MB, 27-30 sept., Lisboa, Portugal, European Commission, Brussels, Belgium, 183-186.
  
- **Ryder M. H., Stephens P. M. y Bowen G. D.**, 1994. Improving plant productivity with rhizosphere bacteria. Third international workshop on plant growth-promoting rhizobacteria, 7-11 may. CSIRO division of soils, Glen Osmond, South Australia, 288 pp.
  
- **Sakai H., Shiraishi T., Hagiwara H., Takehara T., Nakayama H., Satoh H., Urushibara T. y Tadenuma M.**, 1998. Control of monosporascus root rot of watermelon by hot water injection and chemicals. Kanto-Tosan plant protection society 45, 77-79.
  
- **Sanz M. y Dueñas R.**, 1973. Desinfección de suelos. Hola divulgadores 4-5 (73H). SEA, Ministerio de Agricultura, 24 pp.
  
- **Schneider S., Roskopf E., Leesch J., Chellemi D., Bull C. y Mazzola M.**, 2003. United States department of agriculture-agricultural research service on alternatives to MB: pre-plant and post-harvest. Pest management science 59, 814-826.
  
- **Schneider S., Trout T., Browne G., Ajwa H. y Sims J.**, 2004. Vineyard replant. Performance of MB alternatives over time. Annual inter. research conference on MB alternatives and emissions reductions, 31 oct.-3 nov., Orlando, Florida, EE UU, 8.1-8.5.
  
- **Siddiqi M. R.**, 2000. Tylenchida parasites of plants and insects. CABI, UK, 833 pp.
  
- **Siddiqi Z. A., Mahmood I. y Ansari M. A.**, 1995. Effect of different inoculum levels of *Meloidogyne incognita* on the growth of pea in the presence and absence of *Rhizobium*. Nematol. medit. 23, 249-251.

- **Spiegel Y. y Netzer D.**, 1984. Effect of nitrogen form at various levels of potassium, on the *Meloidogyne-Fusarium* wilt complex in muskmelon. Plant and soil 81, 85-92.
- **Stapleton J.**, 2000. Soil solarization in various agricultural production systems. Crop protection 19, 837-841.
- **Stapleton J. y De Vay J.**, 1984. Thermal components of soil solarization as related to changes in soil and root microflora and increased plant growth response. Phytopathology 74, 255-259.
- **Stinson A. M., Zidack N. K., Strobel G. A. y Jacobsen B. J.**, 2003. Mycofumigation with *Muscodor albus* and *Muscodor roseus* for control of seedling diseases of sugar beet and Verticillium wilt of eggplant. Plant dis. 87, 1349- 1354.
- **Strobel G. A., Dirske E., Sears J. y Markworth C.**, 2001. Volatile antimicrobials from *Muscodor albus*, a novel endophytic fungus. Microbiology 147, 2943-2950.
- **Suslow T. V.**, 1982. Role of root-colonizing bacteria on plant growth. In: Mount M. S. y Lacey G. H. (Eds). Phytopathogenic prokaryotes. N. York, Academic Press, 187-223.
- **Tanda A. S., Atwal A. S. y Bajaj Y. P. S.**, 1989. In vitro inhibition of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by sesame root exudates and its amino acids. Nematologica 35, 115-124.
- **Tamietti G. y Valentino D.**, 2000. Effectiveness of soil solarization against soil borne plant pathogens and weeds in Piedmont (Northern Italy). In: Gullino M. L., Katan J. y Matta A. (Eds). Fifth international symposium on chemical and non chemical soil and substrate disinfection. Acta horticulturae 532, 151-156.
- **Tello J. C. y Lacasa A.**, 1997. Problemática fitosanitaria del suelo en el cultivo del pimiento en el campo de Cartagena. In: López García A. y Mora Gonzalo J. A. (Eds).

Posibilidad de alternativas viables al BM en pimiento de invernadero, Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua, Murcia, 11-18.

- **Thorne G.**, 1927. The life history, habits and economic importance of some mononchs. J. Agricultural research (Washington) 34, 265-286.

- **Tjamos E. C.**, 1998. Solarization as an alternative to MB for the Southern European countries. In: Bello A., González J. A., Arias M. y Rodríguez-Kábana R. (Eds). Alternatives to MB for the southern european countries. CE DG XI-CSIC, Valencia, 127-150.

- **Tjamos E. C. y Niklis N.**, 1990. Synergism between soil solarization and *Trichoderma* preparations in controlling fusarium wilt of beans in Greece. 8<sup>th</sup> Congress of the mediterranean phytopathological union, 31 oct.-3 nov., Agadir, Marruecos, 145 p.

- **Treub M.**, 1985. Onderzo ekingen ever sereh-zik suikerrect. Meded. Pl. Tuin., Batavia, 1-39.

- **Trudgill D. L.**, 1991. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. Annual review of phytopathology 29, 167-192.

- **Trudgill D. L.**, 1997. Parthenogenetic root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.): how can these biotrophic endoparasites have such enormous host range? Plant pathology 46, 26-32.

- **Urbano P.**, 2008. Fitotecnia. Ingeniería de la producción vegetal. 2<sup>a</sup> Edición. Edit. Mundi-Prensa, 528 pp.

- **Walters D., Walsh D., Newton A. y Lyon G.**, 2005. Induced resistance for plant disease control: Maximizing the efficacy of resistance elicitors. Phytopathology 95, 1368-1373.

- **Whitehead A. G.**, 1968. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematoidea: Heteroderidae) with descriptions of four new species. Trans. of the zoological society of London 31, 263-401.

- **Williamson V. M. y Gleason C. A.**, 2003. Plant-nematode interactions. Current opinion in plant biology 6, 327-333.

- **Worapong J., Strobel G. A., Ford E., Li J. Y., Baird G. y Hess W. M.**, 2001. *Muscodos albus* anam, gen. et sp. Nov, an endophyte from *Cinnamomum zeylanicum*. Mycotaxon 79, 67-69.

