

CONTROL INTEGRADO DE *MELOIDOGYNE* *INCOGNITA* EN PIMIENTO

C. ROS, M.M. GUERRERO, M.A. MARTÍNEZ, J. TORRES,
M.C. MARTÍNEZ, A. LACASA

Biotecnología y Protección de Cultivos. IMIDA. Cl. Mayor, s/n,
30150 La Alberca. Murcia

A. BELLO

Agroecología. Centro de Ciencias Medioambientales. Serrano, 115 dpdo.
28006 Madrid

INTRODUCCIÓN

Meloidogyne incognita está ampliamente distribuido en los invernaderos del Campo de Cartagena donde se realiza un monocultivo de pimiento desde hace más de 20 años (Lacasa y Guirao, 1997). Representa uno de los principales problemas fitosanitarios del suelo, por las pérdidas de producción que llega a producir (Ros *et al.*, 2004).

En cultivos convencionales, la desinfección anual del suelo con bromuro de metilo ha sido la forma habitual de control de sus efectos (Tello y Lacasa, 1997; Bello *et al.*, 1997). La biosolarización es ampliamente utilizada para desinfectar los invernaderos destinados al cultivo ecológico en esta zona, obteniendo resultados variables con los años y con los invernaderos (Guerrero *et al.*, 2004c).

Varios autores han descrito en el pimiento resistencias a varias especies de *Meloidogyne* (Hendy *et al.*, 1985; Ferry *et al.*, 1998; Thies y Ferry, 2000; Castagnone Sereno *et al.*, 2001; Djian-Capolarino *et al.*, 2001; Brito *et al.*, 2004). Al reiterar el cultivo de plantas injertadas sobre patrones portadores de resistencia en algunos invernadero del Campo de Cartagena se han seleccionado poblaciones capaces de superar tal resistencia (Ros *et al.*, 2004) mientras en otros no se ha producido tal selección (Ros *et al.*, 2004 b, 2005; López *et al.*, 2004). Robertson *et al.* (2005) han estudiado este comportamiento diferencial, constatando la virulencia de las poblaciones, lo que obligaría a establecer sistemas integrados de control para evitar los procesos de selección y los daños del nematodo.

Por ello se ha ensayado la combinación de métodos de desinfección no químicos y la utilización de patrones resistentes, que puedan dar solución a los problemas planteados por el nematodo en cultivos ecológicos y convencionales de pimiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño y planteamiento de los ensayos

Se planteó un ensayo de larga duración en el que se combinó el injerto en un patrón resistente y dos formas de desinfección del suelo (biosolarización y biofumigación) utilizables en agricultura ecológica, teniendo como referencia suelo desinfectado con bromuro de metilo y un testigo no desinfectado. El ensayo se realizó en un invernadero experimental situado en el Campo de Cartagena (Murcia), de suelo franco-arcilloso e infestado de *Meloidogyne incognita*, que se ha cultivado de pimiento desde la campaña 1999-2000. El diseño experimental fue de bloques al azar con 3 repeticiones por tratamiento (tabla 1) y parcelas elementales de 60 m² con 3 filas de plantas por parcela (una injertada y otra sin injertar, no considerando la que coincide con la línea de postes) y un marco de plantación de 1,0 × 0,40 m. Los tratamientos y el patrón se repitieron en las mismas parcelas elementales durante las 3 campañas que duró el ensayo, manteniendo las dosis de bromuro y reduciendo las de las enmiendas orgánicas (tabla 1) al reiterar la desinfección con biosolarización o biofumigación. En la segunda campaña no hubo testigo sin planta injertada.

Realización de la desinfección

El bromuro de metilo (Brom-o-Gas, 98:2) se aplicó en fumigación en frío sellando el suelo con plástico VIF (Virtually Impermeable Film) de 0,04 mm, la primera semana de noviembre, utilizando un dosificador volumétrico de precisión.

Las tres campañas se iniciaron con la biosolarización y la biofumigación en la tercera semana de agosto, levantando el plástico de la biosolarización en la última semana de octubre. Se procedió de la siguiente forma: tras finalizar el cultivo precedente se preparó el terreno, se incorporó la mezcla de estiércol fresco de oveja y gallinaza mediante una labor de rotovator. Luego se extendieron las mangueras de riego y se sellaron las parcelas de biosolarización con plástico de polietileno (PE) de 0,05 mm. A continuación se regó hasta humedecer el suelo (6 horas de riego total, repartidas –por igual– en dos días consecutivos, emisores de 3 l/h a 0,40 m de distancia y 0,50 m de separación entre ramales), siguiendo el protocolo descrito por Guerrero *et al.* (2004 a). A los siete días se regaron las parcelas de biofumigación durante una hora.

Características del cultivo

Todos los años se plantó el cultivar Almudén (Syngenta Seeds, S.A.) a principios de enero. En cada parcela elemental (desinfectada o testigo) se puso una línea de plantas injertadas sobre el patrón Atlante (Semillas Ramiro Arnedo, S.A.) y otra sin injertar. El cultivo finalizó en la primera semana de agosto, dado que es antes de finalizar este mes que se ha de volver a iniciar la biosolarización para obtener los mejores resultados (Guerrero *et al.*, 2004 a). El riego, abonado, entutorado y el resto de las prácticas culturales fueron las habituales en la zona, para este ciclo de cultivo. El control de plagas se realizó por medios biológicos, disponiendo de sublimadores de azufre para el control del oidio.

Parámetros medidos

Para evaluar los efectos de la combinación de los dos métodos se midieron los siguientes parámetros:

- a) La incidencia de *Meloidogyne* se evaluó al finalizar el cultivo; se arrancaron, al azar, 10 plantas en cada línea de cada parcela elemental y se examinaron las raíces, anotando el número de plantas que presentaban nódulos y el índice de nodulación en cada una, de acuerdo a la escala de Bridge y Page (1980). Los resultados se expresan en tanto por ciento de plantas con presencia de nódulos y como índice medio de nodulación.
- b) La evolución del desarrollo de las plantas se evaluó midiendo la altura de 10 plantas, tomadas al azar, en cada línea, cada dos semanas, comenzando a las dos o tres semanas de la plantación y terminando a finales de junio, cuando el entutorado comienza a presentar deficiencias.
- c) Como parámetro globalizador de los efectos de la desinfección y del injerto se midieron la producción comercial y total: en cada recolección se clasificaron los frutos de cada fila según las categorías comerciales y se pesaron, expresando los resultados en kg/m^2 .

La comparación entre tesis se ha realizado mediante un análisis de varianza (ANOVA, tratamientos y bloques) y el test LSD al 95% para la comparación entre medias. Se han empleado para ello los datos transformados con $\arcsen \sqrt{x}$ cuando se trataba del porcentaje de plantas infestadas por el nematodo, la transformación $\text{Log}_{10}(x+1)$ en el caso del índice medio de nodulación y de las producciones y $\text{Log}_{10}(x)$ en el caso de la altura.

RESULTADOS

Control de nematodos

La incidencia de *Meloidogyne* fue elevada durante las tres campañas, con el 100% de las plantas infestadas e índices medios de nodulación superiores a 6 en plantas del cultivar en suelo sin desinfectar (tabla 2).

El control del nematodo en los suelos biosolarizado mejoró al reiterar la desinfección en el mismo suelo, hecho ya señalado por Guerrero *et al.* (2004 y 2005), aunque no alcanzó los niveles del bromuro de metilo en el primer año, se acercó al desinfectante de referencia en los años siguientes.

La biofumigación sola resultó ineficaz, al no diferenciarse del testigo ni en el porcentaje de plantas infestadas ni en los índices de nodulación (tabla 2), tal como señalan Guerrero *et al.* (2006).

La resistencia del patrón tuvo un buen comportamiento en la primera campaña en los suelos desinfectados con bromuro de metilo y con biosolarización, mientras en el testigo y en el suelo biofumigado más de la mitad estaban infestadas y con bajos índices de nodulación. En la segunda campaña, el comportamiento del patrón fue mejor a la primera en el testigo, pero no en el suelo biofumigado, donde se infestaron todas las plantas y el índice de nodulación fue del mismo orden que el del cultivar sensible (tabla 2). En los suelos desinfectados con bromuro de metilo y con biosolarización el comportamiento fue similar al de la campaña precedente. En el tercer año de reiteración, el comporta-

miento del patrón fue similar a la primera campaña, en el testigo el resto de los resultados fueron similares a los de la segunda.

En consecuencia, se interpreta que la resistencia ha sido remontada en los suelos no desinfectados o deficientemente desinfectados (biofumigación), ya que en el cultivo de pimiento que se realizó en el invernadero en la campaña anterior a la de iniciación del ensayo, cuyo suelo no se había desinfectado, la incidencia del nematodo sobre el cultivar Orlando fue muy elevada. Por otra parte, la combinación de la biosolarización y el injerto proporciona un control del nematodo similar al del bromuro de metilo y de forma sostenida.

Desarrollo de las plantas

El injerto no influyó en el desarrollo de las plantas (tabla 3). La biosolarización proporcionó plantas tan altas como el bromuro de metilo en todas las campañas, y ambos más altas que el testigo y la biofumigación en las dos primeras campañas. Las diferencias entre tratamientos se fueron disipando con la reiteración.

Producciones comerciales

En las dos primeras campañas el injerto mejoró el rendimiento productivo en el suelo no desinfectado y en el biofumigado, pero no en lo tratado con bromuro de metilo o en lo biosolarizado (tabla 3).

La biofumigación sólo superó la producción del testigo en la primera campaña, tanto si se trataba de plantas injertadas como sin injertar y proporcionó similar cosecha comercial que el bromuro de metilo en las dos últimas campañas, lo que no se corresponde con los niveles de incidencia de *Meloidogyne* en ambos tratamientos (tabla 2). Esto podría estar relacionado con las características del suelo, que mejoran en el suelo biofumigado por efecto de la incorporación de la enmienda orgánica, que no se aporta ni en las parcelas del testigo ni en las del bromuro de metilo. Las diferencias entre tratamientos se produjeron en todas las categorías comerciales (figuras 1 a 3).

La biosolarización proporcionó similar cosecha comercial que el bromuro de metilo en la primera campaña y superiores en las dos siguientes. El aumento diferencial de la producción a partir del primer año de reiteración se presentó en ensayos realizados en otros invernaderos (Guerrero *et al.*, 2004 b y 2005), y parece estar relacionado con la mejora de las características físicas y químicas del suelo (Fernández *et al.*, 2004, 2005), además de con los efectos sobre los patógenos (Guerrero *et al.*, 2004 a). Similares observaciones han sido realizadas por Harvey y Sams (2001) al utilizar especies de *Brassica* en cultivos de tomate.

CONCLUSIONES

La reiteración del mismo patrón resistente a *Meloidogyne* en el mismo suelo parece provoca la selección de poblaciones capaces de remontar la resistencia.

La biofumigación no supone un complemento adecuado al injerto para evitar la selección de poblaciones virulentas.

La biosolarización en combinación con el injerto se presenta como una forma eficaz y estable para control de *Meloidogyne* en cultivos de pimiento y para alcanzar aceptables niveles de producción.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo ha sido financiado por el INIA (Proyecto OT03-006-C07-04) y el Programa de Colaboración FECOAM-Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Agradecemos a Semillas Ramiro Arnedo, S.A., por proporcionar las semillas del patrón. M.A. Martínez disfrutó de una beca predoctoral del INIA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELLO, A.; ESCUER, M.; SANZ, R.; LÓPEZ, J.A.; GUIRAO, P. 1997. Biofumigación, nematodos y bromuro de metilo en el cultivo de pimiento. En «Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento. A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora Eds. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Jornadas 16: 67-108.
- BRIDGE, J.; PAGE, S.J. 1980. Estimation of root-knot nematodes infestation levels on roots using a rating chart. *Tropical Pest Management*, 26: 296-298.
- BRITO, J.; SANTLEY, J.; RETINTAS, R.; DI VITO, M.; THIES, J.; DICKSON, D.W. 2004. *Meloidogyne mayaguensis* reproduction on resistant tomato and pepper. Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions. Orlando, Florida (USA), November, 77: 1-5.
- CASTAGNONE-SERENO, P.; BONGIOVANNI, M.; DJIAN-CAPORALINO, C. 2001. New data of the root-knot nematode resistance genes *Me*₁ and *Me*₃ in pepper. *Plant Breeding* 120: 429-433.
- DJIAN-CAPOLARINO, C.; PIJAROWSKI, L.; FAZARI, A.; GAVEAU, M.; O'BYRNE, C.; LEFRBVRE, V.; CARANTA, C.; PALLOIX, A.; ABAD, P. 2001. High-resolution genetic mapping of the pepper (*Capsicum annuum* L.) resistance loci *Me*-3 and *Me*-4 conferring heat-stable resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). *Theoretical and Applied Genetics* 103: 592-600.
- FERNÁNDEZ, P.; GUERRERO, M.M.; ROS, C.; BELLO, A.; GARCÍA, A.; LACASA, A. 2004. Efecto de la biofumigación+solarización sobre la características físicas y químicas de los suelos de pimiento del sureste español. *Actas de Horticultura*, 42: 6-12.
- FERNÁNDEZ, P.; GUERRERO, M.M.; MARTÍNEZ, M.A.; ROS, C.; LACASA, A.; BELLO, A. 2005. Effects of biofumigation plus solarization on soil fertility. Industrial crops and rural development. Proceedings of Annual Meeting of the Association for the Advancement of industrial crops, 17-21 September, Murcia Spain, 229-236.
- FERY, R.L.; DUKES, P.D.; THIES, J.A. 1998. «Carolina Wonder» and «Charleston Belle»: Southern root-knot nematode resistant bell peppers. *HortScience* 33, 900-902.
- GUERRERO, M.M.; LACASA, A.; ROS, C.; BELLO, A.; MARTÍNEZ, M.C.; TORRES J.; FERNÁNDEZ, P. 2004a. Efecto de la biofumigación con solarización sobre los hongos del suelo y la producción: fechas de desinfección y enmiendas. En A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora Eds. Desinfección de suelos en invernaderos

- de pimiento. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Región de Murcia. Jornadas 16: 209-238. 2004.
- GUERRERO, M.M.; ROS, C.; MARTÍNEZ, M.A.; BARCELÓ, N.; MARTÍNEZ, M.C.; GUIRAO, P.; BELLO, A.; CONTRERAS, J.; LACASA, A. 2004b. Estabilidad en la eficacia desinfectante de la biofumigación con solarización en cultivos de pimiento. *Actas de Horticultura*, 42: 20-24.
- GUERRERO, M.M.; ROS, C.; GUIRAO, P.; MARTÍNEZ, M.A.; MARTÍNEZ, M.C.; BARCELÓ, N.; BELLO, A.; LACASA, A.; LÓPEZ, J.A. 2004c. Biofumigation plus solarisation efficacy for soil disinfection in sweet pepper greenhouses in the South-east of Spain. *Acta Horticulturae* 698: 293-297.
- GUERRERO, M.M.; ROS, C.; MARTÍNEZ, M.A.; MARTÍNEZ, M.C.; BARCELÓ, N.; LACASA, A. 2005. Biofumigación con solarización. Un método estable de desinfección de suelos de invernadero. *Actas Portuguesas de Horticultura*, 7 (3): 111-115.
- GUERRERO, M.M.; ROS, C.; MARTÍNEZ, M.A.; MARTÍNEZ, M.C.; BELLO, A.; LACASA, A. 2006. Biofumigation vs. biofumigation plus solarization to control *Meloidogyne incognita* in sweet pepper. *Bulletin OILB/oprs* 29 (4): 313-318.
- HARVEY, S.G.; SAMS, C.E. 2001. *Brassica* biofumigation increases marketable tomato yield. Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions. San Diego, California (USA), 5-9 November: 97: 1-2.
- HENDY, N.; DAHMASO, A.; CARDIN, M.C. 1985. Differences in resistant *Capsicum annum* attacked by different *Meloidogyne* species. *Nematologica*, 31: 72-78.
- LACASA A.; GUIRAO P. 1997. Investigaciones actuales sobre alternativas al uso del bromuro de metilo en pimiento de invernadero. En A. López, J.A. Mora. Eds. Publicaciones de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Jornadas, 11: 47-50.
- LÓPEZ-PÉREZ, J.A.; ROBERTSON, L.; BELLO, A.; ESCUER, M.; DÍAZ-ROJO, M.A.; PIETRABUENA, A.; ROS, C.; MARTÍNEZ, C. 2004. Resistencia en pimiento a nematodos formadores de nódulos del género *Meloidogyne* Göldi, 1892. *Actas de Horticultura*, 41: 149-152.
- ROBERTSON, L.; LÓPEZ-PÉREZ, J.A.; BELLO, A.; DÍAZ-ROJO, M.A.; ESCUER, M.; PIETRABUENA, A.; ROS, C.; MARTÍNEZ, C. 2005. Characterization of *Meloidogyne incognita*, *M. arenaria* and *M. hapla* populations from Spain and Uruguay Parasitizing pepper (*Capsicum annum* L.). *Crop Protection* (on-line).
- ROS, C.; GUERRERO, M.M.; LACASA, A.; GUIRAO, P.; GONZÁLEZ, A.; BELLO, A.; LÓPEZ, J.A.; MARTÍNEZ, M.C. 2004a. El injerto en pimiento. Comportamiento de patrones frente a hongos y nematodos. En «Desinfección de suelos en invernaderos de pimiento. A. Lacasa, M.M. Guerrero, M. Oncina y J.A. Mora Eds. Publicaciones de la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. Jornadas 16: 279-312.
- ROS, C.; GUERRERO, M.M.; MARTÍNEZ, M.A.; BARCELÓ, N.; MARTÍNEZ, M.C.; BELLO, A.; GUIRAO, P.; LACASA, A. 2004b. La combinación injerto y biofumigación en el control de *Meloidogyne incognita* en pimiento de invernadero. *Actas de Horticultura*, 42: 26-32.
- ROS, C.; GUERRERO, M.M.; MARTÍNEZ, M.A.; MARTÍNEZ, M.C.; BARCELÓ, N.; LACASA, A.; BELLO, A. 2005. Comportamiento de la resistencia de patrones de pimiento a *Meloidogyne incognita*. *Actas Portuguesas de Horticultura*, 7 (3): 187-192.
- THIES, J.A.; FERY, R.L. 2000. Characterization of resistance conferred by the N gene to *M. arenaria* races 1 and 2, *M. hapla* and *M. javanica* in two sets of isogenic lines

of *Capsicum annuum* L. Journal of the American Society for Horticultural Science 125: 71-75.

TELLO, J.; LACASA, A. 1997. Problemática fitosanitaria del suelo en el cultivo del pimiento en el campo de Cartagena. En Posibilidad de alternativas viables al bromuro de metilo en pimiento de invernadero. A. López y J.A. Mora Eds. Publicaciones de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua. Jornadas 11: 11-18.

Tabla 1. Tratamientos y dosis de enmienda orgánica utilizada en cada campaña (EFO = estiércol fresco de oveja; G = gallinaza)

Tratamientos	Dosis de enmienda orgánica (kg/m ²) y de BrMe (g/m ²)		
	1.º año (2002-03)	2.º año (2003-04)	3.º año (2004-05)
BrMe 98:2	30	30	30
Biosolarización	7 EFO + 2 G	5 EFO + 2 G	4 EFO + 1,5 G
Biofumigación	7 EFO + 2 G	5 EFO + 2 G	4 EFO + 1,5 G
Testigo	–	Ne	–

Ne = no evaluado.

Tabla 2. Incidencia de *Meloidogyne* en las tres campañas de ensayos

Tratamiento	2002-03		2003-04		2004-05	
	Índice nodulación ^a	% plantas con nódulos ^b	Índice nodulación ^a	% plantas con nódulos ^b	Índice nodulación ^a	% plantas con nódulos ^b
Testigo+injerto	1,5 b	55,6 b	0,0 a	0,0 a	2,7 b	66,67 bc
Testigo	6,9 d	100,0 c	–	–	6,3 c	100,0 c
BM+injerto	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,0 a	0,1 a	6,7 a
BM.	4,3 c	80,0 bc	1,2 b	40,0 b	0,8 a	20,0 a
Biosolarización+injerto	0,1 a	6,7 a	0,3 ab	13,3 ab	0,1 a	13,3 a
Biosolarización	5,9 d	93,3 c	1,7 b	40,0 b	2,8 b	33,3 ab
Biofumigación+injerto	1,2 b	55,6 b	5,6 c	100,0 c	6,1 c	100,0 c
Biofumigación	7,2 d	100,0 c	7,3 c	100,0 c	6,5 c	93,3 c

^a Test LSD al 95% con datos transformados mediante Log₁₀ (x+1). ^b Test LSD al 95% con datos transformados mediante Arcsen(√x). Las cifras con la misma letra en una columna no son diferentes (P < 0,05).

Tabla 3. Altura de las plantas y producción comercial media final en las tres campañas de ensayos

Tratamiento	2002-03		2003-04		2004-05	
	Altura plantas ^a (cm)	Producción comercial ^b (kg/m ²)	Altura plantas ^a (cm)	Producción comercial ^b (kg/m ²)	Altura plantas ^a (cm)	Producción comercial ^b (kg/m ²)
Testigo+injerto	111 b	9,9 a	118 c	9,0 c	133 ab	7,2 bc
Testigo	110 b	5,5 c	–	–	132 b	6,9 c
BM+injerto	118 ab	9,6 a	135 a	10,6 bc	133 ab	7,1 c
BM.	125 a	9,3 a	134 a	10,3 bc	136 ab	7,2 bc
Biosolarización+injerto	126 a	10,9 a	138 a	12,9 a	140 a	9,3 a
Biosolarización	123 a	10,0 a	141 a	12,5 a	140 a	8,3 ab
Biofumigación+injerto	119 ab	10,6 a	122 bc	11,0 ab	136 ab	6,9 c
Biofumigación	110 b	7,4 b	125 b	9,6 bc	141 a	6,6 c

^a Test LSD al 95% con datos transformados mediante Log₁₀ (x). ^b Test LSD al 95% con datos transformados mediante Log₁₀ (x+1). Las cifras con la misma letra en una columna no son diferentes (P < 0,05).

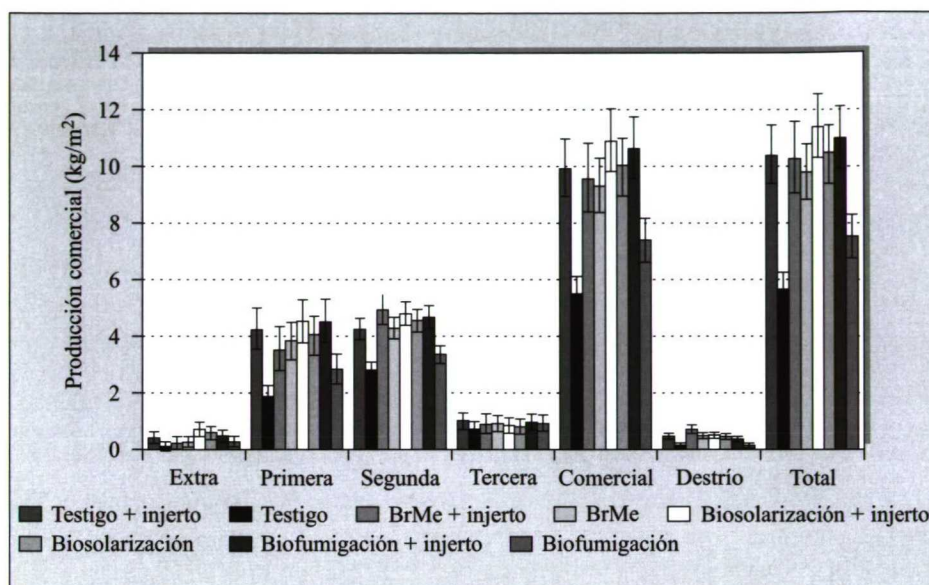


Figura 1

PRODUCCIONES MEDIAS POR CATEGORÍAS COMERCIALES.
 CAMPAÑA 2002-03. INTERVALOS LSD AL 95% CON LOS DATOS
 TRANSFORMADOS CON $\text{LOG}_{10}(x+1)$

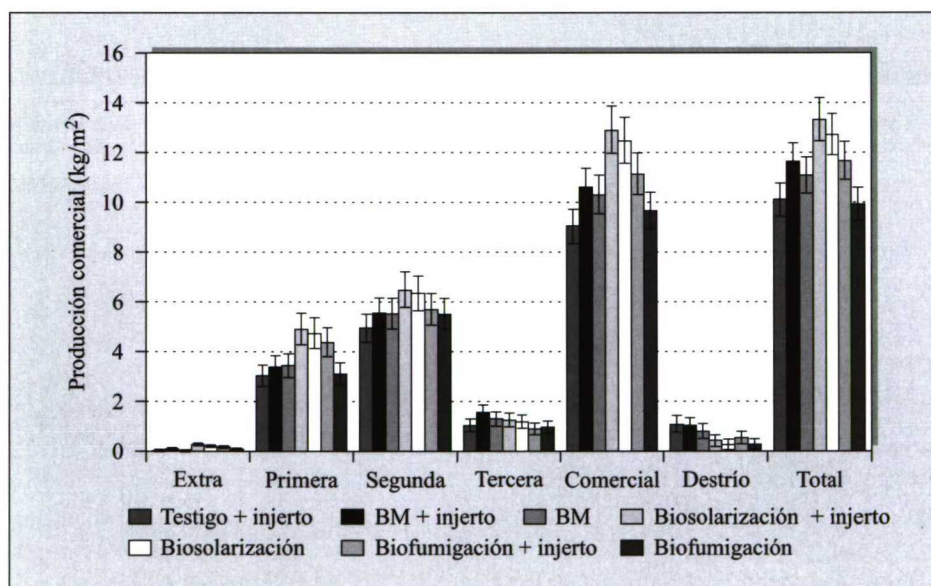


Figura 2

PRODUCCIONES MEDIAS POR CATEGORÍAS COMERCIALES.
 CAMPAÑA 2003-04. INTERVALOS LSD AL 95% CON LOS DATOS
 TRANSFORMADOS CON $\text{LOG}_{10}(x+1)$.

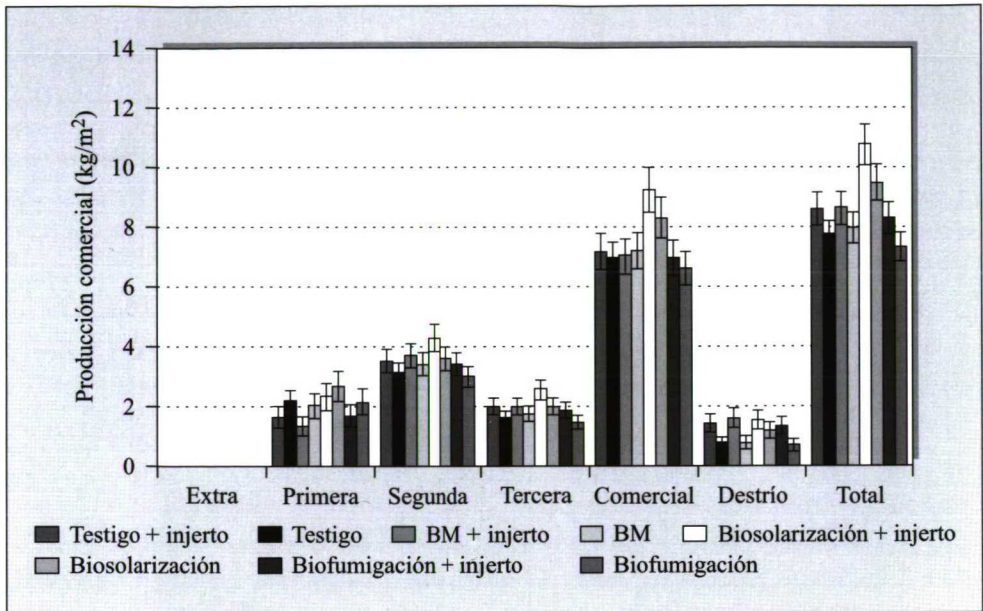


Figura 3

PRODUCCIONES MEDIAS POR CATEGORÍAS COMERCIALES.
 CAMPAÑA 2004-05. INTERVALOS LSD AL 95% CON LOS DATOS
 TRANSFORMADOS CON $\text{LOG}_{10}(x+1)$