



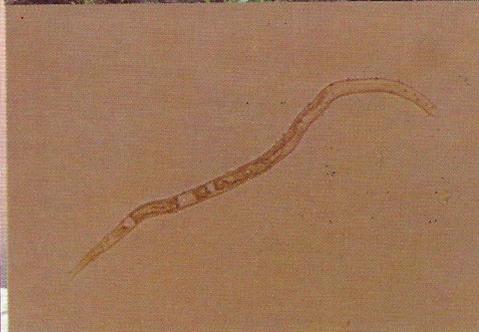
INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE
INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS



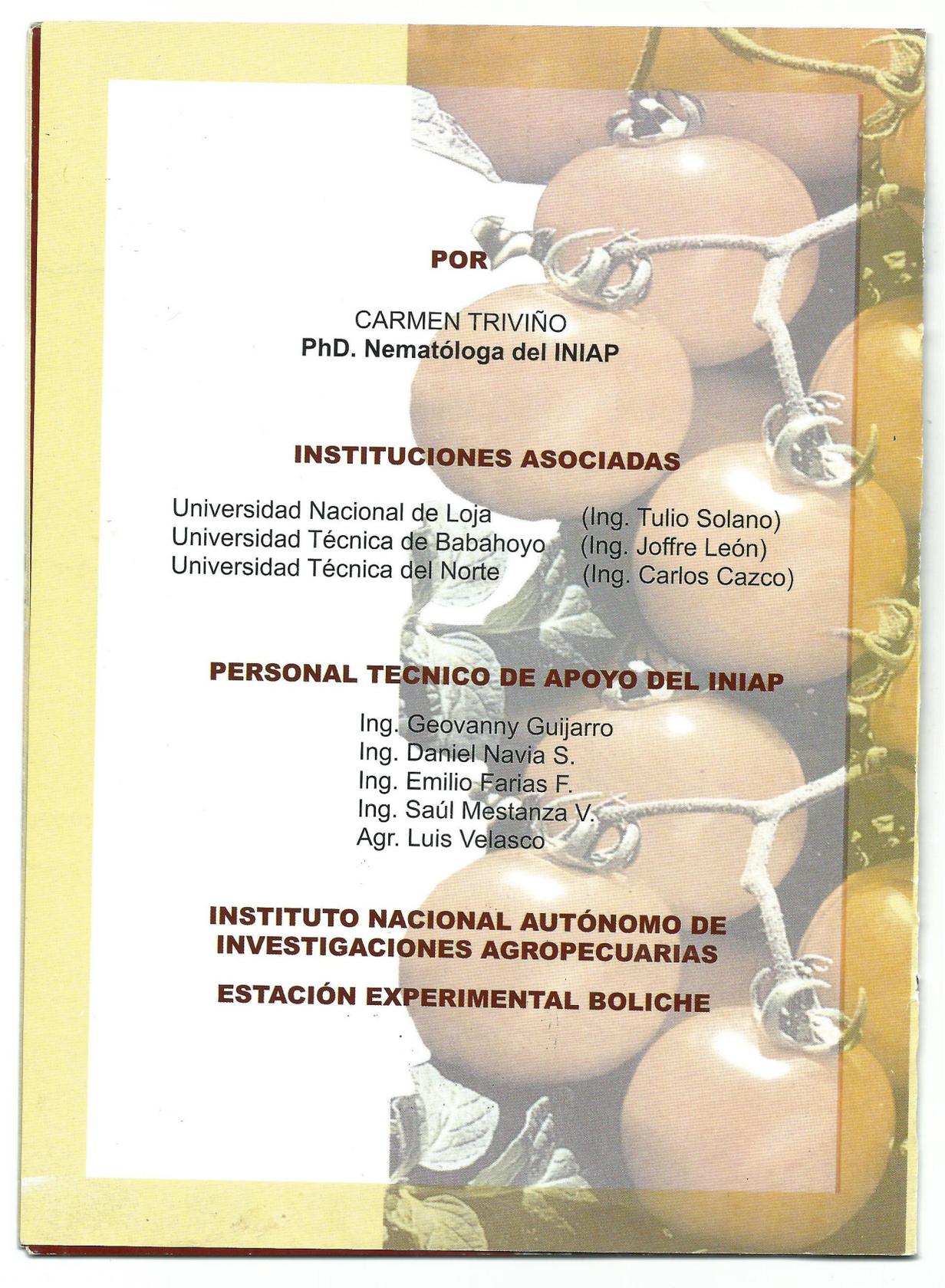
PROGRAMA DE MODERNIZACIÓN DE LOS
SERVICIOS AGROPECUARIOS

Boletín Técnico N° 109

TECNOLOGÍA BIOLÓGICA PARA EL MANEJO DEL NEMATODO AGALLADOR DE RAICES *MELOIDOGYNE SPP.* EN TOMATE



2004



POR

CARMEN TRIVIÑO
PhD. Nematóloga del INIAP

INSTITUCIONES ASOCIADAS

Universidad Nacional de Loja	(Ing. Tulio Solano)
Universidad Técnica de Babahoyo	(Ing. Joffre León)
Universidad Técnica del Norte	(Ing. Carlos Cazco)

PERSONAL TECNICO DE APOYO DEL INIAP

Ing. Geovanny Guijarro
Ing. Daniel Navia S.
Ing. Emilio Farias F.
Ing. Saúl Mestanza V.
Agr. Luis Velasco

**INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE
INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS**

ESTACIÓN EXPERIMENTAL BOLICHE

PRÓLOGO

El nematodo agallador de raíces, *Meloidogyne* spp., está distribuido en todo el país. Las densidades poblacionales más altas se encuentran en las áreas climáticas calidas incluyendo los valles de la sierra. Está presente en campos cultivados, bosques forestales naturales, jardines, viveros, invernaderos y semilleros. La especie *M. incognita* es la más abundante con el 80% de la incidencia poblacional nacional. Tiene más de 800 especies de plantas hospedantes incluyendo malezas y en Ecuador el cultivo de tomate es uno de los más infestados. La mayoría de híbridos y variedades que se siembran son susceptibles al nematodo agallador y a la vez dejan en el suelo alta cantidad de nematodos que van a infestar a otros cultivos.

El uso de alternativas biológicas es la opción más duradera y sin riesgo de causar deterioro al medio ambiente. La bacteria *Pasteuria penetrans* es un parásito obligado de *Meloidogyne* spp., ésta se multiplica solamente en presencia del nematodo agallador. En Ecuador entre los hospedantes más susceptibles identificados están *M. incognita*, *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. graminicola* y en menor grado *M. javanica*. *P. penetrans* no es nociva para el hombre y las plantas, tiene excelente respuesta cinérgica con los nematicidas, no le afecta ninguno de los otros agroquímicos y las esporas son resistentes al calor ambiental y a la desecación.

En este boletín se da a conocer una tecnología biológica eficaz con el uso de la bacteria *P. penetrans* para el control de *Meloidogyne* spp. generada para el beneficio de los productores de tomate y que también puede ser adaptada a otros cultivos hortícolas.

PhD. Carmen Triviño G.
Responsable del Proyecto



CONTENIDO

	Pág.
Prólogo	i
Contenido	ii
1. Antecedentes	1
2. Característica del nematodo agallador de las raíces de tomate	2
2.1. Sintomatología en el sistema radical	2
2.2. Escala para calificar daños en el sistema radical	3
2.3. Ciclo de vida de <i>Meloidogyne</i>	4
2.4. Diseminación	5
2.5. Poblaciones de <i>Meloidogyne</i> que causan daño económico	5
3. <i>Pasteuria penetrans</i>	6
3.1. Presencia de <i>P. penetrans</i> en plantaciones de tomate	8
4. Tecnología para el control de <i>Meloidogyne</i> spp. con <i>P. penetrans</i> en tomate	9
4.1. Obtención masiva de esporas de <i>P. penetrans</i>	9
4.2. Aplicación en semilleros	10
4.3. Aplicación en campo	10
4.4. Eficacia de la tecnología	10
5. Conclusiones	14
6. Literatura citada	15

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Raíz de tomate con agallas y campo infectado por <i>Meloidogyne</i> spp.	2
Figura 2. Escala de calificación de daño de <i>Meloidogyne</i> spp.	3
Figura 3. Segundo estadio juvenil, hembra madura y masa de huevos	4
Figura 4. Ciclo de vida de <i>P. penetrans</i>	6
Figura 5. Esporas de <i>P. penetrans</i> provenientes de una hembra de <i>Meloidogyne</i> infectada y esporas adheridas a la cutícula del segundo estadio juvenil	7
Figura 6. Camas para la multiplicación masiva de <i>P. penetrans</i>	
Figura 7. Efecto de la aplicación de <i>P. penetrans</i> en la densidad poblacional de <i>Meloidogyne</i> en raíces de tomate	9
Figura 8. Efecto de la aplicación de <i>P. penetrans</i> en la densidad poblacional de <i>Meloidogyne</i> en suelo cultivado con tomate	11
Figura 9. Porcentaje de <i>Meloidogyne</i> en suelos infestados con <i>P. penetrans</i>	12
Figura 10. Cantidad de esporas de <i>P. penetrans</i> en las raíces de tomate durante cuatro ciclos de cultivo	12
Figura 11. Peso de frutos de tomate en campo tratado con <i>P. penetrans</i>	13
	14

1. ANTECEDENTES

El tomate riñón (*Lycopersicon esculentum* L.) se cultiva en Ecuador en una superficie aproximada de 3054 ha. como cultivo solo y 279 has. asociado con otros cultivos (INEC, SICA y MAG, 2002). Entre las plagas de mayor importancia económica está el nematodo agallador de raíces *Meloidogyne* spp. Este género agrupa a varias especies de las cuales *M. incognita* es la más abundante en el país (80% de la densidad poblacional total), seguida de *M. javanica* y *M. hapla* (esta última solo en la sierra).

Las plantas de tomate cuando son infestadas por nematodos, se vuelven sensibles al ataque de otras plagas, como insectos, virus, bacterias y hongos patogénicos. Las agallas o nudosidades que se forman en las raíces por el ataque de *Meloidogyne* afectan la producción de tomate. Poblaciones altas del nematodo se encuentran en la región litoral, valles de la sierra, cultivos en invernaderos y en algunas fincas del Oriente Amazónico e Islas Santa Cruz y San Cristoval en Galápagos.

Para reducir las densidades poblacionales de *Meloidogyne* spp., algunos productores utilizan nematicidas, sin embargo, esta medida la aplican cuando observan los síntomas en las raíces, lo cual no es adecuado porque el daño es irreversible, por lo tóxico de los productos y además, estos agroquímicos tienen importancia económica especialmente en rubros de valor comercial.

Se ha comprobado que en el suelo existen microorganismos controladores del nematodo agallador y aunque la mayoría son hongos (Hidalgo *et al.*, 2001; Meyer y Daniel, 2002), tiene un enemigo específico que es la bacteria *Pasteuria penetrans* distribuida con mayor frecuencia en las plantaciones de tomate del litoral ecuatoriano. Investigaciones de eficacia de esta bacteria en el control de *Meloidogyne* han dado muy buenos resultados de control en pequeña y amplia superficie en campos de producción desde los 8 msnm (Babahoyo, El Azúcar en la Península Santa Elena, Estación Experimental Boliche), hasta los 1200 msnm (valles del Chota y Catamayo), donde se han realizado investigaciones (Triviño, 2004).

2. CARACTERÍSTICAS DEL NEMATODO AGALLADOR DE LAS RAÍCES DE TOMATE

Meloidogyne spp. es un endoparásito sedentario con dimorfismo sexual, se reproduce por partenogénesis, tiene alto potencial de reproducción e infinidad de vegetales que son hospederos. Es uno de los géneros con la mayor cantidad de especies, siendo *M. incognita* la más distribuida en Ecuador.

2.1. Sintomatología en el sistema radical

El nematodo al alimentarse de las raíces de las plantas de tomate, inyecta enzimas hidrolíticas como celulasa, amilasa, invertasa que afectan las células que forman parte del sistema radical, esto origina la formación de agallas o nudosidades como consecuencia de la hipertrofia e hiperplasia de los tejidos. Externamente las plantas presentan síntomas como enanismo, clorosis, marchitez, falta de vigor, caída de flores y bajos rendimientos (Figura 1).

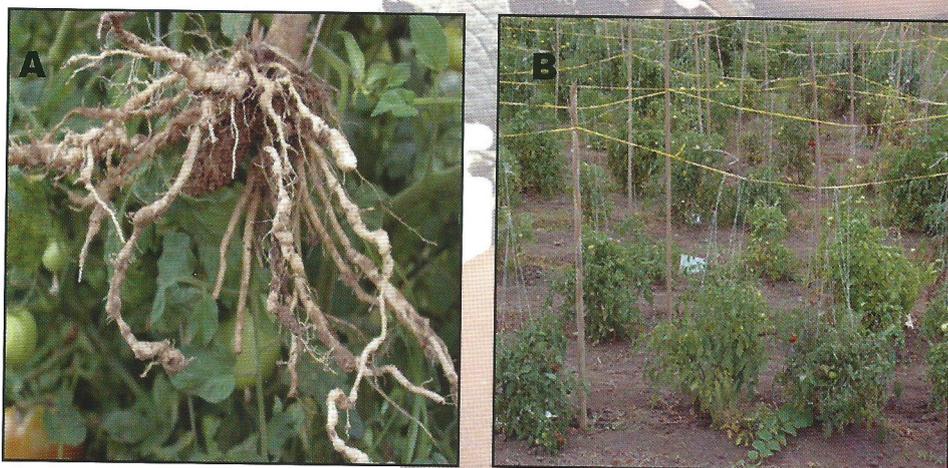


Figura 1. Raíz de tomate con agallas (A). Campo afectado con *Meloidogyne* spp.(B)

2.2. Escala para calificar daños en el sistema radical

Existen algunas escalas internacionales para evaluar el daño en el sistema radical de las plantas causado por *Meloidogyne* spp. Una de las más utilizadas para tomate es la de Bridge y Page (1980), calificada de 0 – 10. De acuerdo a evaluaciones realizadas con esta escala en la investigación de tomate en la Estación Experimental Boliche del INIAP, cuando las raíces están en los grados 1 al 5, las plantas aún tienen un desarrollo normal y el follaje no presenta síntomas cloróticos y cuando las agallas en las raíces están en los grados 6 a 10, se afecta progresivamente el desarrollo de la planta y se acentúan los síntomas de marchite y clorosis (Figura 2).

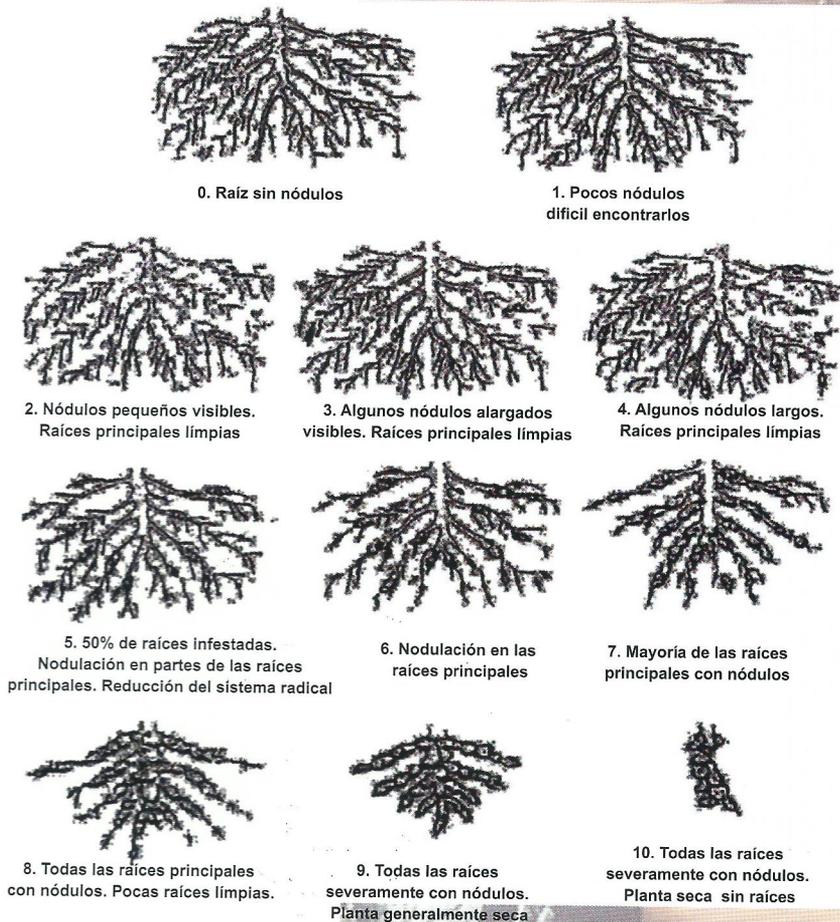


Figura 2. Escala de calificación de daño de *Meloidogyne* spp. por Bridge y Page, 1980.

2.3. Ciclo de vida de *Meloidogyne*

El ciclo de vida de *M. incognita* en tomate es de 20 – 30 días en la región litoral y de 45 – 55 días en la sierra a excepción del valle del Chota y Catamayo, con ciclos de vida similar al de la región litoral. El segundo estadio juvenil que esta en el suelo ingresa a la raíz para alimentarse, después de 12 días cambia a estadio juvenil 3 y 4 antes de ser adulto. La hembra oviposita en una masa gelatinosa alrededor de 1200 huevos de los que van a salir nuevamente nematodos del segundo estadio juvenil (Figura 3).

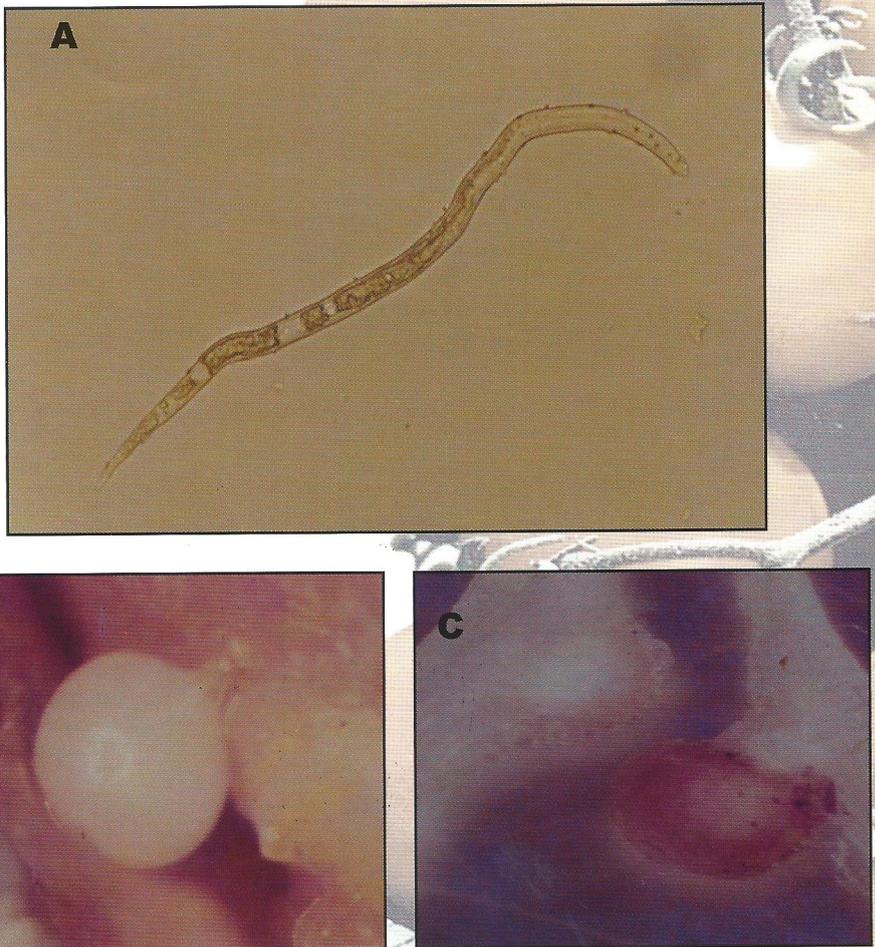


Figura 3. Segundo estadio juvenil, J2 (A), hembra madura (B), masa de huevos (C)

2.4. Diseminación

Meloidogyne spp. se disemina en los campos de tomate debido a:

- Trasplante de plántulas con nódulos o agallas provenientes de suelos infectados no tratados.
- Utilización inmediata de maquinaria agrícola después de preparar campos infestados.
- Utilización de herramientas como rastrillo, machete, palas que llevan adheridas partículas de suelo proveniente de campos infestados.
- Partículas de suelo infestado que son arrastradas por el agua de riego y el viento.

2.5. Poblaciones de *Meloidogyne* que causan daño económico

Cualquier población de *Meloidogyne* causa daño en la raíces de tomate, sin embargo, se ha determinado que los niveles iniciales que reducen la producción son los siguientes.

Especies de nematodo	Nematodo J2/ 100 cm ³ de suelo
<i>M. incognita</i>	> 200
<i>M. javanica</i>	> 300
<i>M. hapla</i>	> 150

3. PASTEURIA PENETRANS

P. penetrans es un enemigo específico de *Meloidogyne* spp., se reproduce por esporas y su ciclo de vida en *M. incognita* atacando al tomate es de 21 – 27 días bajo las condiciones ambientales de la E. E. Boliche del INIAP (24 – 30°C). Las esporas de *P. penetrans* se las encuentra en cualquier tipo de suelo infestado con el nematodo. El segundo estadio juvenil (J2) infectado con esporas ingresan a las raíces, estas emiten un tubo germinativo y después de un proceso de ramificación y división celular se forman las endosporas que llenan el interior del cuerpo de la hembra y al destruirse las raíces estas nuevamente son liberadas al suelo (Figura 4 y 5).

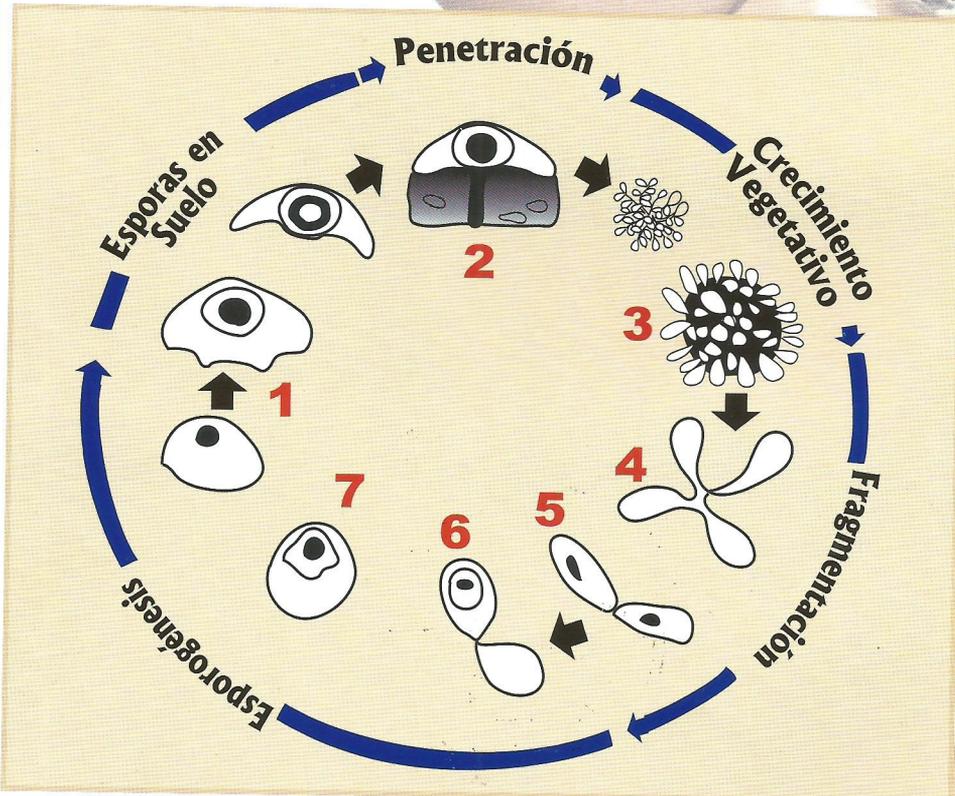


Figura 4. Ciclo de vida de *P. penetrans* (Por Sayre y Wergin) publicado en el libro *Biological Control of Plant Parasitic Nematodes* por G. R. Stirling, 1991

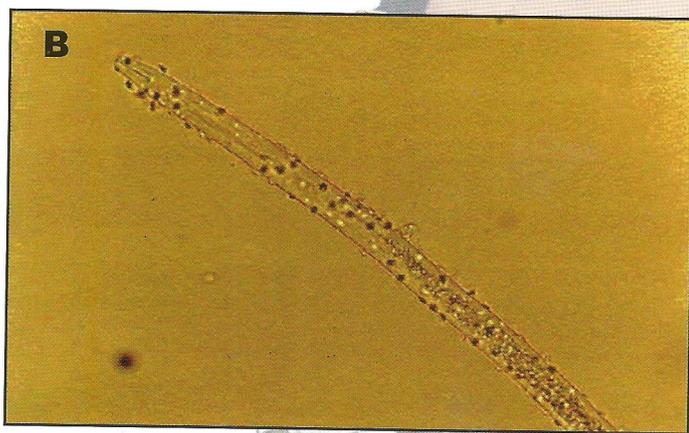
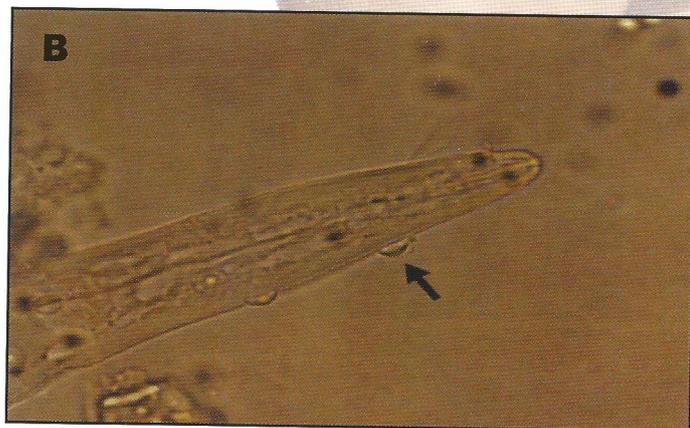
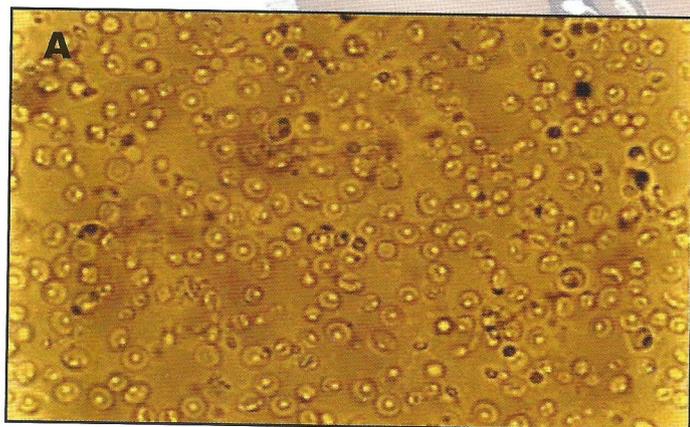


Figura 5. Esporas de *P. penetrans* provenientes de una hembra infectada (A), y esporas adheridas al cuerpo del segundo estadio juvenil de *Meloidogyne* (B).

3.1. Presencia de *Pasteuria penetrans* en plantaciones de tomate

En Ecuador, la presencia de *P. penetrans* es común en plantaciones de tomate y es en la región litoral donde se encuentra la mayor presencia de nematodos infectados, como se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Distribución de *P. penetrans* en plantaciones de tomate en las cuatro regiones de Ecuador.

Región	Provincias	Número de fincas		
		Muestreadas	Con <i>P. penetrans</i>	% J2 con esporas
Costa	Manabí	30	17	57
	Guayas	30	16	53
	Esmeraldas	10	6	80
	Los Ríos	15	4	27
	El Oro	19	11	58
	Total	104	54	Medida 55
Sierra	Bolívar	1	0	0
	Loja	22	0	0
	Chimborazo*	4	3	75
	Imbabura	5	0	0
	Pichincha**	11	3	25
	Tungurahua	12	0	0
	Cotopaxi	2	0	0
	Azuay	13	0	0
Total	70	6	Medida 13	
Oriente	Napo	12	1	8
	Sucumbíos	1	0	0
	Pastaza	4	0	0
	M. Santiago	3	3	100
Total	20	4	Medida 27	
Insular	San Cristóbal	13	3	23

* Pallatanga, ** Santo Domingo de los Colorados

4. TECNOLOGÍA PARA EL CONTROL DE *MELOIDOGYNE* SPP. CON *PASTEURIA PENETRANS* EN TOMATE

4.1. Obtención masiva de esporas de *P. penetrans*

Para la obtención masiva de esporas de *P. penetrans*, se recurre al muestreo de raíces agalladas (especialmente de tomate) de las que se extraen hembras de *Meloidogyne* infectada con la bacteria, éstas esporas se colocan en un recipiente pequeño junto con los nematodos del segundo estadio juvenil (J2) y cuando presentan de dos a cinco esporas adheridas a la cutícula (4 – 5 horas) se inoculan en plantas susceptibles (por ejemplo tomate). Las plantas inoculadas después de ocho semanas se cosechan, las raíces se lavan, secan al sol y se muelen en un molino eléctrico para obtener un polvo fino con las esporas. Para la multiplicación de las esporas de *P. penetrans* se construye camas que se llenan con suelo soleado y tratado con fungicida a fin de eliminar patógenos, en este suelo se trasplanta tomate en alta densidad, se inoculan con una población baja de *Meloidogyne* spp. infectada con la bacteria (figura 6).

Dos meses después se extraen las plantas y sobre este suelo infestado con el nematodo, se incorporan las esporas y se deja de cinco a siete días antes de sembrar para asegurar la adhesión de las esporas en la cutícula del nematodo. Después de la siembra o trasplante (tomate) se espera ocho semanas para extraer las plantas, se lavan las raíces, se secan al sol y se muelen, estas contienen millones de esporas y están listas para ser aplicadas en semilleros o en campos de producción donde después de una aplicación la multiplicación de las esporas puede ser manejada con varios ciclos de tomate.

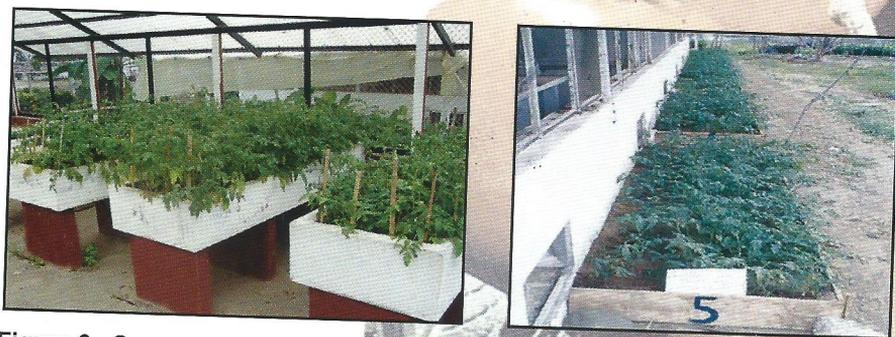


Figura 6. Camas para la multiplicación masiva de *P. penetrans* en tomate.
E.E. Boliche, INIAP. 2003

4.2. Aplicación en semilleros

El suelo que se utiliza para los semilleros debe ser expuesto al sol durante 5 a 8 días para eliminar los patógenos, posteriormente se humedece y se aplican las esporas mezclándolas lo más homogéneo posible. La dosis mínima a utilizar es de 2000 esporas / gramo de suelo.

4.3. Aplicación en campo

Para la aplicación de las esporas de *P. penetrans* en el campo, estas se mezclan con suelo, arena, materia orgánica u otros sustratos con un mínimo porcentaje de humedad para evitar que se dispersen con el viento. La dosis adecuada va desde 80 millones de esporas /m², se aplican en suelo húmedo cinco a siete días antes de la siembra o trasplante para asegurar la adhesión de las esporas en la cutícula del nematodo.

En el sitio definitivo se pueden aplicar incorporándolas en la platabanda de siembra, alrededor de la planta o al hoyo de trasplante. Después de la aplicación se debe tener la precaución de no regar el campo hasta aproximadamente ocho días para evitar que estas se pierdan por filtración. Para que la reducción de la población del nematodo sea más rápida, es recomendable realizar una aplicación de las esporas en semillero y otra en el sitio definitivo. Al final de cada ciclo de cultivo, las raíces deben ser incorporadas para acelerar la liberación de las esporas al suelo e infectar a una mayor población del nematodo.

4.4. Eficacia de la tecnología

Según investigaciones realizadas en la Estación Experimental Boliche del INIAP y en otras localidades donde se repitieron estos trabajos, después de la primera aplicación de *P. penetrans* en el campo y con siembra sucesiva de tomate, los mejores resultados en la reducción de las poblaciones de *Meloidogyne* spp. en raíces se obtienen al final del tercer a cuarto ciclo de este cultivo (Figura 7, C3 y C4), siendo esta del 67% al comparar con el primer ciclo de cultivo (C1).

Cualquiera de las metodologías de aplicación de esporas de *P. penetrans* utilizadas en tomate han sido eficaces, determinándose una significativa diferencia en el control del nematodo en el tercer y cuarto ciclo (C3 y C4) comparadas con el testigo no aplicado.

En el ciclo dos (C2) las raíces de algunas plantas estuvieron afectadas por la presencia de la bacteria *Pseudomonas solanacearum* y por esta razón se observa reducción de la población de *Meloidogyne* spp.

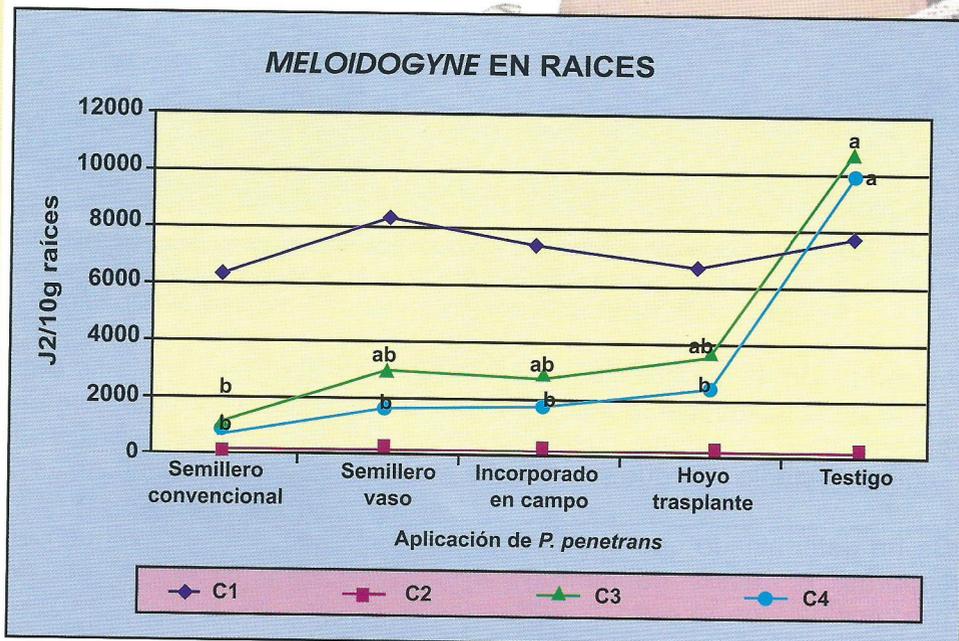


Figura 7. Efecto de la aplicación de *P. penetrans* en la densidad poblacional de *Meloidogyne* en raíces de tomate. E.E. Boliche, INIAP. 2003

En los mismos ciclos de tomate antes mencionados, la más notable reducción de las densidades poblacionales de *Meloidogyne* en suelo también se presentan en el tercer y cuarto ciclo (C3, C4) en parcelas tratadas con *P. penetrans* y aplicadas con las metodologías ya mencionadas. En las parcelas sin tratamiento con la bacteria las poblaciones se incrementan a medida que pasan los ciclos de cultivo (Figura 8).

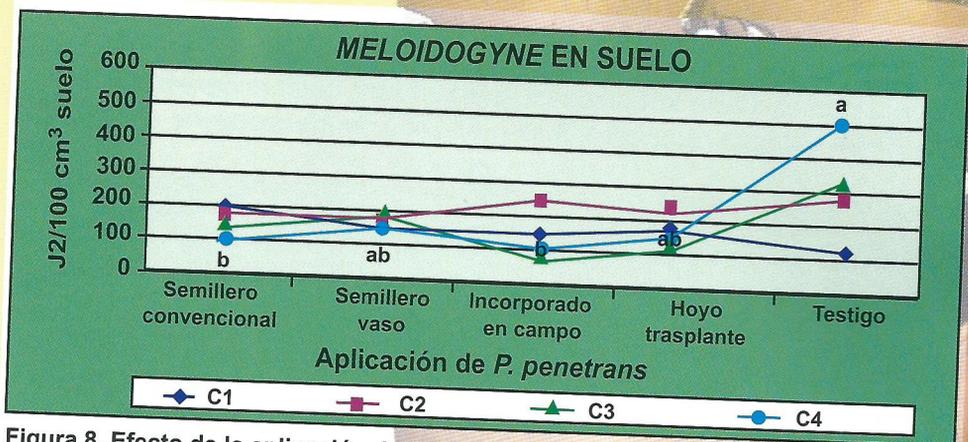


Figura 8. Efecto de la aplicación de *P. penetrans* en la densidad poblacional de *Meloidogyne* en suelo cultivado con tomate. E.E. Boliche, INIAP. 2003

La reducción de la población de *Meloidogyne* en raíces y suelo se debe a que al descomponerse las raíces al final de cada ciclo de tomate, las esporas de *P. penetrans* quedan liberadas infectando a los juveniles del segundo estadio (J2) que son los que están en el suelo.

Se ha determinado que el porcentaje de nematodos infectados con las esporas, en estos trabajos de investigación aumenta en relación proporcional con el paso de los ciclos de cultivo. En los dos primeros ciclos (C1, C2) el porcentaje de nematodos infectados en el suelo con *P. penetrans* fluctúa de 10 a 20 %, mientras que en el tercer y cuarto ciclo (C3, C4) fluctúa desde 60 a 85 % (Figura 9).

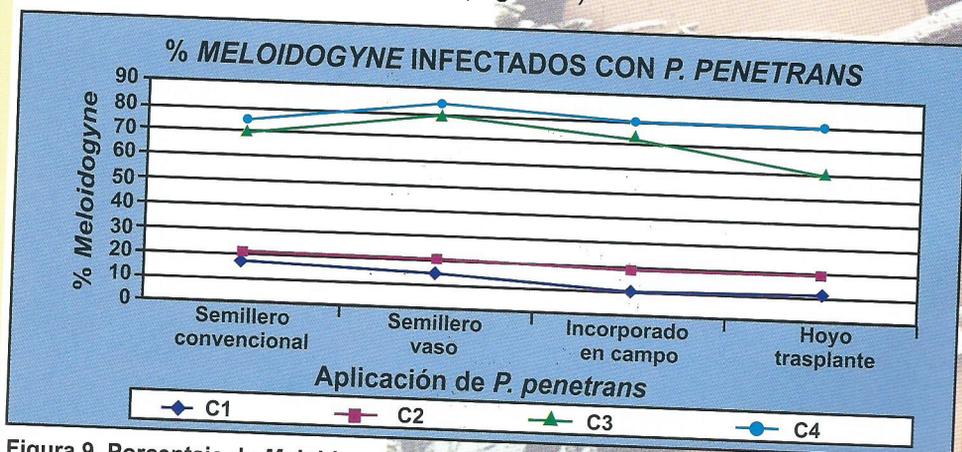


Figura 9. Porcentaje de *Meloidogyne* infectados en suelos infectados con *P. penetrans*. E.E. Boliche, INIAP. 2003

Estos valores son un indicativo de la reducción gradual de las poblaciones del nematodo. Los especímenes infectados, al llegar al estado de hembra tienen el interior del cuerpo lleno de esporas, por lo que no se forma el sistema reproductor. Al final de cada ciclo de cultivo, la cantidad de esporas que se pueden obtener de las raíces tiene relación con el porcentaje de nematodos infectados en el ciclo anterior. Sin embargo, se ha determinado que después de la aplicación de la bacteria en el suelo, al final del cuarto ciclo de tomate se obtienen cantidades altas de esporas en las raíces que pueden fluctuar de 26 a 45 millones de esporas en 100 mg de raíces secas pulverizadas (Figura 10).

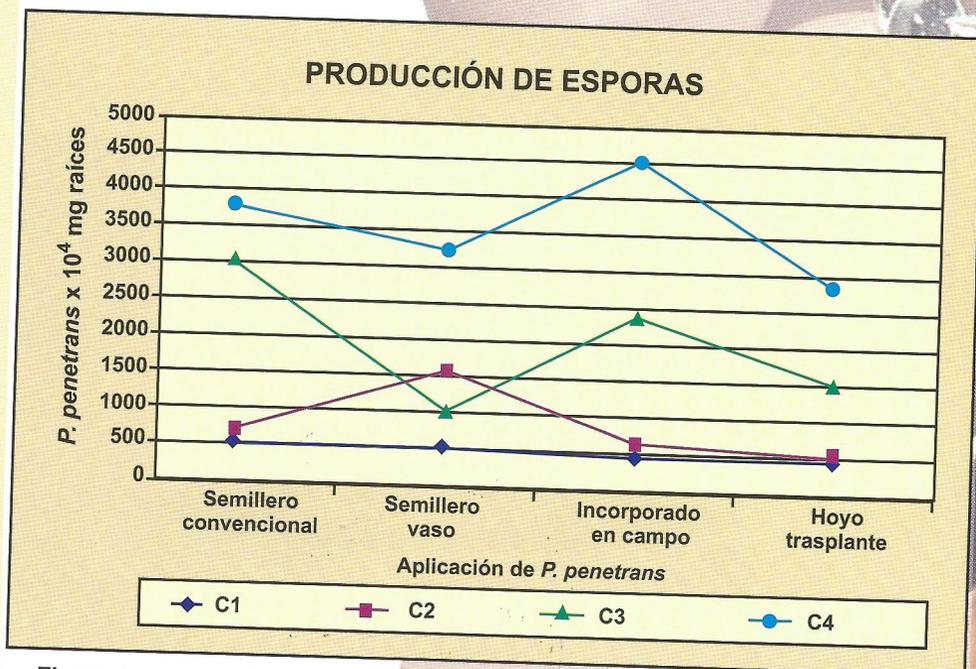


Figura 10. Cantidad de esporas de *P. penetrans* obtenidas en las raíces de tomate durante cuatro ciclos de cultivo. E.E. Boliche, INIAP. 2003

Con la aplicación de esporas de *P. penetrans* se reduce la densidad poblacional de *Meloidogyne* spp., lo que influye significativamente en la producción de tomate entre los ciclos de cultivo (Figura 11).

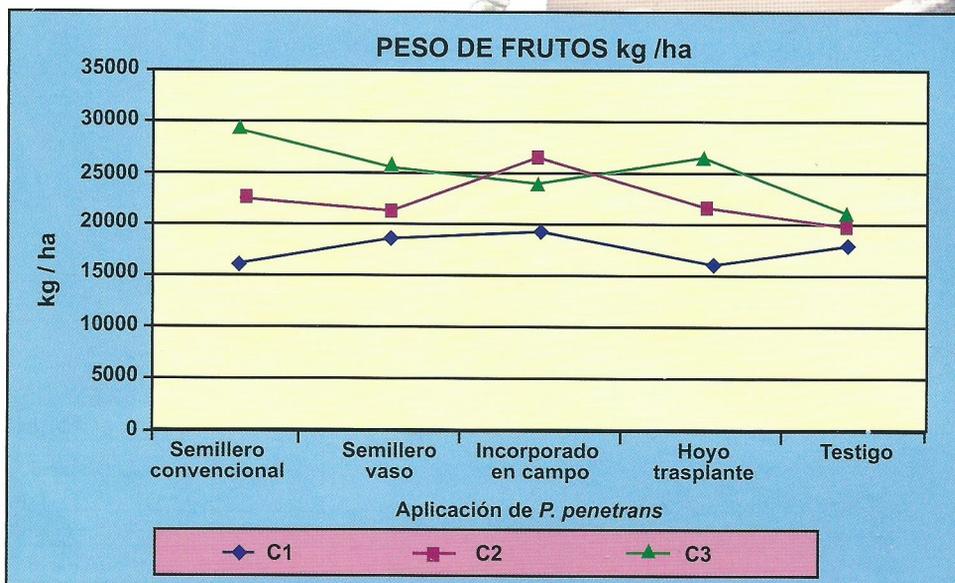


Figura 11. Peso de frutos de tomate en campo tratado con *P. penetrans*. E.E. Boliche, INIAP. 2003.

5. CONCLUSIONES

- El tomate es un excelente cultivo para manejar la producción de *P. penetrans*.
- Cualquier metodología de aplicación de esporas de *P. penetrans* en campos de producción extensiva de tomate es eficaz para el control de *Meloidogyne*.
- Desde el tercer a cuarto ciclo continuo de siembra de tomate se obtiene un incremento en el número de nematodos infectados, alta concentración de esporas, significativa reducción de las poblaciones del nematodo y mejor producción de frutos.

6. LITERATURA CITADA

- HIDALGO, L., BOURME, J. M., RODRIGUEZ, M. G., SANCHEZ, I., HERNÁNDEZ, M. A., ATKINS, S. A., CLARK, I. AND KERRY, B. R. 2001. The development of *Verticillium chlamidosporium* as a biological control agent of root-knot nematodes in organic vegetable production. En Memorias del IV Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal, XXXIII Reunión Anual de la Organización de Nematólogos de los Trópicos Americanos (ONTA). Cuba. p. 12.
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSOS (INEC), SERVICIO DE INFORMACIÓN DEL CENSO AGROPECUARIO (SICA) Y MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA (MAG). 2002. III Censo Nacional Agropecuario. Resultados Nacionales y Provinciales. Quito, Ec. 256 pp.
- TRIVIÑO, G. C. 2004. Control biológico de *Meloidogyne* spp. con la bacteria *Pasteuria penetrans* en campos de producción. Boletín N° 98. Estación Experimental Boliche, Guayaquil, Ecuador. 47 pp.
- MEYER, S. L., AND DANIEL, R. 2002. Combination of biocontrol agent for management of plant parasitic nematodes and soil borne plant – pathogenic fungi. *Journal of Nematology* 34 (1): 1- 8.
- BRIDGE, J. AND PAGE, L. 1980. Estimation of root-knot nematodes infected levels on roots using rating chart. *Tropical Pest Management*, 26(3): 296 – 298.
- STIRLING, G. R. 1991. Biological Control of Plant Parasitic Nematodes, Progress, Problems and Prospect. CAB International, UK., Redwood Press Ltd. Melksham. 275 pp.

INSTITUCION RESPONSABLE



**INSTITUTO NACIONAL AUTONOMO DE
INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS**

ESTACIÓN EXPERIMENTAL BOLICHE
Departamento Nacional de Protección Vegetal
Sección Nematología
Km. 26 vía Durán - Tambo -
Telf.: 593 (04) 2717160 - 2717161
Fax: 593 (04) 2717119
Guayas - Ecuador

PROYECTO IG-CV-040
FINANCIADO POR PROMSA



**PROGRAMA DE MODERNIZACION DE LOS
SERVICIOS AGROPECUARIOS**

Derechos reservados © 2004
INIAP - PROMSA

IMPRESA GENESIS: TELF.: 04-2303458 CEL.: 097954310

