

*Centro Universitario de Sancti Spíritus
José Martí Pérez*

*Departamento de ciencias agropecuarias
Especialidad. Ingeniería Agrónoma*

Trabajo Diploma

*Alternativas agroecológicas para el control de
nemátodos del género Meloidogyne spp.*

Autor: Maikel Palmero López

Tutor: Ing. Ricardo García Puente

Consultante: Ing. Kolima Peña Calzada

*Año 49 de la Revolución
Curso 2006 - 2007*

Agradecimientos

- A mi tutor Ricardo García Puente y a mi consultante Kolima Peña Calzada por haber dedicado tanto tiempo y sacrificio en la realización de este trabajo.
- A mis familiares y compañeros por su apoyo incondicional.
- A mis profesores por trasmitirme sus conocimientos preparándome siempre para un futuro mejor.
- A la Revolución sin la cual no hubiese sido posible alcanzar este sueño.

A todos
Muchas gracias.

Resumen

El trabajo titulado "Alternativas agroecológicas para el control de nemátodos del género *Meloidogyne* spp" se desarrolló en la campaña 2006 – 2007 con el objetivo de realizar un manejo agroecológico para evaluar como los productos biológicos controlan el grado de infestación que provoca los nemátodos del género *Meloidogyne* sp a las hortalizas. El trabajo se desarrolló en tres etapas fundamentales una primera etapa, donde se realizó un Experimento de laboratorio donde se evaluó la acción del extracto de la plantas sobre la eclosión de huevos. Una segunda etapa donde se realiza una evaluación de la cepa LBT 25 en el control del *Meloidogyne* sp en el cultivo del Pepino (*Cucumis sativus*) en el organopónico 26 de julio en el municipio de Sancti Spíritus, y una tercera etapa donde se evalúa la efectividad del fitonemátodo HeberNem, donde el agente activo de este producto es la bacteria Gram-positiva *Tsukamurella paurometabola* cepa C-924 en combinación con *Trichoderma harzianum* en el control de los nemátodos del suelo en el cultivo de la lechuga (*Lactuca sativus*) en un diseño de bloques completos al azar con dos tratamientos y tres repeticiones. También se realizaron mediciones a los parámetros biológicos (números de hojas, altura de las plantas) así como los rendimientos finales en kg/m², obteniéndose mejores resultados en el tratamiento 1, comprobando su efecto nematicida así como su capacidad de bioestimular el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Índice

1.- Introducción	1
2.- Revisión bibliográfica.	5
2.1.-Problemas de impacto económico a escala mundial.....	5
2.1.1.- Concepto.....	6
2.1.2.-.- Clasificación taxonómica	6
2.1.3.- Generalidades de los nemátodos	8

2.1.4.-Los nemátodos del género <i>Meloidogyne</i> como plagas agrícolas y su importancia económica-----	10
2.2.- Interacciones con otros organismos.-.-----	15
2.3.- Manejo del género <i>Meloidogyne</i> -----	17
2.4.- Métodos de luchas en nemátodos del género <i>Meloidogyne</i> en organopónicos y casas de cultivos protegidos y semiprotegidos y su afectación a las Hortalizas -----	20
2.4.1.- Usos del bionemático “HeberNem”, en combinación con el hongo <i>Trichoderma harzianum</i> cepa A-34 que lo complementa en el control de hongos fitopatógenos del suelo -----	21
3.- Materiales y métodos -----	30
3.1.- Primera etapa. Experimentos de laboratorio (evaluación de la acción del extracto de la planta sobre la eclosión de huevos). -----	30
3.2.- Segunda etapa. Experimento de campo en organopónico (evaluación de la cepa Bt 25 en el control del <i>Meloidogyne sp</i>).-----	31
3.3.- Tercera etapa.- Experimento de campo en casas de cultivos semiprotegidos (evaluación del HeberNem combinado con <i>Trichoderma</i> en el control del <i>Meloidogyne sp</i>).-----	34
4.- Resultados y discusión. -----	35
4.1.- Primera etapa. Evaluaciones realizadas en el laboratorio-----	35
4.2.- Segunda etapa. Realización de aplicaciones de Bt 25 en diferentes dosis para condiciones de organopónicos utilizadas para controlar <i>MeloidogyneSp</i> .-----	37
4.3.- Resultado de las evaluaciones realizadas del HeberNem combinado con <i>Trichoderma harzianum</i> en el control del <i>Meloidogyne</i> -----	37
4.3.1 Evaluación de las muestras de suelo-----	38
4.3.2 Número de hojas-----	38
4.3.3 Altura de las plantas-----	39
4.3.4 Rendimientos-----	40
4.4 Sanidad Vegetal-----	40
5.- Conclusiones. -----	41
6.- Recomendaciones. -----	42
7.- Bibliografía. -----	43
8.- Anexos.	

Introducción.

En 1989 sobreviene súbitamente una aguda crisis con el colapso de los países socialistas europeos y la desintegración de la Unión Soviética, país con el cual Cuba realizaba el 85% de todo su comercio (Funes, 2001).

El surgimiento de esta crisis y la toma de conciencia a escala mundial de los graves problemas ecológicos que el hombre ha creado con su acción, han cambiado profundamente la estructura y el modo de proceder de la agricultura cubana.

En este período en nuestro país se aplican métodos agrícolas que conducen a lograr una agricultura sustentable y productiva. Entre los principales métodos implementados se encuentran la utilización de medios biológicos para el control de plagas, la utilización de biofertilizantes, abonos verdes, producción y utilización de humus de lombriz, rotación de cultivos, poli cultivos y otros.

La siembra de hortalizas en casas de cultivo protegido y semiprotegido constituye una tecnología promisoría para extender los calendarios de cosecha de las hortalizas tradicionales y asegurar su suministro fresco al turismo, mercado de frontera y población, inclusive en los períodos en que la oferta de la producción proveniente del campo abierto resulte en extremo limitada. A nivel mundial el cultivo protegido y semiprotegido se reconoce hoy día, como una tecnología agrícola de avanzada, que puede influir eficazmente en la producción de hortalizas fresca durante todo el año. La importancia del mismo ha

ido creciendo en la medida en que el productor ha dominado la tecnología y ha obtenido resultados satisfactorios. (Casanova et al., 2003).

A mediados de la década del noventa se inicia el auge del cultivo protegido en Cuba, a partir de transferencias de tecnologías de Israel y España basadas en el “efecto invernadero”. En 1998, se generaliza en el país la Casa de Cultivo “Rustica” de estructura de madera y “efecto sombrilla” propuesta por el Instituto de Investigaciones Hortícola “*Liliana Dimítrova*” (IIHLD). (Casanova et al., 2003). Esfuerzos importantes han hecho el Ministerio de la Agricultura y otros organismos, mediante el desarrollo de un importante proyecto inversionista, para el incremento del número de instalaciones protegidas en los principales polos turístico del país.

Este se cultiva en un amplio rango desde el Ecuador hasta el círculo polar, cada vez esta especie cobra mayor importancia por la riqueza que brinda para la alimentación humana, dada las posibilidades que tiene en forma de verdura, de acompañar a diversos cereales y tubérculos que contribuyen a la dieta máxima de nuestro pueblo, a la vez mejora su apariencia y los enriquece. Son estas razones más que suficientes para propiciar el incremento de nuestro cultivo. (Guenkov, 1969; Huerres y Carballo, 1988; FAO, 1992).

Según Huerres y Carballo (1988) el cultivo de la Lechuga se debe mantener libre de plantas indeseables durante todo su ciclo. Además la Lechuga es un cultivo que según las características del sistema radical y de las hojas se considera como una planta de exigencia media a la humedad siendo el sistema de cobertura de casas de cultivo semiprotegido es una excelente alternativa para lograr ese propósito manteniendo un equilibrio en el agro ecosistema, influyendo positivamente en el rendimiento final.

Antecedentes

El empleo de nematicidas químicos para controlar la mayor parte de los nemátodos es el método más fácil y efectivo. Hasta los inicios de 1970 predominaron los productos fumigantes con dosis de varios centenares de Kilogramos por hectárea. Posteriormente y hasta la actualidad predominaron los nematicidas no fumigantes que emplean dosis muy inferiores. En el apogeo del mercado de nematicidas se encontraron registrados 25 compuestos diferentes, pero desde hace algún tiempo no se han desarrollado nuevos productos debido a los gastos tan elevados para satisfacer los requerimientos de eficacia y seguridad que se exigen por los organismos de protección ambiental.

En Cuba la experiencia de aplicación de nematicidas a gran escala, se tiene con bromuro de metilo para tratamientos de semilleros o viveros y carbofuran y fenamifos en varias fases de plátano, cafeto y algunas hortalizas principalmente, pues de forma general se han evitado por su alto costo y sus efectos negativos sobre el medio ambiente.

A la luz de los conocimientos actuales, es imperativo que se cambien los puntos de vistas tradicionales para controlar nemátodos, ya que no es posible seguir dependiendo de un solo método sino buscar soluciones que se combinen de forma apropiada.

La tendencia actual es buscar esquemas de manejo para cada área donde en forma combinada se alternen cultivos, se implementen prácticas culturales, sean muestreados los suelos y material vegetal o se apliquen medios químicos o biológicos en dependencia de las condiciones locales y además, sea divulgado el conocimiento en la base donde se apliquen los trabajos ya que el desarrollo sostenible está basado en la interacción armónica entre el suelo, los animales, las plantas, los microorganismos, el clima, y los seres humanos; es decir presupone que se cuente con sociedades agrícolas y condiciones ambientales sostenibles (Orellana y Solana 1998).

Problema científico.

El manejo agroecológico de nemátodos resulta una vía no agotada en las diferentes formas de producción de Hortalizas.

Hipótesis.

Si se aplica un manejo agroecológico con productos biológicos en el control de los nemátodos del suelo, se disminuirán los niveles de afectación en las hortalizas.

Objetivo general.

Realizar un manejo agroecológico con la utilización de los productos biológicos en el control de los nemátodos que afectan a los organopónicos, las casas de cultivos protegidos y semiprotegidos en las hortalizas.

Objetivos específicos.

1. Realizar un experimento de laboratorio para una evaluación del extracto de la planta sobre la eclosión de los huevos.
2. Evaluar el comportamiento de la cepa Bt 25 en el control de los nemátodos en organopónicos.
3. Evaluar la influencia del bionemático HeberNem combinado con *Trichoderma harzianum* en la altura de las plantas.
4. Evaluar la influencia del bionemático HeberNem combinado con *Trichoderma harzianum* en el número de hojas.
5. Analizar el comportamiento del bionemático HeberNem combinado con *Trichoderma harzianum* en los rendimientos del cultivo.
6. Conocer el efecto de este sistema de siembra en la incidencia de plagas y enfermedades comunes en el cultivo.

2.0 Revisión bibliográfica.

2.1 Problemas de impacto económico a escala mundial.

Según NASA (2004), Inter-anualmente, los datos de 18 años del Rastreador, mostró un incremento de la temperatura global promedio de $0,43^{\circ}\text{C}$ por década. En comparación, los datos de las estaciones terrenas (temperaturas del aire a dos metros del suelo) mostraron un aumento de $0,34^{\circ}\text{C}$ por década, y un re-análisis del Centro Nacional de Predicción Ambiental sobre la temperatura dérmica superficial del suelo mostró una tendencia similar de incremento de la temperatura, en este caso de $0,28^{\circ}\text{C}$ por década. Las temperaturas dérmicas tomadas por TOVS prueban también una tendencia de aumento de las temperaturas superficiales globales. Las tendencias regionales muestran más variaciones de las temperaturas.

Aunque se ha observado una tendencia de incremento en el promedio global, los cambios regionales pueden ser muy diferentes, mientras que muchas regiones se estaban calentando, las regiones continentales centrales en América del Norte y en Asia estaban enfriándose en realidad.

Este fenómeno se debe entre otros factores al incremento de los gases de efecto invernadero, que se generan en los procesos industriales como los utilizados en aerosoles y refrigeración y otros se producen en la quema de los combustibles fósiles y orgánicos. Entre estos últimos se encuentra la quema de residuos de cultivos la que se ha incrementado con el crecimiento de la población y con esto el obligatorio desarrollo de la agricultura.

Los fitonemátodos constituyen una de las plagas más importantes para los cultivos tropicales y subtropicales, considerándose los enemigos invisibles del agricultor, por su tamaño microscópico que impide visualizarlos directamente en campo y solo nos permite darnos cuenta de su presencia por los

daños que causan a través de análisis especializados (Fernández, 1997).

2.1.1 Concepto.

Los nemátodos pertenecen al reino animal, son organismos multicelulares, generalmente microscópicos y poseen los principales sistemas fisiológicos, con excepción del respiratorio y circulatorio. En general tienen forma de gusano delgado, son cilíndricos, alargados, algunos segmentados exteriormente, sin

que esta segmentación afecte al interior, con diferenciaciones en la cabeza y en la cola. En algunas especies las hembras en su madurez pueden tomar formas distintas al macho, que sigue el patrón general (Manual de nematología, 1994).

2.1.2 Clasificación taxonómica

Los nemátodos del género *Meloidogyne* se encuentran incluidos entre los de mayor importancia agrícola y relevancia actual, según un survey realizado a nivel mundial por Sasser et al (1987) que incluyó 75 países y 371 nematólogos. A continuación se amplía la información sobre este género por ser el que interesa en esta investigación.

El género *Meloidogyne*. *Goeldi*.

La clasificación vigente, dada por Maggenti (1991) se señala a continuación:

Phylum Nemátoda Coob, 1919 (Chitwood, 1958)

Clase Secernentea Chitwood, 1937

Subclase Diplogasteria Maggenti, 1982

Orden Tylenchida Maggenti, 1982

Suborden Tylenchina Andrassy, 1976

Superfamilia Tylenchoidea Allen y Ser (1967)

Familia Heteroderidae

Subfamilia Meloidogyninae Skarbilovich, 1959

Género Meloidogyne Goeldi, 1887

Otro sistema de clasificación de los nemátodos fitoparásitos tiene su base en la división de estos de acuerdo a sus estrategias de alimentación, estableciéndose 4 grandes grupos: Ectoparásitos migratorios, Ectoparásitos sedentarios, Endoparásitos migratorios y Endoparásitos sedentarios (Hussey y Williamson, 1998)

El género *Meloidogyne* está ubicado dentro del grupo de los endoparásitos sedentarios.

La adopción de medidas adecuadas de manejo de un organismo están basadas, en primer lugar, en una certera detección e identificación de la misma (Jepson, 1987).

En Cuba el uso de plantas indicadoras constituye el método más empleado para estimar poblaciones de nemátodos formadores de agallas en suelos destinados a semilleros de Tabaco y Hortalizas en casas de cultivos protegidos y semiprotegidos, en viveros de Café, Guayaba y otros frutales, ornamentales y forestales; así como áreas de establecimiento de diversos cultivos (Padrón, 1995).

La identificación de *Meloidogyne* hasta nivel de género resulta relativamente fácil, sin embargo la determinación de especies es compleja debido a variaciones intra-específicas (Jepson, 1987).

En el género, la identificación se realiza en dos niveles. El primero se ejecuta en el campo, cuando se extraen plantas y se observa la presencia de agallas en sus raíces, el diagnóstico preliminar indicará la existencia de nemátodos de los géneros *Meloidogyne* o *Nacobbus* Thorne (falso nemátodo de agallas), mientras que la identificación de segundo nivel se ejecuta en laboratorios. Esta abarca estudios morfológicos, moleculares y fisiológicos.

En este género la morfología de los patrones perineales de las hembras ha sido históricamente el elemento fundamental en la identificación de sus especies. Para algunas poblaciones este carácter es muy estable y especie-específico (ej. *M. javanica*), pero en otras la identificación es más complicada debido a la presencia de aberraciones y formas intermedias (Santos y Abrantes, 1998).

Así mismo teniendo en cuenta que la morfología en el género, sufre cambios durante su ciclo de vida, desde hace algunos años se toman en cuenta también para el diagnóstico diversos caracteres de los machos y juveniles de segundo estadio (Rodríguez, 2000).

Los estudios moleculares incluyen el conteo de número de cromosomas, evaluación de proteínas, empleo de la tecnología de reacción en cadena de la polimerasa y el polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción.

Entre los estudios fisiológicos se incluyen las pruebas de hospedantes diferenciales de Carolina del Norte las que señalan entre otras cosas que en Nematología numerosos términos han sido utilizados para designar variaciones intra-específicas y se ha podido constatar que la raza, los biotipos y patotipos han sido utilizadas sin tener en cuenta en muchos casos, una definición estricta.

2.1.3 Generalidades de los nemátodos.

Los nemátodos formadores de agallas poseen un marcado dimorfismo sexual, siendo el macho vermiforme y activo y la hembra piriforme y sedentaria (Whitehead, 1968). Algunas especies se reproducen por anfigenesis (reproducción asexual), pero la mayor parte de las especies tropicales se reproducen por partenogénesis (reproducción asexual) (Triantaphyllou, 1985).

La matriz gelatinosa comienza a ser segregada entre 20-30 días después de la infestación y las hembras comienzan a depositar los huevos 5-6 días después. El número de generaciones (más de 10) que se producen en un año dependen de la susceptibilidad de la planta hospedante, especie de nemátodo, temperatura del suelo y longitud del período de crecimiento de las plantas Whitehead, 1998).

De Guiran and Ritter (1979) señalan que la duración del ciclo de vida depende en gran medida de factores como la temperatura, la humedad y la calidad del hospedero. González (1994) señala que las altas temperaturas favorecen el desarrollo y ataque de los nemátodos. En cambio las bajas temperaturas prolongan la duración del ciclo biológico disminuyendo por tanto, la intensidad del daño. Según Fernández (1991) Cuadra en 1984 informó que *Meloidogyne incógnita* necesita en los meses fríos de Cuba 40–43 o 29–32 días para completar su ciclo de vida en Tomate pero en verano el tiempo se acorta a 16-20 días.

En el caso de los cultivos perennes la planta hospedante constituye un factor determinante, pues una vez establecida la población de nemátodos, la planta estará sometida de por vida al ataque de estos organismos (Gómez y Montes, 2000).

El daño causado por *Meloidogyne* se conoce generalmente como agallas y aunque existe varias interpretaciones, una de las más aceptadas es la de Mani (1964), quien las describe como “Células desarrolladas patológicamente, tejido u órgano de plantas que se han formado principalmente por la hipertrofia (sobre- crecimiento) e hiperplasia (proliferación celular) bajo la influencia de organismos parásitos como bacterias, hongos, nemátodos, ácaros o insectos.

Actualmente se conoce que el proceso de agallamiento y la formación de células especializadas en el sitio de alimentación son dos respuestas diferentes. Las células especializadas o gigantes aparecen en el tejido vascular y son multinucleadas con un citoplasma denso, y no deben ser llamadas sincicios pues se producen por repetidas mitosis sin citocinesis, por el contrario de lo que se asumía anteriormente como una disolución de paredes celulares y fusiones del citoplasma. De otra parte la formación de agallas comienza relativamente rápido, inclusive en pocas horas como resultado de la introducción de reguladores del desarrollo por los estadios infestantez.

El proceso de formación de agallas no es esencial para el desarrollo de los nemátodos y puede aparecer poco diseminado aunque este sea normal, esta presente en ausencia del desarrollo del nemátodos o ser inducido por estadios infestantez móviles que no hayan penetrado la raíz. Sin embargo la formación de células gigantes es imprescindible para la vida del nemátodo y ambos se condicionan mutuamente.

Como consecuencia del parasitismo se producen daños más o menos visibles en las partes subterráneas que implican diversas manifestaciones en las plantas como son la reducción del desarrollo de los brotes y la disminución de la relación brote – raíz, aparición de deficiencias nutricionales foliares y particularmente clorosis; el marchitamiento temporal durante lluvias escasas, e incluso cuando hay alta humedad en el suelo y además la disminución de los rendimientos.

La penetración de las larvas (o juveniles de segundo estadio) en las raíces se produce generalmente entre las 24-72 horas posteriores a su emergencia del huevo (D' Arc y Ferraz, 1985), preferentemente en zonas de crecimiento de los extremos de las raíces (Mende, 1997) (Citado por Rodríguez, 2000).

2.1.4 Los nemátodos del género *Meloidogyne* como plagas agrícolas y su importancia económica.

La importancia económica de los fitonemátodos viene dada por diferentes factores, como son el daño que causan a los cultivos (muerte, pérdida de rendimiento, poca asimilación de agua y nutrientes, combinaciones con otros patógenos) y los gastos que se incurre para su combate (costo de nematicidas, labores Agrotécnicas, investigaciones de variedades, imposibilidad de usar un terreno, desechar posturas contaminadas) entre otras.

Los nemátodos del género *Meloidogyne* poseen una amplia gama de hospedantes dentro de todos los cultivos de importancia económica. Presentan 4 especies de gran distribución mundial; *M. incógnita*, *M. arenaria*, *M. javánica* y *M. hapla*, siendo las tres primeras, relevantes en cultivos tropicales. Además se incluyen comentarios adicionales sobre el género tomados de Luc Bridge y Sikora (1990) y de los archivos del Laboratorio de Nematología del INISAV (1994).

M. chitwoodi y *M. fallax*, han cobrado auge en Holanda donde se han detectado causando fuertes en papa y remolacha. *M. fallax* es nueva, descrita en 1996 por Karsen en este país y aparecía conjunta con *M. chitwoodi*, siendo los estudios de rango de hospedantes los que llevaron a discriminarlas. Ambas especies se encuentran también en Bélgica y Francia y los mayores daños se asocian a la Papa, Zanahoria y Salsifi negro al afectar con agallamiento los tubérculos y raíces principales, que los hacen no comerciales (Brommer y Molendjak, 1996).

M. mayaguensis: Poblaciones de esta especie se han identificado como altamente agresivas en el oeste de África. Estas vencen la resistencia de cultivos tradicionales como Tomate Rossol, Boniato CDH y la Soya Forest. Tiene distribución particular en Senegal. Fargette et al (1996) han demostrado las dificultades con su control. Hernández et al (1996) indican su presencia en Guatemala en el Cafeto.

A nivel mundial las pérdidas directas provocadas por nemátodos del género *Meloidogyne*, se reportan en cultivos tales como ñame (39-62%) y Tomate (75%) en Nigeria, Cafeto (24%), Soya (23%), Caña de azúcar (9%) y Algodón (17%) en Brasil, Frijol carita (20-59%) en África Oeste, Papa (33%) en China, Vegetales (35-50%) en Chipre, Tabaco (70-100%) en Sudan, Quimbombó (28-90%) en la India y Arroz (10%) en Asia, lo que da idea del amplio rango de hospedantes de estos nemátodos en cultivos económico.

El tamaño de los nemátodos fitoparásitos; así como las formas libres en el suelo, están comprendidos entre mm y 2 mm de largo y un diámetro variable entre 10 y 40 micrones.

Los nemátodos están distribuidos en el suelo en le plano vertical de un terreno cultivado es generalmente irregular, pero está fuertemente ligado a la distribución de las raíces de las plantas y a la profundidad de las labores. Estos se concentran principalmente en al zona arable, que puede variar de 0 a 25/50 cm. Son de poca movilidad por lo que los campos adyacentes que estén infestados nunca infestarán a los colindantes por ellos mismos; sino por que son transportados en cualquier partícula de suelo o vegetal, con las maquinarias agrícolas, agua de riego, equipo de riego, por los animales, por las plantas trasplantadas, las semillas y los bulbos, las tormentas de polvo, o el mismo hombre.

Reproducción.

Generalmente los nemátodos tienen su sexo separado y se reproducen por fertilización cruzada. Los machos y las hembras en este tipo de reproducción están representados en números iguales (Manual de nematología, 1994).

Los nemátodos también pueden reproducirse por hermafroditismo. Estas especies poseen todas las características de la hembra, la única diferencia es que la gónada produce tantos espermatogonios como ogonios. Este tipo de hermafroditismo se denomina singónico. Otra forma de reproducción que caracteriza algunas especies es la partenogénesis, en la cual no participan machos y el coito se desarrolla sin fertilización (Manual de nematología, 1994).

Ciclo de vida del genero *Meloidogyne*.

El ciclo de vida puede ser dividido en seis estadios evolutivos (tabla 2.1), uno de huevo, cuatro formas larvarias y el adulto. La primera muda se produce en el interior del huevo y las formas juveniles del segundo estadio comienzan a abandonar el huevo para penetrar en la raíz y a partir de este momento se convierten en parásitos obligados. Con el transcurso del tiempo crecen y pasan tres mudas más. El macho al dejar la exuvia queda libre en el suelo o dentro del tejido y la hembra segrega la ooteca, donde deposita los huevos, que pueden variar en cantidad hasta cerca de 2 882 como informó Tyler en 1933 (citado por Fernández, 1991). Ritter (1973) señala que la reproducción del nemátodo solo es posible en presencia del hospedante susceptible y el número de huevos producidos por cada hembra oscila entre 300 y 500.

Tabla 2.1

Estadio del nematodo	Días de duración	Total de días
Primera generación		
Segundo estadio (J2)	1-15	15
Tercer estadio	16-21	6
Cuarto estadio	22-26	5
Hembra inmadura	27-28	2
Hembra madura	29-31	3
Segunda generación		

Segundo estadio	31	31
-----------------	----	----

Daños que le producen a las plantas. Estos afectan a las plantas de forma directa o indirectamente (Manual de nematología, 1994).

- 1- Daños mecánicos. Producen daños en los tejidos de las células al alimentarse de ellos destruyendo sus membranas.
- 2- Daños químicos. Durante su alimentación inyectan a la célula sustancias químicas que pueden matar la célula o hacen que esta se desarrolle de forma irregular.
- 3- Vectores de organismos patógenos. Los nemátodos pueden actuar como vectores de ciertos virus introduciéndolos directamente en la planta. Igualmente pueden ser causa de de la introducción de bacterias y hongos o pueden agravar el efecto dañino de estos sobre las plantas.

Principales síntomas típicos de ataque de nemátodos.

Estos síntomas están presentes en la parte subterránea de las plantas (Manual de nematología, 1994).

- 1- Nudos y agallas en las raíces. Son debidos a crecimientos anormales de las raíces causadas por picaduras de nemátodos. Estos pueden encontrarse en el interior de estas protuberancias o no.
- 2- Lesiones en las raíces. Se encuentran sectores de las raíces débiles y descoloridas debido a picaduras de nemátodos. Estos sectores varían desde varias células hasta toda la raíz.
- 3- Podredumbre en las raíces. Cuando los ataques de los nemátodos van acompañados de invasión patógenos como hongos y bacterias, éstas pueden causar la pudrición de ciertas porciones de raíces.
- 4- Raíces muy ramificadas. En la proximidad de la zona más atacada de las raíces de la planta, ésta puede producir una excesiva cabellera radicular.
- 5- Pelos radiculares irregulares. Las picaduras de los nemátodos pueden detener el crecimiento de los pelos radiculares y producir raíces con desarrollos irregulares.

En la parte aérea.

Son síntomas similares a los que se observan cuando la planta está mal nutrida, reducción del crecimiento, amarillamiento, hojas más pequeñas, disminución de la producción y marchites acentuada en caso de falta de agua (Manual de nematología, 1994).

Diseminación.

Su principal medio de transmisión son las posturas, la semilla agámica, el suelo y la materia orgánica infestada. El agua de la lluvia o de riego en su arrastre y el hombre con sus pies y aperos de labranza

(Manual de nematología, 1994).

2.2 Interacciones con otros organismos.

Las interacciones de *Meloidogyne* con el marchitamiento por *Fusarium*, están muy extendidas en más de 20 cultivos. Con efectos sinérgicos, neutrales y en ocasiones hasta antagónicos, aunque en la mayoría de los casos la presencia del nemátodo tiende a aumentar la severidad de la enfermedad fungosa. Los cambios fisiológicos inducidos por nemátodos sedentarios endoparásitos (formadores de agallas y quistes) incrementan la susceptibilidad del hospedante a los hongos, posiblemente por interferencia con genes particulares. *Verticillium* y *Fusarium* prefieren las células gigantes y los sincitios para desarrollarse. Los dos grupos de hongos más asociados son los del marchitamiento y la pudrición de las raíces. Un grupo de rizobacterias promotoras de la salud vegetal cuando se aplican a la semilla o a trasplantes, reducen significativamente los niveles de infección de *Meloidogyne* y *Globodera*, ha sido demostrada la actividad directa de sus metabolitos en la movilidad y supervivencia de los huevos, juveniles y adultos (Sikora, 1996).

Otro tipo de interacción importante es con los microorganismos endófitos que colonizan los tejidos radicales y pueden tener un control potencial de los nemátodos endoparásitos después de entrar a las raíces. Se ha demostrado en el algodón y el pepino que los tratamientos a las semillas con *Pseudomonas fluorescens* (cepa 89B – 81) y *Enterobacter asburiae* respectivamente, reducen las poblaciones de *M. incógnita* y se aumenta la efectividad con otras medidas de control como la aplicación de quitina (Quadt-Hallman et al 1996).

¿Como saber si una casa de cultivo o un organopónico están infestados por *Meloidogyne*?

Tomando varias muestras de suelo (1 puñado por punto de 5 hasta 30 cm de profundidad en el área a evaluar), llevar el suelo a bolsas y sembrarle calabaza o pepino, o sembrarlos en el área; regarlas y cuidarlas hasta 35-40 días después de germinados y luego se extraen las plantas de forma tal que la raíz salga completamente y podrá observarse, de acuerdo a las infestaciones de las raíces si está mas o menos infestado el suelo (Manual de nematología, 1994).

Raíces mostrando las nodulaciones.

Raíz sana

Infestación

Infestación



Media

Intensa



Estos síntomas van generalmente acompañados de otros, no característicos únicamente de ataques de nemátodos y visibles en la parte aérea de la planta, como son: reducción de crecimiento, síntomas de carencias de nutrición como amarillamiento de la planta, síntomas de marchitamiento por sequía en presencia de humedad suficiente, reducción de los rendimientos en cosecha, y baja calidad de esta (Manual de nematología, 1994).

2.3 Manejo del género *Meloidogyne*

Medidas preventivas.

Siembra de posturas sanas

1. Si las compras debe cerciorarse que provienen de un semillero o vivero que tenga el certificado de Sanidad Vegetal avalando están libres de estos nemátodos.
2. Si hace su semillero o vivero debe analizar el suelo en el Laboratorio de Sanidad Vegetal o en las Estaciones Territoriales de Protección de Plantas o hacer su propio análisis, siempre apoyándose en el representante de la agricultura del Consejo Popular y en el fitosanitario municipal de la agricultura urbana
- 3. Que la materia orgánica y el compost que se utilice esté libre de nemátodos.**
4. Siempre que siembre posturas de cultivos perennes puede abrir el hoyo con varios meses de antelación y aplicarle materia orgánica 30/lbs puede ser sin descomponer y preferiblemente gallinaza 1 ó 2 meses antes de la siembra.
5. Evitar que pasen corrientes de agua de lluvia o riego que pueden estar contaminadas por nemátodos.
6. Lavar los implementos agrícolas después de trabajar en lugares infestados.
7. Mantener las plantas con condiciones agrotécnicas optimas, riego adecuado, incorporación de materia orgánica o enmiendas, le confieren un mayor desarrollo y más capacidad para enfrentar los resultados y otras plagas.

Medidas a tomar en caso de cultivos afectados por *meloidogyne* para mantener bajas las poblaciones.

Atención. Las plantas afectadas pueden presentar síntomas en la parte aérea, si se sacan y observan

las raíces se verán las nodulaciones características (Manual de nematología, 1994).

- **Selección negativa**

En caso de plantas temporales en que se observe gran afectación deben arrancarse cuidadosamente y quemar la raíz o sacarla del área.

Si son plantas perennes y están muy afectadas que no sea productivo mantenerlas, deben arrancarse y hacer lo mismo que en caso de los cultivos temporales, pero nunca volver a sembrar una de la misma especie o susceptible (Manual de nematología, 1994).

- **Inversión del prisma del suelo**

Mover el suelo 4 veces al mes o más si es posible ya que al invertir el sustrato, el sol y el aire matan los huevos y larvas presentes (Manual de nematología, 1994).

- **Rotación de cultivos**

Utilizando plantas de las poco afectadas por *Meloidogyne* (Manual de nematología, 1994).

- **Siembra de plantas trampa**

La Lechuga se siembra de transplante, con posturas sanas y se cosecha entre 17 y 22 días para eliminar parte de la población y no lleguen a eclosionar los huevos. Las plantas se sacan cuidadosamente con un rastrillo para que no queden raíces en el suelo. Si se hacen dos siembras seguidas la población disminuye grandemente.

Marigold (flor de muerto) a estas plantas los nemátodos las atacan pero no desarrollan dentro de ellas, es recomendable sembrarlas y después que florezcan arrancarlas o dejarlas e incorporarlas al suelo al final del ciclo (Manual de nematología, 1994).

- **Solarización del suelo**

Consiste en cubrir el suelo bien humedecido con una manta de polietileno durante 1 mes en los meses de mayor intensidad del sol, los nemátodos, malezas y otras plagas mueren por efecto de la pasteurización. La manta debe quedar bien asegurada en sus bordes con el suelo (Manual de nematología, 1994).

- **Control biológico**

Aplicaciones de *Trichoderma* al área infestada, los nemátodos huevos, larvas y adultos son parasitados por este hongo.

La combinación de dos o más de estas medidas ayuda a mantener a niveles bajos o no detectables las poblaciones de *Meloidogyne* sp. (Manual de nematología, 1994).

Tratamiento que se deben utilizar con la semilla.

- Utilice un material de siembra no infestado
- Vitroplantas: posturas garantizadas libres de plagas, enfermedades y nemátodos.
- Cormos: Deben proceder de áreas para semillas en que esté autorizada la siembra, siempre hay que mondarlos y desinfectarlos.

Si toma la semilla para nuevas siembras de su patio o de otro lugar es imprescindible mondar y desinfectar térmicamente.

- Mondado: Debe hacerse con cuchillos o machetes bien afilados, eliminando todo residuo de raíces, corteza y lesiones que se recogen y eliminan del área.
- Tratamiento con agua caliente: Se realiza posterior al mondado y de acuerdo al calibre de la semilla.

2.4 Métodos de luchas en nemátodos del género *Meloidogyne* en organopónicos y casas de cultivos protegidos y semiprotegidos y su afectación a las Hortalizas.

En Argentina, numerosas poblaciones de *Meloidogyne* sp han sido encontradas atacando un amplio espectro de vegetales, entre ellos los cultivos hortícolas con el objetivo de definir las relaciones nemátodo - hospedero, se analizaron las alteraciones histológicas causadas por tres poblaciones de *Meloidogyne* en raíces de Apio y Lechuga. Como resultado de la instalación del nemátodo los vegetales dieron lugar en el cilindro central, a la formación de células gigantes. En estos se observaron diferentes etapas de desarrollo inicial, diferenciada y no funcional, los sitios de alimentación provocaron interrupción, reducción y alteraciones en el tejido vascular de los vegetales analizados. Los nemátodos desarrollaron en forma completa, su ciclo de vida, dando lugar a la formación de masas de huevos. Se observa que la relación que se establece entre *Meloidogyne* – Apio y *Meloidogyne* – Lechuga es estrecha y que los cultivos represen buenos hospedantes (Rosso et al 2001).

En un survey realizado en campos de hortícolas en 9 distritos de mayor producción de Uganda los nemátodos del género *Meloidogyne* fueron los de mayor importancia (Bafocazara et al., 1995).

2.4.1 Usos del bionemático “HeberNem”, en combinación con el hongo *Trichoderma harzianum* cepa A-34 que lo complementa en el control de hongos fitopatógenos del suelo.

Partiendo de los resultados del laboratorio (Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología) y de las experiencias alcanzadas en las empresas donde se ha aplicado el producto, se ha elaborado el “Manual de Aplicación del Bionemático HeberNem”, cuyo contenido ponemos a disposición de los productores.

“HeberNem” es un producto biológico presentado en una fórmula líquida, efectivo en el control de nematodos de diferentes especies y géneros (*Meloidogyne* spp, *Radopholus símiles* y *Pratylenchus* spp). El agente activo de este producto es la bacteria Gram-positiva *Tsukamurella paurometabola* cepa C-924, aislada del suelo, caracterizada y formulada de manera que el microorganismo mantiene su viabilidad y propiedades nematicidas. Esta especie pertenece al grupo de los *Actynomicetos* comunes en el suelo y se encuentra en el ambiente (CIGB, 2007).

La bacteria produce sulfuro de hidrógeno y quitinasas. Su acción nematicida se debe fundamentalmente al efecto combinado de ambos elementos sobre los huevos y larvas (juveniles) de nematodos. Se produce el debilitamiento de la capa externa del huevo (70% de quitina) y se originan vacuolas dentro de los huevos que sufren un desorden en el proceso de embriogénesis (CIGB, 2007).

En las larvas se observan efectos similares en cuanto a la formación de vacuolas gaseosas internas, que se hacen más grandes en este caso, acompañado de daños en la cutícula (CIGB, 2007).

La producción de quitinasas y sulfuros por *T. paurometabola* cepa C-924 es favorecida por determinadas condiciones ambientales y componentes orgánicos del suelo. C-924 es capaz de producir estos compuestos en concentraciones que se ven favorecidos cuando en el suelo existe materia orgánica portadora de aminoácidos sulfurados y quitina (CIGB, 2007).

Esta bacteria no es sistemática, o sea que nunca se ha detectado en el interior de los tejidos de las plantas, en los cultivos tratados y en otras plantas “no blanco” con las que se han realizado pruebas con ese fin (CIGB, 2007).

El “HeberNem” es amigable con el ambiente, demostrado en más de 20 pruebas toxicológicas, ecotoxicológicas y en interacciones con la microflora del suelo. El “HeberNem” no es fitotóxico, incluso a concentraciones 100 veces superior a la recomendada; no es tóxico para mamíferos, lombrices, anfibios, artrópodos, peces, micorrizas, etc (CIGB, 2007).

Indicaciones para el uso de HeberNem en hortalizas y cultivos protegidos.

Preparación de los suelos.

- La primera medida, muy importante, para asegurar una buena desinfección de suelo, es su preparación.
- Para tal fin se requerirá hacerlo a buena profundidad (no menor a 30 cms) realizando las labores que permitan uniformidad y mullido en el 100 % del área preparada.
- Este objetivo se alcanza moviendo la tierra en buen tempero, lo cual sólo será posible utilizando riego por aspersión antes de la rotura, y luego de ésta; de ser necesario.
- La presencia de terrones al momento de la aplicación del producto anula su efecto nematicida ya que los huevos y juveniles de los nemátodos quedan fuera del alcance de la solución que contiene el agente activo.

- Alcanzar óptimamente este objetivo es condición indispensable e ineludible, para realizar la aplicación del bionemático “HeberNem”, lo que a su vez se traducirá en efecto muy positivo agrotécnicamente para los cultivos.

Debe estudiarse en cada lugar cuales pudieran ser las mejores fuentes de materia orgánica para cada tipo de suelo pero en sentido general ya conocemos que las más adecuadas para garantizar la actividad biológica de *T. paurometabola* cepa C-924 (agente activo de HeberNem), son aquellas ricas en aminoácidos (ej. compost), también los guanos (o estiércol) han resultado efectivos, el humus de lombriz a pesar de estar mineralizado en buena medida, ha garantizado muy buenos resultados (CIGB, 2007).

No se aplicará el bionemático “HeberNem” sin antes hacer la corrección requerida, o sea si el suelo está por debajo de los niveles requeridos de materia orgánica, es requisito indispensable enmendarlo antes de la primera aplicación de “HeberNem”. La materia orgánica debe estar bien distribuida en el perfil de 0 a 20 cm de profundidad (más importante de 3 a 15 cm) en el cantero, sólo si se sabe que existen los niveles mínimos señalados anteriormente, se puede aplicar localizada (CIGB, 2007).

Análisis nematológico previo.

Para cada casa a tratar con el bionemático “HeberNem”, se dispondrá antes de su aplicación de los resultados del análisis nematológico (gradología existente), emitido por Sanidad Vegetal y/o CIGB, en las formas establecidas.

Sugerimos que se empleen el grado promedio de las plantas evaluadas de 0 a 5 grados (ver anexo 1) y adicionalmente se cuente con el % de infestación de nemátodos. En ambos casos pueden ser calculados por muestreos representativos o sobre toda la población del cultivo precedente (CIGB, 2007).

Los esquemas de aplicación del “HeberNem” pueden ser aplicados siguiendo dos esquemas.

I.- Esquema convencional.

a. Aplicación en el sustrato para el cepellón de los semilleros (dosis: 20 mL/100 kg de sustrato).

Resuspender 20 ml del producto en 10 L de agua. Mezclar la suspensión con 100 kg del sustrato, empleando para ello una mochila (libre de otros productos) o regadera. Dejar reposar el sustrato entre 3 y 7 días, antes de la siembra de la semilla.

b. Primera aplicación de presiembra en el suelo (dosis: 10 L/ha o 1 mL/m²): Siete (7) días antes del trasplante o siembra directa. (En infestaciones bajas de nemátodos: 3 días antes)

Si las condiciones del sistema de riego (goteo localizado) son las ideales, puede hacerse por esta vía, para ello debe resuspenderse el producto a razón de 1 L en 20 L de agua, que serán aplicados por medio del ferti-riego (CIGB, 2007).

La forma más usada es mediante una mochila (libre de otros productos), para ello debe regularse una entrega adecuada de la mochila en la zona donde se desarrollará el sistema radicular de la planta, este

volumen oscila entre 50 y 70 mL/planta. Otra forma de aplicar es mediante vasijas taradas adecuadamente.

En todos los casos se debe garantizar que la solución final cubra el área que ocupará la plántula, por ello debe ajustarse para cada tipo de suelo, cultivo y estadio fenológico el volumen de la solución final a aplicar (entre 40 y 70 mL) (CIGB, 2007).

Durante los 7 días previos al trasplante se mantendrá el suelo en tempero, empleando la norma inicial de riego, garantizando mediante la agitación la homogeneidad de la suspensión y no dejarla más de 1 hora sin aplicar después de preparada (CIGB, 2007).

c. Segunda aplicación a los 14 días después del trasplante (dosis: 10 L/ha o 1 mL/m²).

Proceder igual que en la primera aplicación pero teniendo en cuenta que debe aplicarse un volumen mayor de solución final para cubrir la zona radicular (entre 50 y 90 mL).

d. Tercera aplicación a los 21 días después de la segunda aplicación (dosis: 10 L/ha o 1 mL/m²).

Proceder igual que en la segunda aplicación. En este caso se recomienda el uso del ferti-riego debido al desarrollo foliar de las plantas.

II.- Esquema en mezclas con materia orgánica y humus.

a. Aplicación en el sustrato para el cepellón de los semilleros (dosis: 20 mL/100 kg de sustrato).

Se procede igual que en el esquema I (convencional).

b. Primera aplicación de presiembra, mezcla de HeberNem con la materia orgánica o humus (dosis: 20 L/ha o 2 mL/m²), al menos siete (7) días antes del trasplante o siembra directa, la mezcla se realiza de acuerdo a las condiciones y los recursos de cada lugar, garantizando que se distribuya homogéneamente (HeberNem + Mat. Org), al menos en 15 a 20 cm de profundidad de la cresta del cantero, donde van a desarrollarse las raíces de las plantas.

c. Segunda aplicación, el día anterior al trasplante (dosis: 10 L/ha o 1 mL/m²):

Proceder igual que en la primera aplicación del esquema I convencional).

Importante. El esquema II puede ser efectivo en el control de nematodos, para dos ciclos del cultivo siempre que no se rompa la estructura del cantero y se cumplan con todos los requisitos para el uso de HeberNem (CIGB, 2007).

Semilleros.

-7 0 -3 20 mL/100kg sustrato

-7 0 14 35 Transplante 1ra 2da 3ra 10 L/ha

Casa de Cultivo 10 L/ha 10 L/ha

Compatibilidad de HeberNem con químicos y otros productos.

No aplicar mezclado ni en ningún tipo de combinación con: Zineb, Bi 58, TMTD, Ridomil MZ, kárate, Basamid (Dazomet) y compuestos cúpricos (CIGB, 2007).

Compatible con: Tamarón, Malathion, Confidor y Fundasol, aunque se recomienda no usarlos mezclados o simultáneamente (CIGB, 2007).

Se pueden combinar tratamientos pero sin mezclar directamente con: Nema-cur (Fenamifos) y Previcur (CIGB, 2007).

Compuestos que favorecen la efectividad de HeberNem: El humus líquido (Ej. C.T.A. humus de “Químicas Meristem”), favorece la permanencia en el suelo del agente activo de HeberNem y por tanto incrementa su actividad. Los extractos de levaduras y otros compuestos ricos en aminoácidos al aplicarlos mezclados con HeberNem son sinérgicos con la actividad del nematicida, pero siempre deben hacerse pruebas a pequeña escala antes de generalizar cualquier práctica (CIGB, 2007).

También se han desarrollado pruebas *in vitro* con once plaguicidas químicos de los más empleados en la agricultura. Los retos se desarrollaron bajo condiciones controladas y para las evaluaciones se tuvo en cuenta la aparición de zonas de inhibición del crecimiento de C-924 al interactuar con los productos químicos. Se aplicaron tres concentraciones, entre las que se encontraban la concentración de trabajo en campo, una superior y otra inferior. Para ello se tuvo en cuenta las irregularidades que ocurren en el campo, al aplicarse los productos químicos (CIGB, 2007).

Medidas biológicas. Generalidades. Particularidades del género Trichoderma.

La lucha biológica es un método que está siendo muy utilizado en la actualidad. A medida que la controversia sobre el empleo de productos químicos agrícolas aumenta, el control biológico de las plagas se ha convertido en un tema muy discutido. Numerosos microorganismos han sido reportados como posibles agentes de combate de los nemátodos. Dentro de las bacterias se destacan *Bacillus thuringiensis var. B. thuringiensis* presenta alguna actividad nematicida al igual que la *Pasteuria penetrans* y dentro de los hongos los géneros *Verticillium*, *Arthrobotrys*, *Paecilomyces* y *Trichoderma*.

Diversos nematicidas biológicos han sido empleados contra *Meloidogyne*, así nos encontramos que Ditera es un bionematicida producido por la fermentación del hongo *Mycrothecium spp*, con el cual se obtiene un control muy efectivo contra *M. incógnita* con dosis de 12-50 Kg/ha, mejor aplicado antes de la germinación de las plantas. Se está desarrollando así mismo un producto a base de nemátodos entomopatógenos que tiene efecto contra fitonemátodos (Grewal, 1996).

Freiras y col (1995), evaluaron aislados de *P. lilacinus* procedentes de Italia, Perú, Francia y Brasil contra *M. javanica* en comparación con hongos patógenos de otros nemátodos y observaron que el porcentaje de parasitismo variaba considerablemente, los aislados de Perú e Italia colonizaron el 100 % de los huevos “*in vitro*” y el de Francia más del 70 %, mientras que los aislados de Brasil variaron entre 2

y 69 %. Lara et al (1996) reportan buen efecto contra *M. incógnita* en tomate de Puerto Rico, con mejor efecto que el carbofuran.

Ya desde la época de los 80 se reportó el efecto de *Glomus macrocarpus* sobre *M. incógnita* en Soya con reducción del número de agallas (Keilan y Schenck, 1980), *G. manihotis* con *M. javánica* con supresiones fuertes del ataque de Garbanzo (Diedenrichs, 1986). El efecto se plantea que es a través de crear barreras mecánicas, segregar sustancias tóxicas y aumentar la viabilidad de las plantas fundamentalmente en suelos con deficiencias.

Dentro de los métodos de control biológico tiene gran importancia el empleo de microorganismos antagónicos encontrándose miembros del género *Trichoderma* en dicho grupo (Hador et al, 1984; Papavizas, 1985; Morois y Locke, 1985; Kwork y col, 1987; Sevan y Chet, 1989; Smith y col, 1990).

Género *Trichoderma*: Este género ha sido estudiado intensivamente con relación a su acción como control biológico de hongos patógenos de plantas y algunos productos comerciales basados en *Trichoderma* han podido ser acometidos. En algunos casos el modo de acción ha sido enlazado a la producción de metabolitos extracelulares con actividad antimicrobiana (Chet, 1987).

Según Carone (1986), la posición taxonómica es la siguiente:

Clase de forma: Deuteromycetes

Subclase de forma: Hyphomycetidae

Orden de forma: Moniliales

Familia de forma Moniliaceae

Género de forma *Trichoderma*

Especies de forma: *T. viride*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. hamatum*, *T. longibrachiatum*.

Algunos investigadores sugirieron que la clasificación de las especies de este género podría efectuarse utilizando la descripción de las sustancias metabólicas que originan, por ser un grupo de microorganismos que se distingue por la producción de enzimas, antibióticos y un número alto de sustancias metabólicas secundarias. Entre los primeros productos biosintetizados estuvo el viridin (*T. viride* y *T. polysporum*) y el *trichoviridin*. En *T. viride* se encontraron además el trichodermin, el trichotoxin y la cyclosporina, entre los productos más recientes (Ghisalberti and Sivasithamparam 1991).

Baker (1988) plantea que *Trichoderma* sp, reduce una sustancia que hace posible un desarrollo regular de las plantas, la que ha sido extraída y caracterizada, investigándose ahora su composición química.

En un estudio sobre la influencia de la esterilización parcial del sustrato basado en el empleo del método físico en la fase de adaptación de vitroplantas de *Syngonium* sp, y su combinación con *T. viride* se obtuvo que en los tratamientos de esterilización del sustrato con y sin incorporación del biopreparado se produjo una disminución de las poblaciones de los microorganismos del suelo. Se demostró el efecto estimulante de *T. viride* sobre el crecimiento y la supervivencia de las plantas en valoración cuantitativa

(Barbosa et al., 1998).

Martínez (1982) comprobó que la mayoría de los suelos en Cuba presentan altas poblaciones de diferentes especies de *Trichoderma*.

Trichoderma sp. Parasitario de una amplia gama de hongos patógenos y saprófitos (Baker, 1988), mostró evidencias de que su acción antagonista es responsables del control biológico de varios patógenos, preferiblemente *R. solani*. Con el transcurso del tiempo de análisis de su microparasitismo sobre *Pythium* sp. Se demostró que este es mediante la producción de un antibiótico solo observado en ensayos microbiológicos, siendo el factor causal del control biológico (Lifshitz, Windham y Baker, 1989).

Trichoderma sp, descompone la celulosa en el suelo, pero la competencia por los descendientes mutantes produce más celulosa que sus progenies en muchas más frecuencias que sus progenitores. Ellos también ocupan sustratos celulolíticos, por lo que la competencia rizosférica podría traer resultados desde la colonización del mucílago de las raíces (Papavizas, 1985).

Las especies de *Trichoderma* poseen buenas posibilidades en el biocontrol de patógenos fúngicos del suelo como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas a los que se les atribuyen los cambios estructurales a nivel celular, tales como vacuolación, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular (Bengston et al., 1992; Cherif y Benhamou, 1990; Ulloa, 1991).

Flores y Herrera (1997) y Sundara and Saksena (1988); mencionan como parte del mecanismo de biocontrol, el efecto biológico fungístico de sustancias volátiles emanadas por sistemas vivos incluyendo a *Trichoderma* aunque en la mayoría de los casos no se especifica la naturaleza de los mismos.

3. Materiales y Métodos

El trabajo se llevara a cabo durante un período de 2 años y se desarrollara en tres etapas fundamentales: experimentos de laboratorio, evaluación de la efectividad en condiciones semicontroladas y experimentos y generalización de resultados en campo.

Para el desarrollo de la primera, segunda y tercera etapa se procederá de acuerdo con la metodología para evaluar efectividad nematicida de sustancias de diverso origen (INISAV 1992).

3.1 Primera etapa. Experimentos de laboratorio (evaluación de la acción del extracto de la planta sobre la eclosión de huevos).

Se realizó la siembra de las cepas en A.N y se cultivaron durante 10 días a 28 ± 1 °C en que esporularon totalmente. Las cepas fueron revisadas en el microscopio de contraste de fase .Se observo buena esporulación y la presencia de cristales.

Se coordinó el montaje del bioensayo para el 7 de junio del 2006 cuando las cepas estaban bien esporuladas, se efectuaron conteos de cada cepa obteniéndose las siguientes concentraciones en la tabla 3.1.

Tabla 3.1.

Cepa	Concentración esp/ml
LBT-1	1.7×10^6
LBT-3	2×10^6
LBT-4	4.5×10^6
LBT-24	5.75×10^6
LBT-25	2.75×10^6
LBT-47	2.95×10^6

Se ajustaron las suspensiones para obtener de cada cepa los caldos a 1×10^6 y 1×10^6 esp / ml, que fueron las concentraciones de trabajo.

Se prepararon 2 testigos: (testigo 1 = solución salina 0.85% y testigo 2 =agua destilada estéril. Las ootecas fueron desinfectadas con solución de Hipoclorito de sodio al 0.05% durante 15 segundos y se enjuagaron posteriormente con agua destilada estéril. Las ootecas se colocaron en sus respectivos tratamientos, y se dejaron en reposo a temperatura ambiente hasta la primera evaluación, una semana después del tratamiento; se volvieron a dejar en reposo hasta la segunda evaluación a los 15 días posteriores al tratamiento.

3.2 Segunda etapa. Experimento de campo en organopónico (evaluación de la cepa Bt 25 en el

control del *Meloidogyne sp*).

- El trabajo realizó con aplicaciones de LBt 25 con diferentes en condiciones de organopónico para controlar *MeloidogyneSp*.
- Se realizó en el organopónico 26 de julio de la ciudad de Sancti Spíritus.
- Se seleccionaron los canteros.
- Se sembraron las plantas de pepinos (*Cucumis sativus*), 8 por metro cuadrado.
- Se seleccionaron las dosis para aplicar PRE trasplante, las dosis fueron 15 L/ha, 20 L/ha, 30 L/ha y un testigo y se aplicó a los 15 días posteriores a la primera aplicación utilizándose una mochila de 5 litros.

3.3 Tercera etapa. Experimento de campo en casas de cultivos semiprotegidos (evaluación del HeberNem combinado con Trichoderma en el control del *Meloidogyne sp*).

Ubicación del experimento.

El experimento se realizó en la finca de cultivo protegido y semiprotegido La Quinta del municipio Sancti Spíritus, el suelo que se utilizó fue mezclado con diferentes tipos de materia orgánica, como cachafé, humus de lombriz y compost durante la campaña del 2007 en el cultivo de la lechuga (*Lactuca sativus*) en un diseño de bloques completos al azar con dos tratamientos y tres repeticiones.

Este diseño se hizo con canteros tecnificados de 23 metros de largo y 1,20 metros de ancho divididos en tres parcelas de 7,6 metros aproximadamente, con 4 hileras por parcelas a una distancia de plantación de 0,20 entre plantas y 0,35 entre hileras donde se evaluaron 5 plantas por hileras. El método de siembra utilizado fue el de trasplante y se realizó 4 de abril del 2007.

Tratamientos.

Los tratamientos utilizados fueron.

Tratamiento. 1. suelo aplicado con HeberNem 120 mililitros / plantas, combinado con *Trichoderma harzianum* 20 gramos/ m²

Tratamiento.2. testigo.

Tratamiento 2	Tratamiento 1	Tratamiento 2
Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 1

Riego.

Riego y drenaje interno-externo (requisitos para aplicar HeberNem).

El riego debe cumplir con las normas establecidas para cada cultivo, tipo de suelo y época del año. No puede existir ningún tipo de tupición o salidero del sistema. Que los drenajes exteriores, provenientes de las lluvias, no penetren en ninguna cantidad al interior de las casas, asegurándonos que los colectores realizados, zócalos perimetrales, etc, garanticen que no haya penetración de corrientes de agua adentro de las casas interiormente, en las partes que lo requieran (cabeceras, laterales, etc). Teniendo en cuenta la topografía de cada casa, se ejecutarán los drenajes que aseguren que la entrada de agua por

las mallas, no se derrame y drene desordenadamente dentro de las casas.

Los techos no tendrán filtraciones, agujeros, etc; que originen que en caso de fuertes precipitaciones, se produzcan golpes de agua en los canteros que den lugar a erosiones, salpicaduras u otras causas que alteren los resultados del bionematicida aplicado.

Los incumplimientos de las condiciones antes señaladas son causas de fuertes alteraciones en los resultados de la efectividad del bionematicida, pues producen arrastres, contaminaciones, etc; que también alteran y obstaculizan los resultados integrales de la tecnología.

El riego que se empleó fue con micro aspersores a una frecuencia de uno cada 5 días después que se realizó el trasplante, este se mantuvo hasta que se efectuara el primer corte.

3.3.1 Mediciones y observaciones físicas.

3.3.2 Evaluación de las muestras de suelo.

Se tomaron muestras de suelo antes de realizarse el trasplante, después de los siete días de realizarse el trasplante y después de la cosecha.

3.3.3 Parámetros biológicos.

3.3.4 Mediciones realizadas a las plantas.

3.3.5 Número de hojas.

Se observaron 5 plantas por hileras semanalmente el número de hojas después de los siete días de ser trasplantadas, a los 21 días de ser trasplantadas, y antes de que se le realizara la cosecha.

3.3.6 Altura de las plantas.

Se comenzó a medirse 5 plantas por hileras semanalmente después de los siete de ser trasplantadas las plantas con una regla milimétrica.

3.3.7 Rendimientos.

La cosecha realizó el (12 de junio del 2007) se pesó toda la producción obtenida, determinándose su peso en Kg /m².

3.4 Sanidad Vegetal.

Se iniciaron los muestreos una semana después del trasplante y se mantuvieron hasta el inicio de la cosecha, observando la planta entera.

3.5 Análisis estadístico.

Todos los resultados experimentales fueron sometidos a Análisis de Varianza según el diseño experimental empleado y en los casos que existieron diferencias significativas entre los medios de

tratamientos, se realizó como criterio discriminante la prueba de rangos múltiples de Duncan.

4. Resultados y discusión.

4.1 Evaluaciones realizadas en el laboratorio.

Cálculo de la reducción de la eclosión con testigo en agua sola. Tabla 4.1

Cepa	Primera evaluación a los 7 días	Segunda evaluación a los 15 días

	Media	% de reducción de la eclosión	Media	% de reducción de la eclosión
Testigo	38	0	63	0
Testigo con solución salina	42	-12.5	23.5	62
Bt -1 10•	14.75	61.2	14.5	76.9
Bt -1 10•	11.75	71	12.5	80.2
Bt -3 10•	27.5	27.6	21.5	65.9
Bt -3 10•	12.25	67.7	7.75	87.7
Bt -4 10•	20.25	46.7	19.5	69.4
Bt -4 10•	9.5	76.3	17.5	72.2
Bt -24 10•	21.5	43.4	14.25	77.4
Bt -24 10•	13.25	65.7	5	92.1 *
Bt -25 10•	19.75	48	9	85.7 *
Bt -25 10•	10.75	71.7	2.75	95.6 *
Bt -47 10•	15.5	59	7	88.8 *
Bt -47 10•	7.75	79.2	2.25	96.4 *

Cálculo de la reducción de la eclosión en testigo con solución salina a los 15 días. Tabla 4.2

Cepa	Media	% de reducción de la eclosión
Testigo con solución salina	23.5	
Bt -1 10•	14.5	38
Bt -1 10•	12.5	52.1
Bt -3 10•	21.5	8.5
Bt -3 10•	7.75	67
Bt -4 10•	19.5	17
Bt -4 10•	17.5	25.5
Bt -24 10•	14.25	39.3
Bt -24 10•	5	78.7
Bt -25 10•	9	61.7
Bt -25 10•	2.25	90.4
Bt -47 10•	7	70.2
Bt -47 10•	2.75	88.3

Resultado de las observaciones.

Se pudo observar que las larvas presentaron poca movilidad en la mayoría de los casos, en todas las observaciones emergieron las larvas y se pudo apreciar que la amplia mayoría realizaba movimientos lentos. Se observó además que presentaban las estructuras internas no definidas, casi la totalidad vacuolizadas, con la cutícula deformada en casi todas las cepas de mejor efecto.

Pudimos apreciar que los huevos en algunos casos presentaron deformaciones y en otros se encontraban vacuolizados, además las cepas de menor efecto nematicida este síntoma fue menos marcado.

Además se pudo ver tanto en la primera evaluación como en la segunda una capa blanquecina cubriendo las ootecas de la cepa Bt -47 en las dos concentraciones.

Es de señalar que en el testigo con solución salina a los 15 días de efectuado el tratamiento, hubo reducción de la eclosión de un 62 % sin embargo a los 7 días no se presentó reducción, sino todo lo contrario hubo un incremento en la población que consideramos pudo haber tenido otras causas (ver anexo. 2).

4.2 Realización de aplicaciones de Bt 25 en diferentes dosis para condiciones de organopónicos utilizadas para controlar *Meloidogyne*Sp.

4.2.1 Resultados de las dosis utilizadas para la aplicación se obtuvieron los siguientes resultados.

Es necesario destacar que para las dosis de 20 L/ha y 30 L/ha no se encontraron diferencias significativas en cuanto a los rendimientos, llegando a alcanzar rendimientos bastante altos para plantaciones de pepino (*Cucumis sativus*) en organopónicos, no siendo así para la dosis de 15 L/ha que dió como resultado una disminución de los rendimientos aunque en comparación con el testigo sus resultados fueron mucho mejores.

Además e esto se comprobó que los grados de infestación de los canteros se redujeron a 0 en las dos dosis mas altas llegando a reducirse solo un grado para la dosis de 15 L/ha y aumentando para el testigo, ver anexo. 3.

4.3 Resultado de las evaluaciones realizadas del HeberNem combinado con *Trichoderma harzianum* en el control del *Meloidogyne s.*

4.3.1 Evaluación de las muestras de suelo.

Los resultados de las muestras de suelo de los tratamientos donde se aplicó el HeberNem combinado con *Trichoderma* el grado de infestación que se obtuvo fue de 0° por la escala de Zeck y en los testigos el grado de infestación observado fue de 2° obteniéndose altas diferencias significativas entre los dos tratamientos comprobando la eficiente respuesta que proporciona la utilización de estos productos biológicos en el control de los nemátodos del suelo en cultivos semiprotegidos.

4.3.2 Número de hojas.

De manera general los tratamientos donde se aplicó el HeberNem combinado con *Trichoderma* mostraron un mejor comportamiento en cuanto al número de hojas, pues en casi todas las semanas este es significativamente mayor con respecto a los testigos. El número de hojas es una característica varietal pero el hecho de que en los tratamientos donde se aplicaron los productos biológicos sea mayor, se debe fundamentalmente a que se crean condiciones físicas favorables de los suelos, También por su acción nematicida y bioestimulante, causa fundamental que sostiene (CIGB, 2007).

En tabla 4.3, anexo 4, se muestra el comportamiento de este parámetro biológico ante los distintos tratamientos. En el tratamiento el número de hojas oscila entre 5,6.

Entre la primera semana después del transplante y la cuarta semana los resultados de los tratamientos con los productos biológicos fueron altamente significativos mostrando diferencia significativa con los testigos, dado por el aumento significativo de las hojas uno con respecto al otro.

Tabla 4.3 Número de hojas por tratamiento

Semanas después del transplante

Tratamientos	1	2	3	4	Promedio
--------------	---	---	---	---	----------

HeberNem/	5,2	9,7	16,5	25,4	15,3
Trichoderma					
Testigos	3,5	6,9	12,6	19,7	11,6

4.3.3 Altura de las plantas.

La altura de las plantas se puede observar en la tabla 4.4, anexo 5, aparece que la mayor altura de las plantas se obtiene con los tratamientos donde se aplicó el HeberNem combinado con Trichoderma no siendo así en los testigos donde se refleja una alta diferencia significativa esto es debido al buen comportamiento de los productos biológicos en la acción nematicida y su capacidad de bioestimular el crecimiento de las plantas.

Se pudo comprobar que el aumento significativo de las plantas en su crecimiento en los tratamientos osciló 8.3 cm.

Tabla 4.4 Altura de las plantas por tratamiento

Semanas después del trasplante

Tratamientos	1	2	3	4	Promedio
HeberNem/	5,1	10,4	18,6	28,4	16,75
Trichoderma					
Testigos	3,3	7,2	12,8	22,3	12,8

4.3.4 Rendimientos

Los rendimientos agrícolas se muestran en la Tabla 4.5, anexo 6, son obtenidos por los tratamientos donde se pone de manifiesto que el tratamiento con los productos biológicos son significativamente mayores que los testigos.

En los resultados del peso final de las hojas cosechadas en el tratamiento con los productos biológicos son mayores que el obtenido en los testigos. En este último tratamiento se obtuvo 0,95 kg/m² siendo significativamente menor que el peso obtenido en los tratamientos con los productos biológicos

2,1kg/m².

Este comportamiento se debe a que se crean condiciones físicas en los suelos tratados con los productos biológicos, fundamentalmente por su acción nematicida y su capacidad de bioestimular el follaje de las plantas.

Tabla 4.5 Rendimientos	
Tratamientos	Kg /m ²
HeberNem/ Trichoderma	2,1
Testigos	0,95

4.4 Sanidad Vegetal.

El comportamiento de las enfermedades y plagas durante el ciclo biológico del cultivo no hubo un comportamiento significativo ya que la presencia de los productos biológicos fue la única afectación que se observó estuvo dada por la mancha de las hojas (*Alternaria* spp) formándoles manchas pardas, redondeadas con anillos concéntricos en las hojas inferiores. Este comportamiento está dado fundamentalmente porque ocurrieron condiciones de excesas precipitaciones y altas temperaturas lo cual favoreció la aparición de la enfermedad.

Conclusiones.

- 1- La cepa LBt -25 10 8 a demostrado tener actividad nematicida contra diversos estadios de nemátodos formadores de agallas del género *Meloidogyne* , manifestado a través de la reducción de la eclosión de los huevos, causando malformaciones y vacuolas en el sistema digestivo de las larvas. El testigo con solución salina a los 15 días de efectuado el tratamiento, produjo una reducción de la eclosión de los huevos a un 62 %, sin embargo a los 7 días no se presento reducción; sino todo lo contrario hubo un incremento en la población que consideramos pudo haber tenido otras causas.
- 2- La cepa de LBt 25 es de vital importancia para incluirla en el manejo integrado de nemátodos. Las dosis de 30 y 20 L/ha fueron las de mejor resultado en el ensayo y se lograron reducir los grados de infestación de *meloidogyne spp* en el cultivo.
- 3- En el tratamiento donde se aplicó el HeberNem combinado con Trichoderma se lograron reducir los grados de infestación de los nemátodos formadores de agalla comparados con los testigos.
- 4- El número de hojas fue mayor en el tratamiento donde se aplicó los productos biológicos que en los testigos.
- 5- La altura de las plantas fue mayor en el tratamiento donde se aplicó los productos biológicos que en los testigos.
- 6- Los rendimientos fueron mayores en el tratamiento donde se aplicó los productos biológicos que en los testigos.
- 7- la afectación de las plagas y enfermedades no tuvieron relevancia en el desarrollo del cultivo.

Recomendaciones.

- 1- Realizar experimentos de laboratorios para analizar el comportamiento de los diferentes estadios y la dinámica poblacional de los fitonemátodos para obtener resultados efectivos en su control.
- 2- Utilizar las diferentes cepas de (*Bacillus thuringiensis*) en el control efectivo de los fitonemátodos del

suelo en organopónicos.

3- La combinación de productos biológicos de producidos por los laboratorios de los Centros de Ingeniería Genética y Biotecnología con los producidos por los Centros Reproductores de Entomófagos y Entomopatógenos en el control de los fitonemátodos que afectan a los suelos.

7.0 BIBLIOGRAFIA.

Bafocuzara, N. D. 1995. Incidence of nematodes on vegetables and fruit crops and preliminary assesment of yield loss dam to *Meloidogyne* spp. in Uganda. Kawanda agricultural Research. Institute Kampala Uganda.

Baker, C. R.; Can, J. (1988): Plant Patology 9(1): 370-379.

Barbosa, C.; R. Rodríguez; Y. Rodríguez; Q. Borrás; M. C. Pérez; R. Becker. (1998): Influencia de la esterilización parcial del sustrato y de su combinación con *Trichoderma viride* en la fase de adaptación de *Singonium* sp. Cuaderno de Fitopatología 58: 135-138.

Bengton, G.; K. W. Boeddeker,; H. P. Hanseen and I. Urbasch. 1992. Recovery of 6-pentyl-alpha pyrone from *Trichoderma viride* culture medium bypervaporation. Biotechnology. Tech 6(1).p23-6.

Brommer, E. and L. P. G. Molendjic. 1996. The impact of *Meloidogyne Chitwoodi* and *M. fallax* on the potato crop. En: Abstracts of Conference papers, Posters and Demonstrations 13th Triennial

- Conference of the European Association for potato Research. The Netherlands 14-19 July.p318–19.
- Carone, Margarita. 1986. Micología. Editorial. Pueblo y Educación, La Habana.p279-303.
- Casanova Morales, A., Olimpia Gómez Consuegra, M. Hernández, Marisa Chailoux, T. Depestre, F. pupo, J. Hernández, V. Moreno, María León, A. Igarza, Carmen Duarte, Irene Jiménez, R. Santos, A. Navarro, Aleyda Marrero, Hortensia Cardoza, F. Piñeiro, N. Arozarena y Luisa Vilariño. 2003. Manual para la producción protegida de hortalizas. Editorial. IIH “Liliana Dimitrova”, La Habana, Cuba.113pp.
- Cuba. 1994. Archivos Laboratorio Nematología. INISAV.
- Cherit, M. and Benhamou. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp on *Fusarium oxysporium* f. spp. radicis lycopersici. *Phytopathology* 80(12).p1406-14.
- Chitwood, D.J. 1987. Inhibition of Steroid or hormone metabolism or Action in Nematodes. En *Vistas of Nematodology* (Eds J.A. Weech and D.W. Dickson) Soc Nemat. Inc. Maryland WA.p122-130.
- De Guiran, G. and M. Ritter. 1979. Life cycle of *Meloidogyne* species and factor influences their development root-knot nematodes (*Meloidogyne* species) Systemations, Biology and Control Edit. F. Lamberti and C. E. Taylor: 447pp.
- D' Arc de Lima, Rosangela; S. Ferraz. 1985. Biología de *Meloidogyne exígua*. II. Desenvolvimento “pos-embriogênico em Cafeeiro ‘Mundo Novo’”. *Rev. Ceres* 32 (183) p349-361.
- FAO. 1992a. Carta Mundial de Suelos, Roma, Italia.
- Fargette, M.; R. Duponnois; T. Mateille and V.C. Blok. (1996): Characterization of *Meloidogyne mayaguensis* and its relationship to other tropical root-knot nematode, *Nematropica* 26 (3): 261p
- Fernández, E. 1991. Los nematodos del género *Meloidogyne* Goeldi en el cultivo de a guayaba (*Psidium guajava* L.) y su control. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. INISAV.p5-14.
- Fernández, E. 1997. Manejo integrado de nematodos en cultivos tropicales. CISA. INISAV. La Habana.p2-26.
- Flores, A.; J. Chet and A. Herrera Estrella. (1997): Improved biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* by over expression of the proteinate-encoding gene prb 1. *Curr. Genet.* 31: 30-37.
- Freiras, L. G.; S. Ferraz y J. J. Muchovej. (1995): Effectiveness of different isolates of *P. lilacinus* and an isolate of *Cylindrocarpum destructan* in the control of *M. javánica*. *Nematropica* 25, 100-115.
- Funes, F. 2001. El movimiento cubano de agricultura orgánica. En: Funes, F; L. García; M. Bourque; Nilda Pérez y P. Rosset. Transformando el campo cubano. Avances de la Agricultura Sostenible. La Habana, Cuba. : 15 –38.

- Ghisalberti, E. L.; M. J. Narbey, M. M. Dewan and K. Sivasithanparah. (1991): Variability among of *Trichoderma harzianum* in their ability to reduce take-all and to produce pyrones. Plant Soil 121(2): 287-291.
- Gómez, M. y Magda Montes. (2000): Los nemátodos fitoparásitos en el cultivo de la guayaba. Proteja su fruta. Instituto de Investigaciones de Cítricos y Otros Frutales: 1-5.
- González, H. 1994. Principales problemas causados por nematodos fitoparásitos en Cuba ACONEX 7. p11-15.
- Guenkov, G. 1969. Fundamentos de la Horticultura Cubana. Editorial Pueblo y Educación. La Habana, Cuba.
- Hador, Y.; G. E. Harman and A. G. Taylor. 1984. Evaluation of *Trichoderma koningii* and *T. harzianum* from New York soils for biological control of seed rot caused but *Phytium* spp. Phytopathology 74(1).
- Hernández, A., M. Fargette, V. Moliner, H. Ramenason, B. Decazy and J.L. Sarah. 1996: Enzymatic characterization and reproductive fitness on coffee of root-knot nematode populations from Central America Nematropica 26 (3) p274.
- Huerres, Consuelo y Nelia Carballo. 1988. Horticultura. Editorial Pueblo y Educación. La Habana, Cuba. 193 pp.
- Hussey, R. S. y Valerie M. Williamson. (1998): Physiological and Molecular Aspects of Nematode Parasitism. Pp 87 – 108. En Plant and Nematode interactions K Barker, G. Pederson, G. Windhan (Eds) Agronomy Monograph No 36 Madison, Wisconsin, USA.
- Jepson Susan. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp). C. A. B. international. Wallingford, UK. 265 pp.
- Kwork, O. C. H.; P. C. Fehy; H. A. J. Haitink and G. A. Kuter. 1987. Interaction between bacteria and *Trichoderma hamotum* in suppression of *Rhizoctonia* Damping-off in bark compost media. Phytopathology 77(8).
- Luc, M, J. Bridge y R. A. Sikora. 1990. Reflections on Nematology in Subtropical and Tropical Agriculture. Introduction En: Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture (Eds: M-Luc, R.A. Sikora y J. Bridge) CAB. Int.
- Lifshitz, R.; M. T. Windham and R. Backer. (1986): Phytopathology. 16(1): 720-725.
- Maggenti, A. R. 1991. Nemata Higher classification. En Manual of Agricultural Nematology. W. R. Nickiel (De). Marcel Dekker, Inc., New York – Base Hong Kong.p147 – 187.
- “Manual de Aplicación del Bionemático HeberNem”, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Camagüey, 2007.
- Martínez Viera, R. 1982. Potencial antibiótico de los suelos de Cuba / s.l: s.n.
- Mende Van Nicola (1997): Invasion and migration behavior of sedentary nematodes. Pp 51-64. En Celular and Molecular Aspects of Plant-Nematode Interactions. C. Fenoll; F. M. W. Grundler, S. A. Ohl

(Eds). Kluwerk Academic Publishers Dordrecht, Boston, London. Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. M. Luc; R. A. parasites of coffee, Cocoa and Tea. Pp 387-430. En Plant Parasitic.

Morois, J. J. and J. C. Locke. 1985. Population of *Trichoderma viride* in steamed plant growth medium. *Phytopathology* 75(1).

Nasa 2004 Satélites-Termómetros Miden el Calentamiento Global <http://www.astroseti.org/vernew.php?codigo=257>

Netscher, C. y R. A. Sikora. 1990. Nematode Parasites of vegetables. En: Parasitic Nematodes in Subtropical Agriculture (Eds. M. Luc. R. A. Sikora and J. Bridge) CAB Int.p 237-283.

Orellana, R. y O. Solana (1998):: Desarrollo sostenible:¿Variaciones climáticas o actividad humana?. AS-P. 58: XI Seminario Científico INCA.87.

Padrón, J. 1995. Protección de Plantas. Agricultura Sostenible. Plan Turquino. MINAGRI. Cuba.p19.

Papavizas, G. 1985. C. *Trichoderma* and *Gliocadium* Biology ecology and potential biocontrol. Ann. Rev. Phytopathology_23.p23-54.

Quadi Hallmann; J. Hallmann; R. Rodriguez-Cabana and J. W. Klodepper. (1996): Nematode interactions with endophytes II: Effect of nematode density on colonization of endophytic bacteria. *Nematropica* 26(3): 302p.

Rodríguez Mayra G. 2000. Identificación y caracterización de *Meloidogyne mayaguensis* (Nemata; *Meloidogynidae*) en el café en Cuba. TESIS EN OPCION DEL GRADO CIENTIFICO DE DOCTOR EN CIENCIAS AGRICOLAS. Universidad Agraria de la Habana “Fructuosos Rodríguez Pérez”. CENSA. 11p.

Santos, M. S.; Isabel Abrantes. 1998. Identification of Root-Knot Nematodes. En A. Workshop Manual for Research on *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent for Root-Knot Nematodes. EU Project FAIRS - PL 97-3444. IACR-Rodamsted, UK.p64-7.

Sasser, J. N. y D. W. Dickson. 1987. Soc. Nematology. Inc. Maryland USA.

Sivan, A. and I. Chet. 1989. The possible role of competitive between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium* on rhizosphere colonization. *Phytopathology*_79(2).p 371-373.

Smith, V.; W. F. Wilcox y G. E. Harman. 1990. Potential for biological control of *Phytophthora* root and crown rots of Apple by *Trichoderma* spp. and *Gliocadium* spp. *Phytopathology* 80(9).p1250-1251.

Triantaphyllou. 1985. Cytogenetics, cytotaxonomy and phylogeny of root – knot nematodes. En An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Vol. 1. Biology and Control. K. R. Barker; C. C. Carter; J. N. Sasser (Eds.) Dept. Plant Patology and United State Agency for International Development. North Carolina State University Graphics. P13-133.

Rosso, L.; M. E. Doucer; Eugenia Lorenzo (2001): Datos preliminares acerca de la relación entre

Meloidogyne sp. y dos cultivos hortícolas en Argentina.. 33 Reunión Annual de la ONTA. IV Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal. 50.

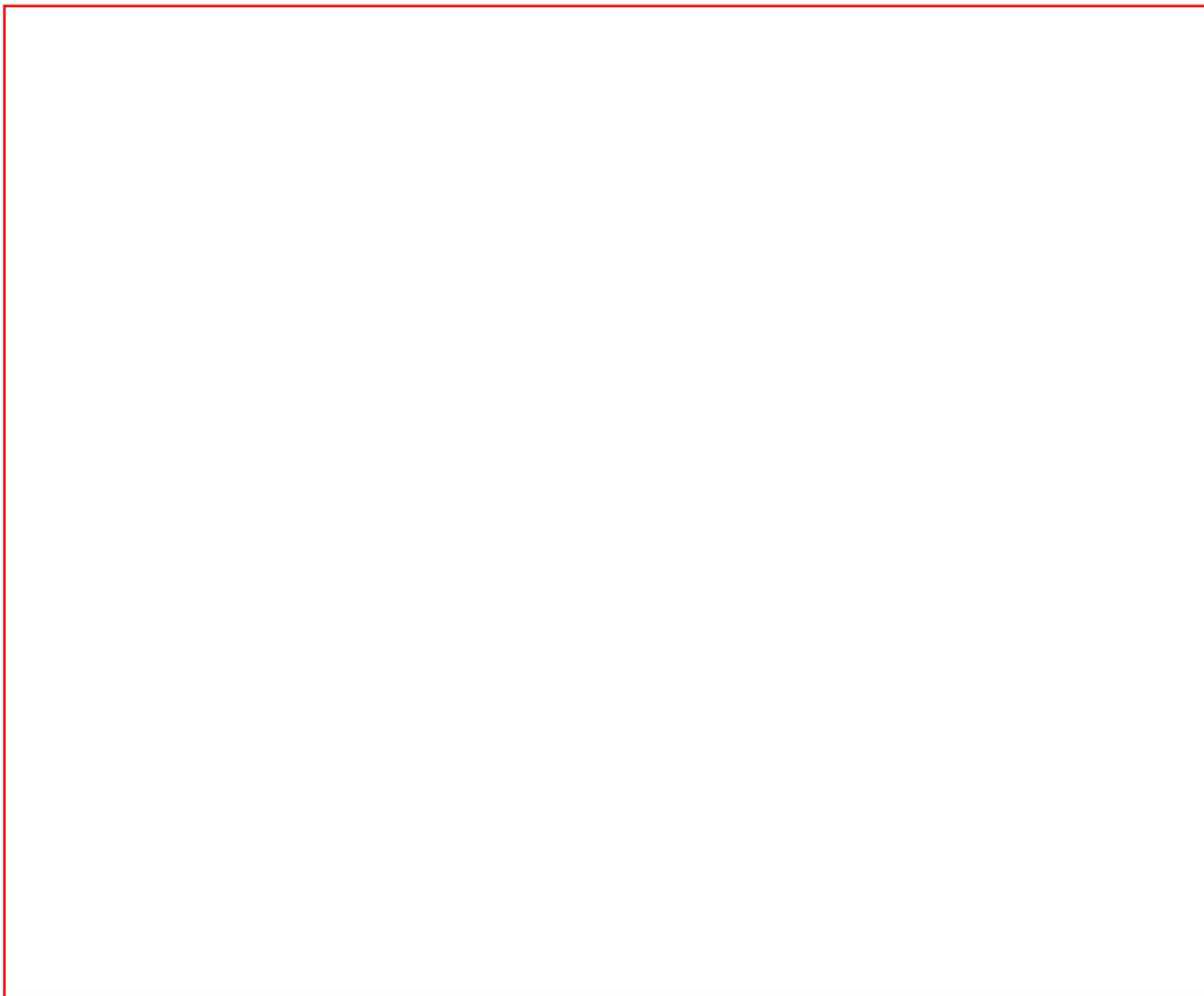
Ulloa, C. J. and J. F. Peberdy. 1991. Purifications and characterization of an extracelular chitobiose from *Trichoderma harzianum* Curr. Microbiology. 23(5). P285-289.

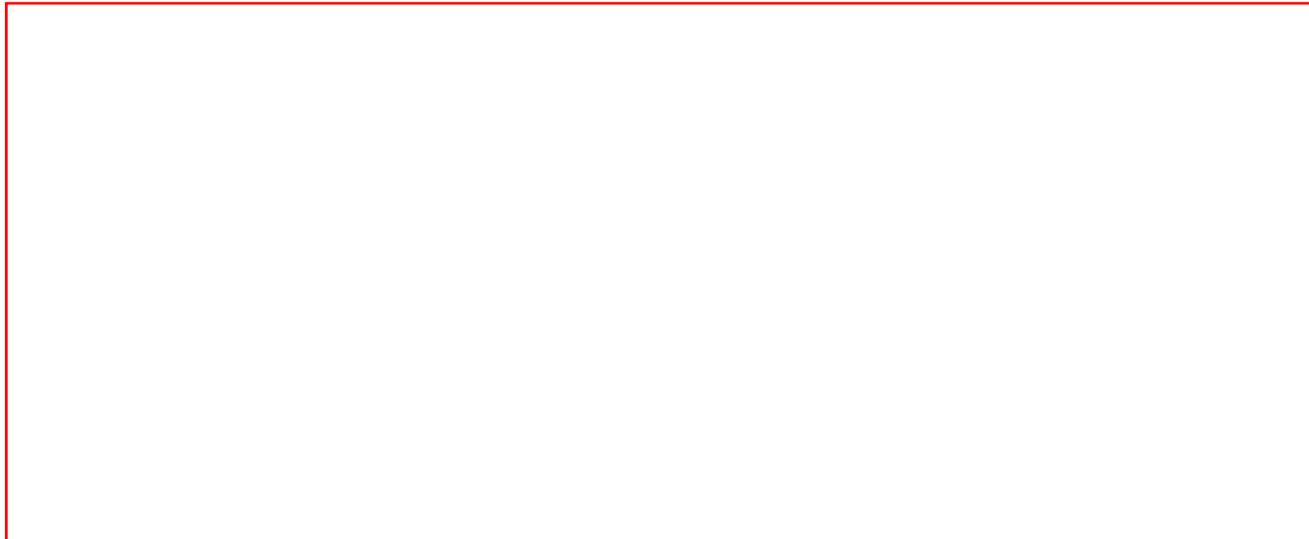
Whitehead, A. G. 1998. Sedentary end parasites of Root and Tubers (*Meloidogyne* and *Nacobbus*). En Plant Nematode Control. CAB International Wallingford.p209-260.

Windhan, G. L.; M. T. Windhan and W. P. Williams. 1989. Effect of *Trichoderma* spp in maize growth and *Meloidogyne arenaria* reproduction. Plant Disease. 73. p493-495.

Zeck. W. N. M. 1971. Un esquema de valoración para evaluar el grado de infestación con cecidios radiculares en el campo. Pflanzenschutz Nachrichten. Bayer.p147-150.

Anexo 1 del Manual: Escala de Zeck modificada, variante desde 0 hasta 5 grados:

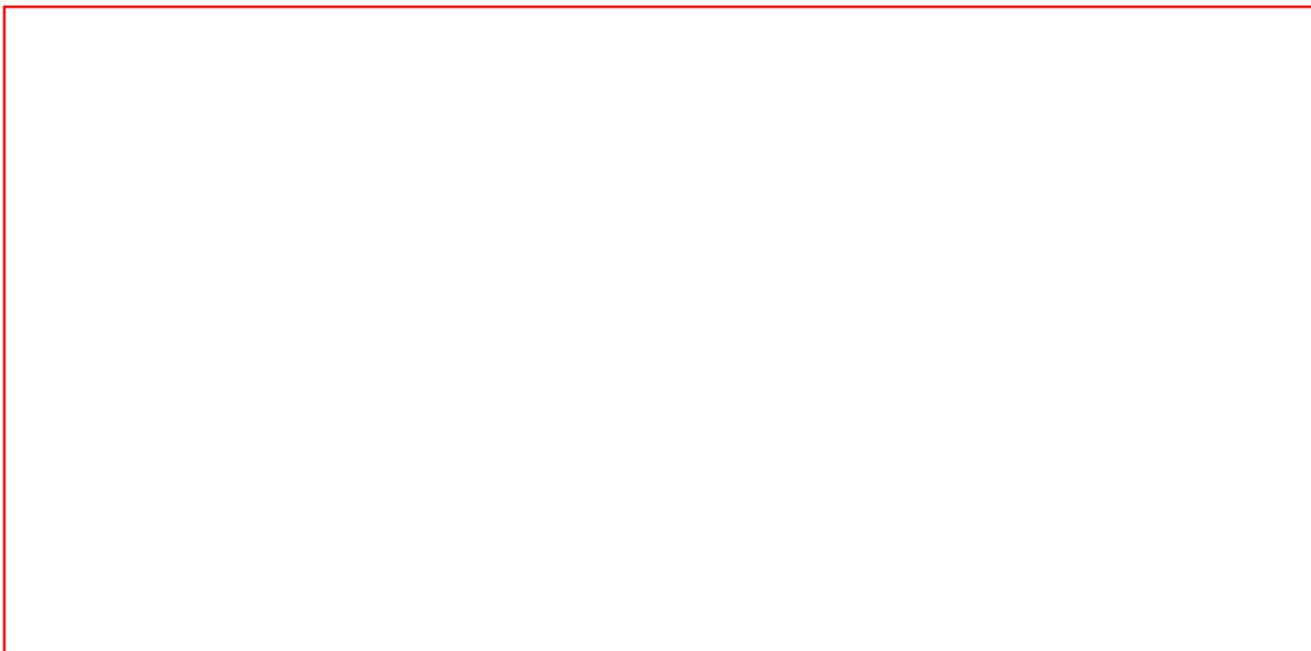




Anexo. 2 Resultados de la reducción de la eclosión a los 15 días

Gráfico.1

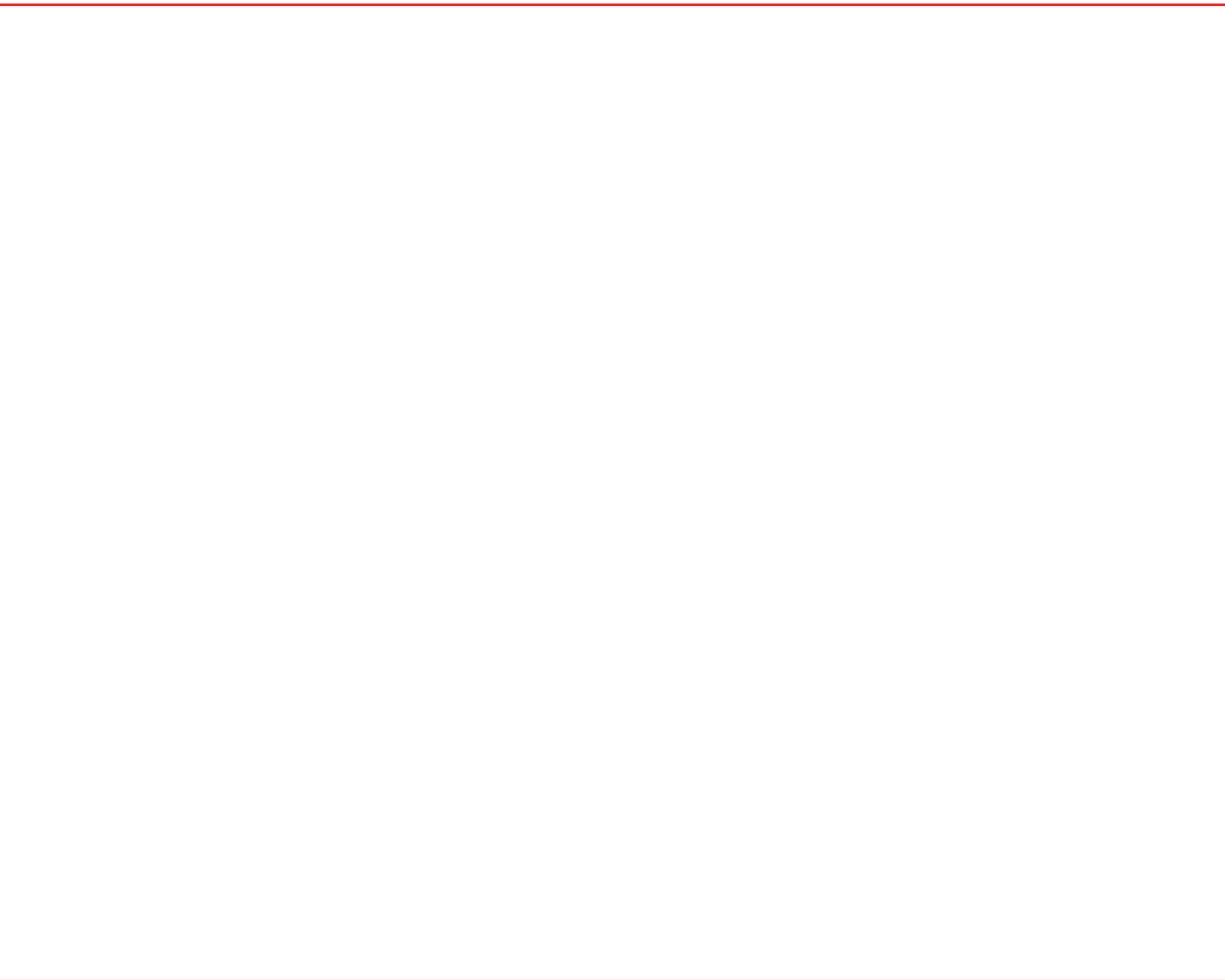
Resultados de la reducción de la eclosión a los 15 días



Cepas

Anexo.3 De las dosis utilizadas para la aplicación se obtuvieron los siguientes resultados.

Gráfico. 2



Anexo.4 Número de hojas por tratamiento

Gráfico.3

Anexo.5 Altura de las plantas por tratamiento

Gráfico.4



Anexo.6 Rendimiento en kg/ m²

Gráfico.5

· A mi tutora Kolima Peña por haber dedicado tanto tiempo y sacrificio en la realización de este trabajo

