

Control biológico *In Vitro* de nematodos agalladores (*Meloidogyne sp.*) a base de quitosano y fluensulfone

Biological control of nematodes *In Vitro* root-knot nematode (*Meloidogyne sp.*) Based on chitosan and fluensulfone

García-Munguía A.M.¹, Contreras-Martínez R.N.², Ramos-Barreto C.A.³, Pérez-Sato M.², Gastélum-Ferro W.K.², Pérez-Cabrera L.E.¹, Ibáñez-Martínez A.², García-Munguía C.A.²✉

¹Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Av. Universidad #490, Cd. Universitaria, Aguascalientes Aguascalientes, C.P.20131., ²Ingeniería Agronómica y Zootecnia, Facultad de Ingeniería Agrohidráulica, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Av. Universidad S/N, San Juan Acateno, Teziutlán Puebla. C.P. 73965. ³ADAMA, Av. de los insurgentes Sur #800, Col Del Valle, Ciudad de México, C.P. 3100.

✉ Autor para correspondencia: cagamu@hotmail.com

Recibido: 22/01/2016

Aceptado: 18/06/2016

RESUMEN

El nematodo agallador (*Meloidogyne sp.*) tiene importancia económica potencial en diversos cultivos, en su combate casi siempre se han utilizado diferentes productos de agroquímicos, por lo que se necesita evaluar nuevos productos que sean una mejor alternativa en su manejo y en el cuidado al medio ambiente. En el presente trabajo se evaluó la eficacia biológica de diferentes extractos del quitosano un biopolímero natural con efecto nematicida y regulador de poblaciones de estos fitonematodos y Fluensulfone un nematicida de amplio espectro, el estudio se realizó *In vitro*, se colectaron muestras de suelo y se extrajeron los nematodos mediante el método de embudo de Baermann, se colocaron en cajas petri en diluciones con 30-35 nematodos por unidad experimental, en donde para su control se utilizó quitosano extraído de langostino de río y quitosano comercial a diferentes concentraciones (0. 25, 0.50, 0.75), así mismo un nematicida comercial con extracto de quitosano Nematrol Plus , esto comparado con otros nematicidas comerciales Ditera (*Myrothecium verrucaria*), Nemover (Extracto de pino) y Nimitz (Fluensulfone) .Se encontró que el efecto nematicida del quitosano en dosis media (0.50) fue mejor posterior a las 24 horas después de la aplicación con una mortalidad de 95.83 a 100 % de nematodos, y una eficacia del 100 %, esto comparado con los nematicidas comerciales.

Palabras clave: Nematodo, mortalidad, biopolímero, eficacia, quitosano.

ABSTRACT

The root-knot nematode (*Meloidogyne sp.*) has potential economic importance in several crops, in his battle almost always used different agrochemical products, so we need to evaluate new products that are a better alternative in handling and caring for the environment. In this paper the biological effectiveness of different extracts of natural biopolymer chitosan with nematicide and regulatory effect of populations of these plant parasitic nematodes was evaluated, and Fluensulfone a nematicide broad spectrum, The in vitro study was conducted, soil samples were collected and the nematodes were extracted by the method of Baermann funnel, were placed in petri dishes in dilutions with 30 to 35 nematodes per experimental unit, where for control was used chitosan extracted river shrimp and commercial chitosan at different concentrations (0.25, 0.50, 0.75), also a commercial nematicide extract chitosan Nematrol Plus, this compared with other commercial nematicides DiTera (*Myrothecium verrucaria*) Nemover (Extract pine) and Nimitz (Fluensulfone). It was found that the effect of chitosan nematicide medium dose (0.50) was better after 24 hours after application with a mortality of 100% 95.83 nematode, and an efficiency of 100%, which compared with the commercial nematicides.

Key words: Nematode, mortality, biopolymer, efficacy, chitosan.

INTRODUCCIÓN

Los nematodos son uno de los grupos de invertebrados más numerosos sobre la tierra, encontrándose entre ellos especies fitoparásitas de gran importancia en la agricultura debido a los problemas que causan. Una parte de los daños se generan debido a la secreción que los nematodos inyectan al alimentarse de la planta. Esta secreción afecta el tejido vegetal causando necrosis, destrucción de las paredes celulares o provocando la supresión de la división celular en el meristemo apical, impidiendo así el crecimiento de la raíz (Bridge y Williams, 2002).

En el grupo de los nematodos formadores de nódulos radiculares se presenta las especie del genero *Meloidogyne* que ataca aproximadamente unas 2000 plantas que incluyen casi todas las especies cultivadas (Agrios, 1996). Las elevadas poblaciones de este género de nematodos causan pérdidas significativas dentro del territorio nacional. Además, los nematodos predisponen a las plantas para la infección por otros organismos,

ya que al penetrar en las raíces causan cambios fisiológicos en los tejidos, lo que facilita la acción de los hongos, bacterias y virus que habitan el suelo (Bridge y Williams, 2002).

Se han utilizado diferentes métodos de combate de estos patógenos, siendo los nematicidas de origen químico los más efectivos, no obstante, estos productos son costosos, tienen un efecto detrimental en el ambiente y la salud humana (Dávila *et al.*, 1999); sin embargo, su uso es considerado como una alternativa para el control de nematodos fitoparásitos y aplicaciones bien dirigidas han permitido lograr incrementos significativos en el crecimiento y la producción de los cultivos (Araya y Cheves, 1997).

Una alternativa que se propuso evaluar en el presente trabajo es el uso de quitosano y Fluensulfone como reguladores de las poblaciones de nematodos agalladores. El quitosano derivado de la quitina, la cual después de la celulosa (Sandford, 1989), se encuentra formada por unidades de N-acetilglucosamina (2-acetamida, 2-desoxi,β-D-glucosa) enlazadas por uniones β(1-4), el

quitosano derivado desacetilado de la quitina, tiene numerosas aplicaciones en la industria de los alimentos (Benjakul *et al.*, 2000; Shahidi *et al.*, 2001). El nematicida fluensulfone tiene acciones nematicidas y carece de muchos de los inconvenientes de otros controles químicos, como lo demuestra su baja toxicidad para los organismos no objetivo (Oka *et al.*, 2009). Fluensulfone es eficaz contra un número de Nematodos incluyendo especies de *Meloidogyne* (Csinos *et al.*, 2010), que son responsables de una proporción de nematodos significativa de la pérdida de rendimiento de los cultivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Parasitología del Departamento de Fitotecnia del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, ubicada en el municipio de Jesús María, Aguascalientes. Se midió la mortalidad y el tiempo letal medio TL₅₀ de nematodos (*Meloidogyne sp.*), expuestos a diferentes concentraciones de quitosano y fluensulfone. El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con quince tratamientos y tres repeticiones, teniendo un total de 45 unidades experimentales. Cada

unidad experimental estuvo conformada por una caja Petri de 8 cm de diámetro, con 5 mililitros de solución con nematodos vivos juvenil 2 (30-35 nematodos por unidad experimental). Para la extracción de nematodos se usó el método de embudo de Baermann (Araus, 1998).

Las diluciones se realizaron de la siguiente forma: Para la dilución de los nematodos se utilizó una pipeta graduada de 5 ml con la cual se extrajo la muestra de nematodos recogidos del embudo, depositando en una caja Petri de 8 cm de diámetro una muestra de 5 ml de nematodos. Repitiendo el mismo procedimiento para cada unidad experimental.

Para la dilución de cada Producto nematicida, en un vaso de precipitados se depositaron 3 mL de agua destilada, agregando a este la dosis de cada producto a evaluar en cada tratamiento haciendo de esta una mezcla, posterior a esto con la ayuda de una pipeta graduada de 5 ml se extrajeron los 3 ml de mezcla, depositando 1 ml en cada UE (Unidad Experimental) con solución de nematodos por cada tratamiento. Al testigo solo se agregó un ml de agua destilada (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos y dosis que se evaluaron para el control de nematodos (*Meloidogyne sp.*) *In vitro* en el cultivo de jitomate.

Tratamiento: Producto	Dosis g o ml.i.a. /L
1 Testigo Absoluto	0
2 Nimitz (Fluensulfone)	2
3 Nimitz (Fluensulfone)	2.25
4 Ditera	2
5 Ditera	3
6 Nemover	2
7 Nemover	3
8 Nematrol Plus	4
9 Nematrol Plus	6
10 Quitosano Langostino Agua Dulce	2.5
11 Quitosano Langostino Agua Dulce	5

12 Quitosano Langostino Agua Dulce	7.5
13 Quitosano Comercial	2.5
14 Quitosano Comercial	5
15 Quitosano Comercial	7.5

Durante el experimento se realizó una sola aplicación de los nematicidas, con ayuda de un contador manual se hizo el conteo de los nematodos. Se realizaron 7 evaluaciones (conteos de nematodos) para evaluar mortalidad a las 0 horas, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 18 horas, 24 horas y 48 horas. Con los datos obtenidos del porcentaje de mortalidad, se realizó un análisis de varianza y prueba de Tukey ($\alpha=0.05$), mediante el paquete de análisis estadístico SAS[®]. Además, se calculó

la efectividad biológica de los tratamientos mediante la prueba de eficacia de Abbott.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se llevó a cabo un análisis de varianza con los datos de porcentaje de mortalidad de nematodos *Meloidogyne sp.* y eficacia de los productos, obtenidos en la evaluación 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7, en donde se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados (Figura 1 y 2).

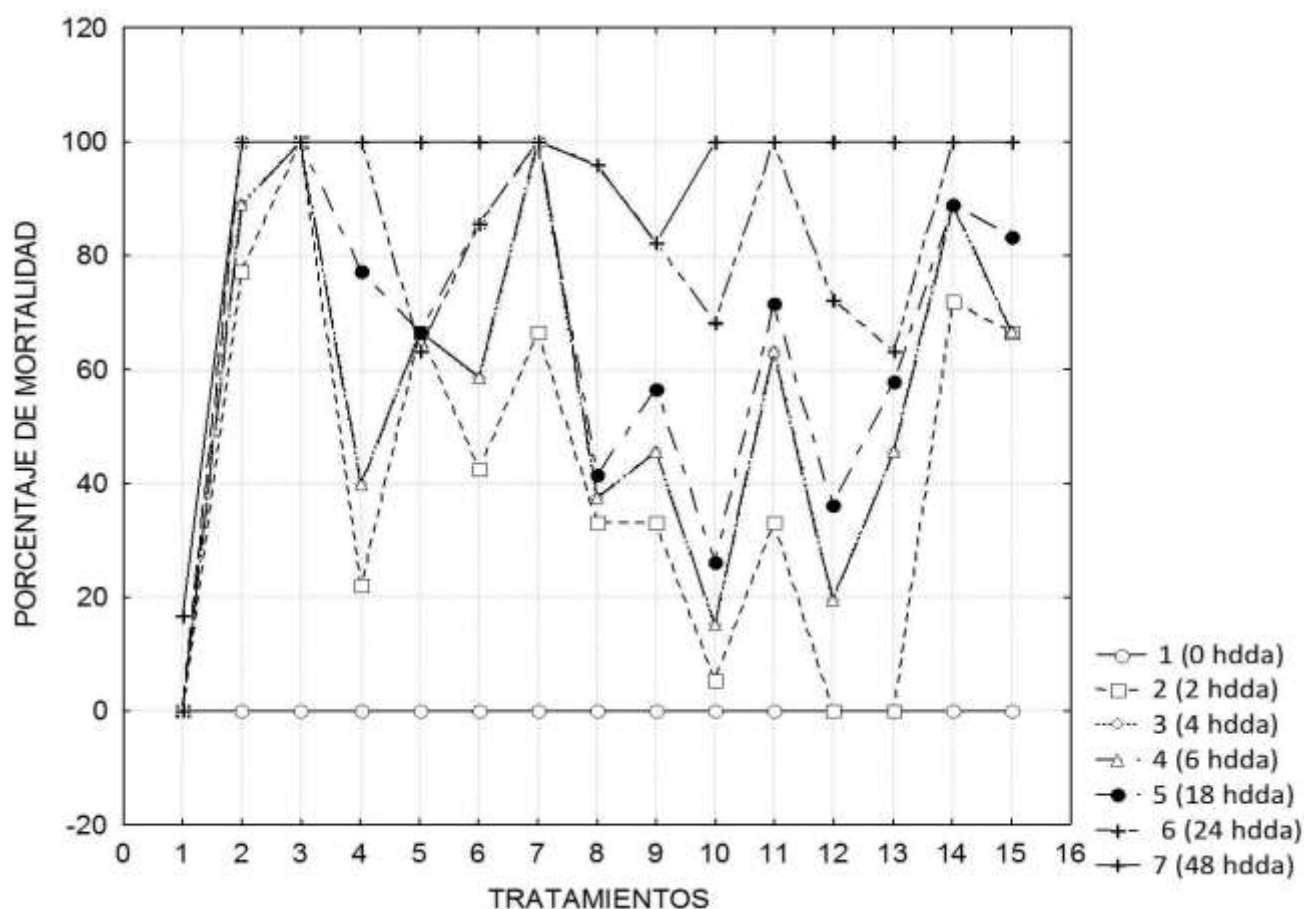


Figura 1. Porcentaje de mortalidad de *Meloidogyne sp.* en diferentes horas después de la aplicación (hdda) con nematicidas biológicos y químicos.

De acuerdo con los resultados obtenidos en los distintos tratamientos *In vitro*, sobre la mortalidad de *Meloidogyne sp.*, se obtuvo que en la primera evaluación a las 0 horas después de la aplicación (hdda) no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos por ser el primer conteo después de la aplicación. Para la segunda evaluación a las 2 hdda y tercera evaluación a las 4 hdda se observó la misma tendencia donde el mejor resultado fue fluensulfone (2.25 ml.i.a. /L agua) con una mortalidad de *Meloidogyne sp.* del 100% y una eficacia del tratamiento del 100%, esto concuerda lo obtenido por (Kearn *et al.*, 2014) quien demostró que este Fluensulfone ejerce una parálisis en nematodos a 1 hora después de la aplicación de este producto.

Para la evaluación 4 a las 6 hdda y evaluación 5 a las 18 hdda Nemover producto hecho a base de extractos vegetales obtuvo porcentaje de mortalidad del 100 %, en su dosis más alta (3.0 ml.i.a. /L agua) y una eficacia del 100%, lo cual concuerda con lo determinado por Sasanelli (1992) similar conclusión se hace con relación a extractos acuosos de plantas que mostraron efecto nematostático, una vez que los nemátodos permanecieron por 24 horas en los extractos se inactivaron gran parte de ellos.

En relación a los datos obtenidos a las 24 hdda Ditera en su dosis de (2, g.i.a/L.a.) muestra 100% de mortalidad y eficacia, mientras tanto en su dosis más altas (3, g.i.a/L.a.) muestran un 63.33 % de mortalidad pero con una eficacia del producto del 100%, esto demuestra lo obtenido por Aballay, (2005) quien obtuvo el 70 % de eficacia empleando Ditera contra nematodos de vid, mientras tanto que Quitosano de Langostino de Agua Dulce (5 g.i.a/L.a.) y Quitosano Comercial (5, 7.5 g.i.a/L.a.) muestran una mortalidad del 100 % contra *Meloidogyne sp.*, y una eficacia del 100%, lo anterior confirma lo obtenido por Peña, (2003) el cual obtuvo el 100% de inmovilidad para *N. aberrans* a las 24 horas después de su aplicación.

Por otra parte Sánchez, (2010) obtuvo una inmovilización del nematodo *N. aberrans* del 100 % a las 72 horas con quitosano a 2000 y 1500 ppm. Para las 48 hdda hay una mortalidad del 100% de *Meloidogyne sp.* a excepción de Nematrol Plus en sus dos dosis (4 y 6 ml.i.a./L agua) con 95.8 y 82.22% de mortalidad, y una eficacia de todos los productos del 100% (Figura 2).

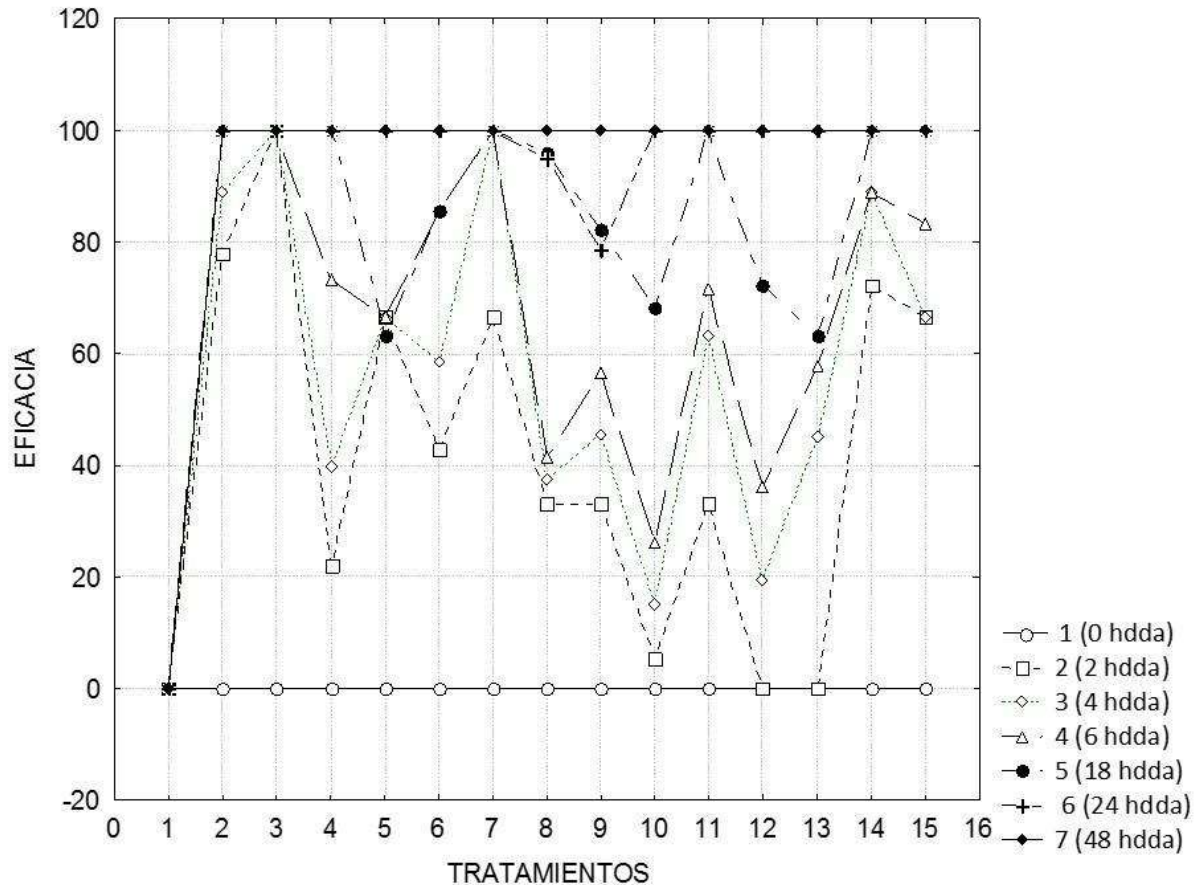


Figura 2. Eficacia de los nematocidas evaluados a diferentes horas después de la aplicación para el control de *Meloidogyne sp.*

CONCLUSIONES

Con respecto a los tratamientos evaluados *In vitro* para el control de nematodos *Meloidogyne spp.* se obtuvo que la mortalidad al 100 % a las 2 horas fue con fluensulfone (2.25 ml.i.a. /L agua). Nemover a base de extractos de vegetales logra la mortalidad de *Meloidogyne spp.* a las 4 horas después de la aplicación. Los productos a base de quitosano extraído de langostino de agua dulce (5 g.i.a. /L agua), esto comparado con quitosano comercial (5, 7.5 g.i.a. /L agua) logran la mortalidad al 100 % de nematodos *Meloidogyne spp.* del cultivo de jitomate posterior a las 24 hdda. Esto hace que el producto sea eficaz con respecto a

otros productos biológicos comerciales, ya que se logra el objetivo planteado.

LITERATURA CITADA

Aballay, E. 2005. Uso de plantas antagónicas para el control de nematodos fitoparásitos en vides. (On line) Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago, Chile. Consultado en http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_agronomicas/montealegre_j/19.html. (Consultado el 17 de Septiembre de 2014).

- Agrios, G., N. 1996. *Fitopatología*. 2a ed. Ed. Limusa. México: 696-697.
- Araus, C.L.F. 1998. *Fitopatología un enfoque agroecológico*. 1ª edición. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José Costa Rica. 245p.
- Araya, A. y A. Cheves 1997. Efecto de cuatro nematicidas sobre el control de nematodos en banano (*Musa AAA*). *Corbana* 22 (47): 35-48.
- Benjakul, S., Visessanguan, W., Tanaka, M., Ishizake, S., Suthidnham, R., and Sungpech, O. 2000. Effect of chitin and chitosan on gelling properties of surimi from barred garfish (*Hemiramphus far*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(2000](https://doi.org/10.1002/1097-0010(2000)
- Bridge, I. y Williams, T.D. 2002. Plant Parasitic Nematodos. In: Waller, M; Lenne, I.M. y Waller, S.I. (eds). *Plant Pathologist's Pocket book*. Londres, CAB Internacional:140-162. <https://doi.org/10.1079/978085199451>
- Csinos, A, J. Whitehead, L.L. Hickman, S.S. LaHue. 2010 Evaluation of fluensulfone for root knot nematode on tobacco, *Phytopathology* (28): 100.
- Dávila, M.N. Acosta C. Betancourt y J. Negron. 1999. Capacidad quitinolítica de hongos aislados de suelos agrícolas infestados con el nematodo nodulador (*Meloidogyne* spp.) en Puerto Rico. *J. Agric. Univ.P.R.* 83 (3-4): 189-199. <https://doi.org/10.46429/jaupr.v83i3-4>.
- Hoagland, P.D., and Parris, N. 1996. Chitosan/pectin laminated films. *Journal of Agricultural and Food chemistry* 44:1915-1919. <https://doi.org/10.1021/jf950162s>
- Kearn, J.; Ludlow, E.; Dillon, J.; O'Connor, V.; Holden-Dye, Lindy. 2014. Fluensulfone is a nematicide with a mode of action distinct from anticholinesterases and macrocyclic lactones. *Pesticide Biochemistry and Physiology*: 44-57. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.01.004>
- LaFontaine. P.J., and Benhamou, N. 1996. Chitosan treatment: An emerging strategy for enhancing resistance of greenhouse tomato plants to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. *Biocontrol Science and Technology* 6:11-24. <https://doi.org/10.1080/095831596500>
- Peña, F. R., 2003. Actividad nematicida in vitro de formulaciones quitosan-*L. tridentata* (D.C.) Coville contra el nematodo falso nodulador *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro UAAAN. Coahuila México: 33-40.
- Sánchez, P.J.F. 2010. Efecto de quitina y quitosano sobre huevos y juveniles de nematodos formadores de nódulos radiculares, *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne incognita*. Bajo condiciones in vitro e in vivo. Tesis de Maestría.
- Sandford, P. 1989. Chitosan: Commercial uses and potential applications: 51-69.
- Sasanelli, N. 1992. Nematicidal activity of aqueous extracts from leaves of *Ruta graveolens* on *Xiphinema index*. *Nematología Mediterránea*. 20: 53-55.
- Shahidi, E, Kamil, J.K., Jeon, Y., and Kirn, S. 2001. Antioxidant role of chitosan in a cooked cod (*Gadus Morhua*) model system. *Journal of Food Lipids* 9:57-64. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.20>
- Y. Oka, S. Shuker, N. Tkachi, Nematicidal efficacy of MCW-2, a new nematicide of the fluoroalkenyl group, against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*, *Pest. Manag. Sci.* 65 (2009): 1082-1089. <https://doi.org/10.1002/ps.1796>

Copyright (c) 2016 A.M. Garcia-Munguia, R.N. Contreras Martínez, C.A. Ramos Barreto, M. Pérez Sato,

W.K. Gastélum Ferro, L.E. Pérez Cabrera, A. Ibáñez-Martínez y C.A. García Munguía



Este texto está protegido por una licencia [Creative Commons 4.0](#).

Usted es libre para Compartir —copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato— y Adaptar el documento —remezclar, transformar y crear a partir del material— para cualquier propósito, incluso para fines comerciales, siempre que cumpla la condición de:

Atribución: Usted debe dar crédito a la obra original de manera adecuada, proporcionar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que tiene el apoyo del licenciante o lo recibe por el uso que hace de la obra.

[Resumen de licencia](#) - [Texto completo de la licencia](#)