



Manejo de *Meloidogyne* sp. en los cultivos de pimiento bajo invernadero del suroeste español

Meloidogyne incognita es un patógeno de suelo que ha visto incrementada su incidencia en los cultivos de pimiento del sureste español en los últimos años, llegando en algunos invernaderos a ser el principal problema de difícil control pese a la desinfección de suelo. Las deficiencias en la desinfección del suelo y la selección de poblaciones virulentas al reiterar el cultivo de plantas portadoras de alguno de los genes de resistencia al nematodo motivan el establecimiento de estrategias de control para su manejo. La combinación de la biosolarización y el uso de resistencia, las rotaciones de cultivo y el uso de productos durante el cultivo mantiene las poblaciones del nematodo por debajo del umbral económico de daños. La biosolarización con subproductos de la industria y el uso de plantas resistentes podrían adaptarse al ciclo de cultivo de pimiento del Campo de Cartagena, solventando el problema de la necesidad de gran cantidad de materia orgánica en una fecha concreta y el adelantamiento del final del cultivo.

**Caridad Ros Ibáñez,
Victoriano Martínez
Alarcón,
Carmen Lacasa
Martínez,
Adriana Esteban
López,
Mª Angeles
Hernández Colucho,**
Equipo de Protección de
Cultivos del IMIDA

**Alfredo Lacasa
Plasencia**
Ex-investigador
del IMIDA

Meloidogyne incognita es considerado uno de los principales problemas fitopatológicos de suelo del cultivo protegido de pimiento (*Capsicum annuum L.*) en el sureste de España, donde unas 1.500 ha han estado ocupadas durante más de 25 años por un sistema de monocultivo de pimiento (Ros y col., 2018). Los primeros problemas de este patógeno aparecieron en la década de los 70, el uso generalizado de bromuro de metilo como principal método de desinfección de suelo hizo que este patógeno pasara inadvertido durante décadas. Fue a raíz de la prohibición de este fumigante cuando resurgieron los primeros problemas de este patógeno siendo a partir de 2009 un problema emergente en algunos invernaderos pasando a ser en 2012 el problema principal en alguno de ellos con dificultad para paliar los daños, pese a la desinfección anual.

Biología y daños en la planta

Meloidogyne sp. tiene reproducción partenogenética, es decir, no necesita la presencia del macho para que la hembra produzca huevos. El ciclo de vida consta de huevo y 4 estadios juveniles y estado adulto (macho o hembra). Parte del ciclo sucede dentro de la raíz y parte en el suelo. El único estadio infectivo es el juvenil J2 que es el más susceptible de control cuando está en el suelo (Figura 1). La duración del ciclo está estrechamente ligada a la temperatura del suelo: a 27°C, dura 23 días (Dávila y col., 2013).

Las agallas en las raíces son los síntomas que muestran las plantas afectadas ligadas a una reducción del crecimiento. La parte aérea muestra decaimiento de hojas en las horas de mayor incidencia solar y amarilleos en la parte apical. Las plantas infectadas se localizan en rodales o a lo largo de una línea de siembra debido a la distribución heterogénea del nematodo en el suelo.

La severidad de la enfermedad producida por *Meloidogyne* spp. es medida con el índice de agallas de acuerdo con una escala de 0 a 10 donde 0 es ausencia de agallas y 10 sistema radicular completamente destruido (Bridge y Page, 1980).

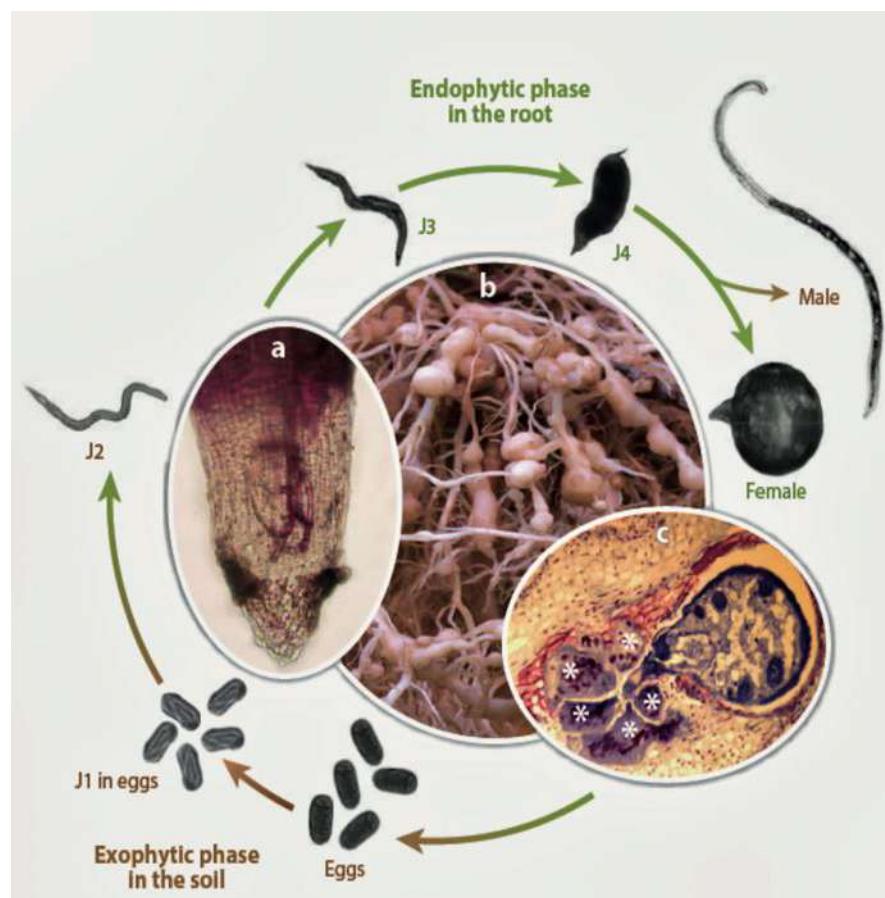


Figura 1. Ciclo de vida de *Meloidogyne* sp. (a) Sección longitudinal de la punta de una raíz que muestra juveniles de segunda etapa (J2s) (teñidos con Fuchina ácida) que giran en el meristemo de la raíz para migrar (a) el cilindro vascular. (b) Síntomas típicos (agallas) en las raíces del tomate. (c) Sección longitudinal de una raíz infestada que muestra una hembra madura y cinco células gigantes (*) que constituyen el sitio de alimentación del nematodo. (Castagnone-Sereno y col., 2013).

Tabla 1. Índice medio de agallas en las raíces (según escala de Bridge y Page, 1980) y porcentaje de plantas afectadas por *M. incognita* y producción comercial (kg/m²) de la reiteración de biosolarización en el mismo suelo.

Tratamientos	Índice de agallas	% plantas	Producción comercial (Kg/m ²)
BM 98:2 30g/m ² VIF	1,3 a	52,2b	8,2 b
BS (EFO + G) 1º año	6,4 c	100,0c	9,0 ab
BS (EFO + G) 2º año	4,3 b	87,5 c	10,6 a
BS (EFO + G) 3º año	1,4 a	33,3 a	9,3 ab
BS (EFO + G) 4º año	1,0 a	54,2 b	9,2 ab
No desinfectado	7,8 c	100,0	6,9 c

BM: bromuro de metilo, BS: biosolarización, EFO: estiércol fresco de oveja, G: gallinaza, VIF: plástico virtualmente impermeable. Las cifras con la misma letra en una columna no son diferentes ANOVA Test LSD (P<0,05).

Medidas de control

Desinfección de suelo en preparación

El objetivo general de la desinfección del suelo previa a la plantación es la de reducir las poblaciones de nemátodos antes de implantar el cultivo. El uso de productos fitosanitarios está sufriendo severas restricciones en los últimos años. Sin embargo,

son varios los métodos, respetuosos con el medio ambiente, susceptibles de ser empleados para la desinfección de suelo: el calentamiento del suelo húmedo por radiación solar al cubrirlo con un plástico de polietileno, llamado solarización; la biofumigación, definida como "la acción de sustancias volátiles producidas en la biodegradación de la materia orgánica en el control de los patógenos de las plantas" por Tello y Bello (2002);

Enfermedades y medios de control compatibles con enemigos naturales

y la biosolarización, que es la combinación de estos dos métodos por la cual se obtiene el calentamiento del suelo y el efecto de los gases de la descomposición de la materia orgánica, con procesos de anaerobiosis y de supresividad, etc.

Esta técnica se ha ensayado usando una amplia variedad de materias orgánicas, ya que cualquier resto orgánico puede actuar como biofumigante, dependiendo la eficacia de sus características, dosis y método de aplicación. Se han estudiado los efectos de estiércol de ganado (cabra, oveja, vaca y gallinaza), subproductos de la industria, vinaza de vino o remolacha, bagazo de cerveza, torta de colza, así como residuos procedentes de plantas que presentan compuestos con efectos alelopáticos, como los pellets de brassicas.

La biosolarización realizada en agosto muestra deficiencias de control, con resultados aleatorios de un año a otro según la radiación y la temperatura alcanzada durante el proceso (Guerrero y col., 2005) (Tabla 1). Iniciar la biosolarización con enmiendas a veces más compatibles con el ciclo del cultivo resulta ser menos efectivos, ya que la concentración de gases también depende de la temperatura (Lacasa y col., 2010) (Tabla 2). Se requiere, para matar el 100% de los huevos de *M. incognita*, una exposición continua a 38°C durante 390h, y 40°C durante 33 h y 46 h para matar J2 y huevos, respectivamente, disminuyendo a 13 h y 14 h a 42°C (Wang y McSorley, 2008).

Resistencias genéticas

Hay varios genes de resistencia frente a *Meloidogyne* sp. que han sido identificados y caracterizados en pimiento. Entre estos, los genes *Me1*, *Me3* y *N* son los más utilizados y estudiados porque muestran un amplio espectro de acción frente a *M. incognita*, *M. arenaria* y *M. javanica*. La resistencia conferida por los genes *Me3* y *N* es remontada a partir del segundo año de reiteración, aunque se han visto diferencias de prestaciones en distintos portainjertos, mientras que el gen *Me1* es más estable (Tabla 3). Se han encontrado algunas líneas de pimiento que muestran resistencia parcial frente al patógeno y que mejoran el nivel



Foto 1. Aplicación de vinaza de remolacha para biosolarización.

Rotación de cultivo de genes *Me3* and *Me1*

Diseño experimental

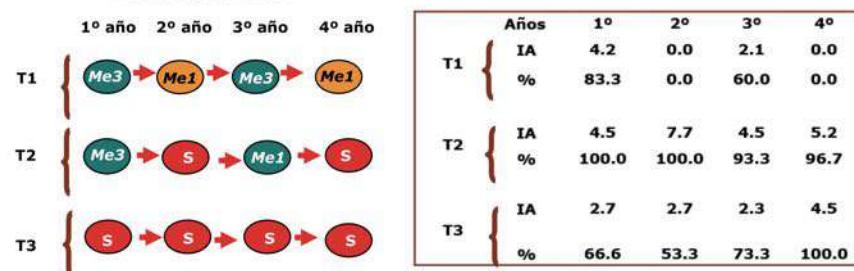


Figura 2. Estrategias de manejo de uso de genes de resistencias establecidas en invernaderos con poblaciones del nematodo virulenta al gen *Me3*. IA: índice de agallas. %: porcentaje de plantas afectadas.

Tabla 2. Índice medio de agallas en las raíces, porcentaje de plantas afectadas por *M. incognita* y producción comercial (kg/m²) de biosolarización (BS) con vinaza de remolacha (R) sola y estiércol fresco de oveja (EFO) más vinaza de remolacha en dos fechas comparando con parcelas desinfectadas con bromuro de metilo (BM).

Tratamientos	Índice de agallas	% plantas afectadas	Producción comercial (Kg/m ²)
BM 98:2 30g/m ² + VIF	2,3a	60,0a	10,3a
BS Vinaza R (agosto)	3,6b	93,3b	10,2a
BS EFO + Vinaza R (agosto)	2,8ab	66,7a	10,1ab
BS Vinaza R (octubre)	7,1c	100,0b	9,2b
BS EFO + Vinaza R (octubre)	7,7c	100,0b	9,5ab
No desinfectado	6,4c	100,0b	7,1c

VIF: plástico virtualmente impermeable. Las cifras con la misma letra en una columna no son diferentes ANOVA Test LSD (P<0,05).

Tabla 3. Índice medio de agallas (IA) en las raíces y porcentaje de plantas afectadas por *M. incognita* de la reiteración del cultivo de plantas injertadas sobre distintos porta-injertos comparados con plantas sin injertar sobre suelo desinfectado con bromuro de metilo (BM) y suelo sin desinfectar (testigo).

Tratamientos	Cuarto año		Quinto año		Sexto año	
	IA	% plantas afectadas	IA	% plantas afectadas	IA	% plantas afectadas
BM 98:2 30g/m ² + VIF	1,9b	46,7b	2,4a	60,0abc	1,5ab	33,3ab
Inseto Atlante (Me3)	4,2c	83,3c	5,1b	93,3bc	4,5c	93,3c
Inseto C19 (Me3)	2,4bc	76,7bc	1,5a	60,0ab	1,7b	60,0b
Inseto RT12 (Me1)	0,0a	0,0a	0,7a	26,7a	0,0a	0,0a
Testigo	8,4d	100,0c	6,4b	100,0c	6,7d	100,0c

VIF: plástico virtualmente impermeable. Las cifras con la misma letra en una columna no son diferentes ANOVA Test LSD (P<0,05).

de resistencia conferida por los genes *Me1* y *Me3* cuando se introgradan en ellas. (Sánchez-Solana y col., 2017). No hay mucha documentación sobre el efecto directo que ejerce la resistencia cuantitativa frente a los nematodos o sobre la durabilidad y la base genética de tal resistencia.

Durante más de 20 años, las prestaciones de la resistencia en cuanto a su eficacia y estabilidad en el tiempo han sido estudiadas en porta-injertos de pimiento; el coste del injerto ha motivado que las empresas de semillas trabajen en mejora vegetal para obtener variedades portadoras de resistencia. Actualmente hay en el mercado variedades comerciales, algunas de ellas fueron evaluadas sobre suelo biosolarizado en octubre mostrando un buen comportamiento frente al patógeno (datos no publicados).

Para evitar la selección de poblaciones de nematodos capaces de infestar plantas injertadas portadoras del gen *Me3* al mismo nivel que plantas susceptibles, se requiere establecer un manejo integrado de la resistencia; por ejemplo, la alternancia de genes, el co-cultivo de plantas con diferentes genes, la piramidalización de dos genes en un mismo material vegetal que reducen la incidencia del nematodo en el cultivo posterior de plantas portadoras de gen *Me3* (Figura 2) o la combinación de resistencia con la biosolarización.

Aplicaciones durante el cultivo

El objetivo de este método de control es limitar el crecimiento de las poblaciones después de plantar. Se dispone de productos a base de organismos antagonistas de los nematodos como hongos (*Paeclomices*, *Arthrobotrys*, *Hirsutella*, etc.) y bacterias (*Pasteuria*, etc.) o bien productos a base de microorganismos estimuladores del sistema de defensa de las plantas con bacterias como *Bacillus*, *Pseudomonas* y hongos como *Trichoderma*, micorrizas etc. y productos compuestos por sustancias de origen natural de extractos de planta (extracto de tajetes, etc.).

Rotación de cultivo

Se emplean cultivos que no sean susceptibles al nematodo, compatibles

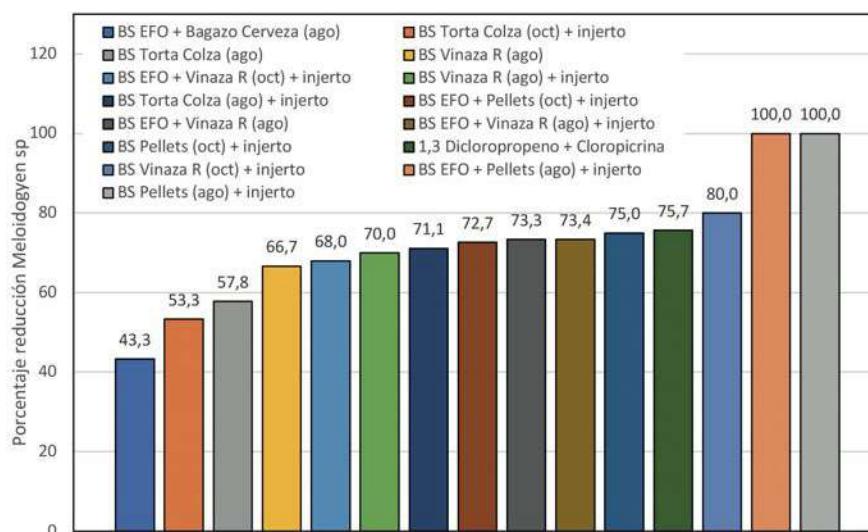


Figura 3. Promedio del porcentaje de reducción de la incidencia de *Meloidogyne* sp. de tres campañas en de tratamientos de biosolarización con distintas enmiendas orgánicas realizadas en dos fechas diferentes y combinada o no con plantas injertadas. Ensayos realizados en invernaderos diferentes.

Tabla 4. Índice de agallas en las raíces de las plantas de pimiento y porcentaje de plantas infestadas (%PI) en las evaluaciones mensuales después de la plantación del pimiento.

Tratamiento	BS brasicas		BS brasicas + bionematicida		Testigo	
	Fecha	Índice Agallas	% plantas afectadas	Índice Agallas	% plantas afectadas	Índice Agallas
13.01.14	0,9b	22,2a	0,2a	48,9a	1,0b	100,0a
03.03.14	1,07b	88,9	0,59a	55,5ns	-----	-----
30.04.14	1,6b	81,5	0,7a	51,9ns	-----	-----
27.05.14	2,02b	86,1	0,86a	66,7ns	-----	-----
17.07.14	3,47b	100,0	2,98a	100,0 ns	3,20ab	100,0

Las cifras con la misma letra en una columna no son diferentes ANOVA Test LSD (P<0,05).

Tabla 5. Capacidad multiplicadora de *Meloidogyne incognita* de diferentes brasicas

Brasicas	Índice de agallas	Masas de huevos	% plantas afectadas
Boss	1,6bc	5,1a	73,3ab
Carwoodii	0,5a	0,4a	40,00a
Eexta	2,0bc	6,5a	93,3b
Karakter	1,3ab	7,5a	66,7ab
Ludique	4,1d	84,7b	100,0b
Scala	3,5cd	98,1b	100,0b
Testigo	3,8d	79,4b	100,0b

Las cifras con la misma letra en una columna no son diferentes ANOVA Test LSD (P<0,05).

con el ciclo de cultivo de pimiento y viable económico. Los cultivos de cobertura no hospedantes de brassicas para biofumigación o biosolarización reducen las poblaciones de *Meloidogyne* sp. en los invernaderos de pimiento (Ros y col., 2016)

y el cultivo de brócoli después de una biosolarización en agosto confiere un valor añadido a la rotación, compensando la pérdida de producción de pimiento, y no multiplicando al nematodo.

Estrategias integradas

Para paliar las deficiencias de la desinfección hay que evitar la desecación total del suelo antes de la desinfección y combinar diferentes técnicas de control que incidan conjuntamente sobre el patógeno. La combinación de la biosolarización con brassicas y extractos vegetales durante el cultivo disminuye la incidencia y severidad de la enfermedad en el cultivo de pimiento (Tabla 4); cultivos de brassicas con baja capacidad multiplicadora serviría como rotación y como enmienda para la biosolarización (Tabla 5). Por último, la combinación de la biosolarización con plantas resistentes, por un lado, evitaría la selección de poblaciones virulentas al gen *Me3*, y por otro, la adaptación al ciclo de cultivo del pimiento al poder retrasar la biosolarización a octubre con las adecuadas enmiendas (Tabla 6). La biosolarización con vinaza de remolacha presenta un gran potencial biodesinfectante y restaurador del suelo utilizado como abono orgánico, mejorando la fertilidad del mismo, realizada en octubre y combinada con resistencia presenta elevados niveles de reducción de incidencia de la enfermedad (Figura 3).



Foto 2. Uso de resistencias (planta injertada).

Tabla 6. Índice medio de agallas (IA) en las raíces y porcentaje de plantas afectadas por *M. incognita* de la repetición durante tres campañas consecutivas de biosolarización con torta de colza (TC) en dos fechas con y sin planta injertada comparando con parcelas sin desinfectar.

Tratamiento	1º año		2º año		3º año	
	IA	% plantas afectadas	IA	% plantas afectadas	IA	% plantas afectadas
Pellets TC (ago) + Injertada (<i>Me3</i>)	0,9ab	33,3ab	0,6a	40,0a	0,3a	13,3a
Pellets TC (ago) + No injertada	1,0ab	33,3ab	1,4b	66,7ab	0,5a	26,7ab
Pellets TC (oct) + Injertada (<i>Me3</i>)	0,7a	26,7a	1,3b	60,0ab	1,5b	53,3ab
Pellets TC (oct) + No injertada	2,0b	53,3ab	2,5c	93,3ab	1,7b	66,7bc
Testigo + Injertada (<i>Me3</i>)	1,1ab	46,7ab	2,4c	93,3ab	3,5c	100,0c
Testigo + No injertada	3,9b	100,0b	4,2d	100,0b	6,4d	100,0c

IA: Índice de agallas, ago: agosto, oct: octubre. Las cifras con la misma letra en una columna no son diferentes ANOVA Test LSD (P<0,05).

Bibliografía

- Bridge, J., Page, S.J., 1980. Estimation of root-knot nematodes infestation levels on roots using a rating chart. *Trop. Pest Manag.* 26, 296-298.
- Dávila-Negrón, M.; Dickson, DW. 2013. Comparative thermal-time requirements for development of *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, and *M. javanica*, at constant temperatures. *Nematropica* Vol 43 Nº2: 152-163
- Guerrero, MM.; Ros, C.; Guirao, P.; Martínez, MA.; Martínez, MC.; Barceló, N.; Bello, A.; Lacasa, A.; López, J.A., 2005. Biofumigation plus solarisation efficacy for soil disinfection in sweet pepper greenhouses in the southeast of Spain. X. *Acta Horticulturae* Nº 698: 293-297
- Lacasa, C.M., Guerrero, M.M., Ros, C., Núñez-Zofío, M., Larregla, S.; Martínez, V., Lacasa, A Fernández, P., Martínez M.A 2010. Efficacy of biosolarization with sugar beet vinasses for soil disinfestation in pepper greenhouses. *Acta Horticulturae* Nº 883: 345-352
- Ros C, Martínez V, Sánchez-Solana F, López-Marín J, Lacasa CM, Guerrero MM, Lacasa A, 2018. Combination of biosolarization and grafting to control *Meloidogyne incognita* in greenhouse pepper crops. *Crop Protection* 113: 33-39.
- Ros, C., Sánchez, F, Martínez, V., Lacasa, CM., Hernández, A., Torres, J., Guerrero, MM., Lacasa, A. 2016. El cultivo de brassicas para biosolarización reduce las poblaciones de *Meloidogyne incognita* en los invernaderos de pimiento del sudeste de España. *ITEA* Vol. 112 (2), 109-126 109
- Sánchez-Solana, F, Ros, C, Guerrero MM, Martínez V, Lacasa CM, Hernández, A, Palloix, A, Lacasa, A, 2017. Effectiveness of quantitative resistance conferred by the genetic background of pepper in the control of root-knot nematodes and influence onto durability of *Me1* and *Me3* resistant genes in field conditions. *Plant Pathology*. Vol 136 (5): 759-766
- Tello J.C., Bello A. 2002. Plastics in the disinfection of agriculture land. *Plasticulture* 121: 50-71.
- Wang, K.H., McSorley, R., 2008. Exposure time to lethal temperatures for *Meloidogyne incognita* suppression and its implication for soil solarization. *J. Nematol.* 46 (1), 7-12.