



Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Trabajo Final de Carrera Ingeniería Agronómica

“Evaluación de la aplicación de nematicidas y hongos micorrícicos arbusculares sobre un cultivo de berenjena infestado con *Nacobbus aberrans*”

Alumna: Biaus, Ana Julia

Núm. legajo: 26461/7

Mail: anajuliabiaus@gmail.com

Director: Dra. Ing. Ftal. Marcela Ruscitti

Co-director: MSc. Ing. Agr. Sebastián Garita

La Plata, 05 de Octubre de 2017

INDICE

INDICE	2
RESUMEN.....	3
INTRODUCCIÓN.....	4
<i>Nacobbus aberrans</i>	7
Medidas para el manejo de <i>N. aberrans</i>	10
Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares	11
El Ozono	12
Control Químico	13
HIPÓTESIS	13
OBJETIVO GENERAL	13
OBJETIVOS PARTICULARES	14
MATERIALES Y MÉTODOS	14
Parámetros determinados:	16
RESULTADOS Y DISCUSION.....	20
CONCLUSIONES.....	43
COMENTARIOS FINALES	43
BIBLIOGRAFIA	44

RESUMEN

El falso nematodo agallador, *Nacobbus aberrans*, causa importantes pérdidas económicas en el Cinturón Hortícola Platense (CHP). Este patógeno provoca una reducción del sistema radical apto para la nutrición de la planta, y determina así una reducción en el rendimiento y crecimiento de las plantas. Esto condujo a los productores, en ocasiones, al uso indiscriminado de fumigantes químicos como el bromuro de metilo. Este último, aunque muy eficiente, ha tenido que ser retirado del mercado debido a que daña la capa de ozono. Por este motivo, el presente trabajo tiene como objetivo estudiar el efecto de la inoculación al trasplante con hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) y la aplicación de nematicidas alternativos en un suelo infestado con *Nacobbus aberrans* sobre la población del patógeno y el crecimiento de plantas de berenjena. En un establecimiento de producción ubicado en la localidad de Arana, prov. de Buenos Aires, se llevó a cabo el trabajo experimental en plantas de berenjena (*Solanum melongena*) bajo condiciones de invernáculo y en un suelo infestado de nematodos. Veinte días antes del trasplante, los lomos se trataron con distintos productos químicos de acción nematicida, determinando tres tratamientos: un control (sin aplicación), un tratamiento con ozono y otro con 1,3 dicloropropeno + cloropicrina. Inmediatamente antes del trasplante la mitad de las plantas de cada tratamiento fueron inoculadas con 80 g del hongo micorrícico *Rhizophagus intraradices* (RI) y el resto con inóculo inactivado (NI), para generar las mismas condiciones experimentales. Los parámetros evaluados sobre las plantas fueron índice de verdor, contenido de clorofila y carotenos, porcentaje de micorrización, conductividad relativa, contenido de malonildialdehído (MDA), proteínas solubles y prolina de hojas y raíces, peso fresco de raíces, número de huevos de nematodo por planta y rendimiento de frutos. El tratamiento más eficiente para el control de *N. aberrans* fue la aplicación de 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina. En tanto que el uso de ozono no dio buenos resultados. No se observó disminución de la población de nematodos en las plantas micorrizadas.

INTRODUCCIÓN

La berenjena (*Solanum melongena* L.) es una hortaliza de la familia Solanaceae originaria de las regiones cálidas de la India y China (Lawande & Chavan, 1998). Es una planta herbácea plurianual cultivada como anual. Tiene un crecimiento lento e indeterminado, pudiendo llegar, en condiciones de cultivo al aire libre, a una altura de 2 a 2,5 m y en invernadero incluso a los 4 m. Posee un sistema radicular muy desarrollado y profundo. Su tallo es erecto y rígido, espinoso, ramificado y lignificado. Las hojas son de gran tamaño, con bordes lobulados, textura aterciopelada y pubescentes en el envés. En algunos cultivares presenta espinas en el nervio central de las hojas y en el cáliz de la flor, si bien existen en el mercado variedades con menos espinas o prácticamente sin ellas que, evitan la consecuente incomodidad para la manipulación de la planta y los frutos durante el manejo del cultivo. Las primeras flores aparecen cuando el tallo principal se bifurca. Según el vigor y estado fenológico, en las axilas de las hojas se presenta una flor principal acompañada de una o varias secundarias en forma de ramillete, aunque también es posible verlas en los entrenudos. Las flores son hermafroditas, con estambres amarillos y corola violeta más o menos intenso, incluso blanca en aquellas que dan frutos de color blanco. El fruto es una baya carnosa de diversas formas (cilíndrica, ovoide, casi esférica) y colores (violeta, negro, morado, blanco, blanco jaspeado) según las distintas variedades (foto 1). Las semillas son pequeñas, aplastadas y de color parduzco (Baixauli Soria & Maroto, 2016)

Con respecto a la ecofisiología, la berenjena es la solanácea más exigente en temperatura: la óptima nocturna es de 18 a 22 °C y la diurna de 22 a 26 °C. Su cero vegetativo, bajo el cual el crecimiento se detiene, se establece en 9-10 °C, temperaturas por debajo de 11-12 °C pueden provocar la caída de flores, deformidades y falta de color en el fruto. La planta se ve afectada por las temperaturas inferiores a 0 °C. Algunos autores consideran que 35 °C es la máxima letal, aunque hay otros que consideran 45 °C como la máxima biológica; en cualquier

caso se trata de una planta que resiste muy bien las altas temperaturas. La semilla germina entre los 23 y 28 °C, después de 7 a 10 días, con un valor mínimo de 18 °C y máximo de 35 °C. Su poder germinativo es bajo -alrededor de 65%- y su longevidad de 4 a 6 años. La planta se desarrolla bien con humedades relativas comprendidas entre 65 y 80 %, y resulta importante evitar valores elevados por su sensibilidad a enfermedades como las provocadas por *Botrytis cinerea*. Cuando la humedad relativa es alta y persiste en el tiempo puede provocar amarillamiento de la planta y falta de cuaje. Se la considera una planta con alta demanda luminosa y es propensa al ahilado, aunque cuando la radiación es excesiva, sobre todo si está acompañada de altas temperaturas, puede producir planchado en los frutos. Una baja intensidad lumínica puede provocar malformación de flores y hojas, por lo que hay que aplicar técnicas de cultivo adecuadas para evitarlo. La berenjena está considerada como una planta de día largo, su floración puede verse comprometida con una longitud de día inferior a las 12 horas (Baixauli Soria & Maroto, 2016).



Foto 1: plantas de *Solanum melongena* en invernadero.

(Fuente: <https://tupale.co/s327>)

El cultivo de la berenjena es de relativa importancia económica y actualmente se encuentra en plena expansión en muchos países del mundo (Maroto Borrego, 2002). En Argentina la superficie cultivada es de 1280 ha (Censo Nacional Agropecuario, 2002), de las cuales 146 ha se encuentran en la provincia de Buenos Aires, con una producción anual estimada en 3.230 tn. La superficie implantada en invernadero es de 17,68 ha, con una producción de 862 tn/año (Censo Hortiflorícola de Buenos Aires, 2005).

El cultivo de este artículo en invernadero representa, junto con el tomate y el pimiento, uno de las hortalizas de fruto más importantes del Cinturón Hortícola de La Plata. En el partido de La Plata la superficie implantada es de 30 ha con una producción de 575 tn. Cinco hectáreas dentro de este total son de cultivo bajo cubierta con una producción anual de 211 tn (Censo Hortiflorícola de Buenos Aires, 2005). En cultivos protegidos, la producción puede ser de 8 a 12kg/m². En las variedades híbridas de fruto alargado el peso medio de cada baya suele estar comprendido entre 150 y 190 gr. En las variedades híbridas de fruto redondo su peso medio suele estar entre 200-250 gr llegando en casos extremos a los 300gr (Boletín Hortícola, 2007).

Con la intensificación de la horticultura en invernadero fueron manifestándose una serie de inconvenientes, entre los cuales se encuentran los problemas sanitarios. Dentro de ellos destacan aquellos cuyo inóculo primario está presente en el suelo, específicamente nematodos, hongos, bacterias y malezas. El nematodo *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) es responsable de producir importantes pérdidas en la producción de numerosos cultivos (foto 2). En nuestro país este fitoparásito se encuentra distribuido en focos o microrregiones, siendo en el Cinturón Hortícola Platense donde causa los problemas productivos más importantes. Sin embargo, por el momento no existen en Argentina evaluaciones que permitan estimar los daños en los rendimientos y las consecuentes pérdidas económicas (Chaves & Torres, 2001).



Foto 2: juvenil de *Nacobbus aberrans*

(Fuente: <http://nematode.unl.edu/naberra.htm>)

Nacobbus aberrans

Nacobbus aberrans se diferencia de otros nematodos del suelo por su polifagia, un elevado potencial reproductivo y una notable capacidad de adaptación. Estos aspectos le aseguran poder invadir con éxito zonas muy variadas e instalarse en ellas. Por otra parte se alimenta a partir de raíces de numerosas malezas, lo que le permite concretar su ciclo de vida en ausencia de cultivos susceptibles (Doucet & Lax, 2005). Como consecuencia del ataque del nematodo es posible observar en las raíces agallas de tamaño variable, sobre las que se pueden distinguir masas de huevos (foto 3). Al inicio de la infección, las agallas se encuentran separadas y en su interior alojan una sola hembra (Manzanilla-López *et al.*, 2002), pero a medida que la infección aumenta, también lo hace el número de agallas, haciéndose más próximas entre sí y adoptando el aspecto de cuentas de rosario que en algunos casos llegan a contener a más de una hembra. Debido a esto es que se le conoce también como nematodo del rosario (Costilla *et al.*, 1981). Los síntomas que causa la infección son reducción del crecimiento, clorosis del follaje, marchitez súbita (bajo condiciones de poca humedad) y una reducción significativa en el rendimiento, caracterizado por la presencia de frutos pequeños que con frecuencia presentan síntomas de podredumbre apical. Las plantas infectadas con *N. aberrans* presentan un menor peso del follaje verde y raíces en comparación con plantas libres de nematodos (Zamudio *et al.*, 1987).



Foto 3: Sistema radical con agallas

(Fuente: propia)

Ciclo de vida

Parte del ciclo de vida se desarrolla en el suelo y parte en los tejidos del hospedador (Foto 4). La duración del ciclo varía según la temperatura y la disponibilidad de alimento. En condiciones óptimas (22-24°C) puede oscilar entre 37 y 48 días (Costilla, 1985). Es una especie anfimíctica, con un marcado dimorfismo sexual respecto a la forma del cuerpo. Los machos son filiformes (0.7-1.2 mm de largo), mientras que las hembras maduras son voluminosas y fusiformes (0.7-1.9 mm de longitud). El ciclo comprende cuatro estadios larvales y los adultos. El primer estadio (L1) se desarrolla en el interior del huevo. Luego de una muda, se forma una larva de segundo estadio (L2) que va a emerger al exterior. Esta larva se desplazará en el suelo en busca de un hospedador adecuado. Las larvas se alimentan del citoplasma de células del parénquima cortical perforando las paredes con ayuda de su estilete. A medida que el nematodo se va alimentando, muda pasando por el tercer (L3) y cuarto estadio larval (L4). Posteriormente, darán lugar a un individuo filiforme: hembra inmadura (también llamada hembra joven) o a un macho (Doucet & Lax, 2005) que migran al exterior de la raíz.

La hembra inmadura vuelve a penetrar en el interior de la raíz y se fija a la proximidad del cilindro central en donde induce el desarrollo de su sitio de alimentación (síncito). Esto da lugar a una serie de alteraciones histológicas y fisiológicas particulares en esa zona del sistema radical del hospedador. Con el transcurso del tiempo, el nematodo pierde su aspecto filiforme y se torna voluminoso con apariencia de huso o cigarro (hembra madura). Puede llegar a adoptar formas muy variables según sea la rigidez de los tejidos del vegetal entre los que se desarrolla. Una vez fecundada, la hembra genera una masa gelatinosa en la que se depositan entre 40-800 huevos y que, generalmente, queda sobre la superficie de la agalla, en contacto con el suelo. Los huevos eclosionarán continuando con el ciclo de vida de la especie o se mantendrán en la matriz gelatinosa hasta que las condiciones ambientales sean favorables. Se considera que *N. aberrans* tendría dos estrategias principales de desarrollo: i) la L2 se introduce en la raíz de la planta y continúa su ciclo dentro de los tejidos hasta alcanzar la etapa adulta; ii) el desarrollo de la L2 puede ocurrir tanto dentro como fuera del vegetal, con repetidas penetraciones y emigraciones al suelo, hasta convertirse en macho o hembra inmadura (Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Las masas de huevos tienen la capacidad de soportar condiciones adversas, tales como las bajas temperaturas (hasta -13° C) y la desecación por períodos prolongados de tiempo (González & Franco, 1997). Ha sido señalado que las L3 y L4 pueden permanecer viables bajo situaciones de extrema humedad, temperatura y ausencia de hospedadores susceptibles durante aproximadamente un año (Cristóbal *et al.*, 2001).

El nematodo es dispersado a través de agentes que implican movimientos del suelo (maquinaria agrícola, agua, viento) y vegetales contaminados. Estos en conjunto, aseguran a la especie la posibilidad de colonizar nuevas áreas y parasitar otros hospedadores.

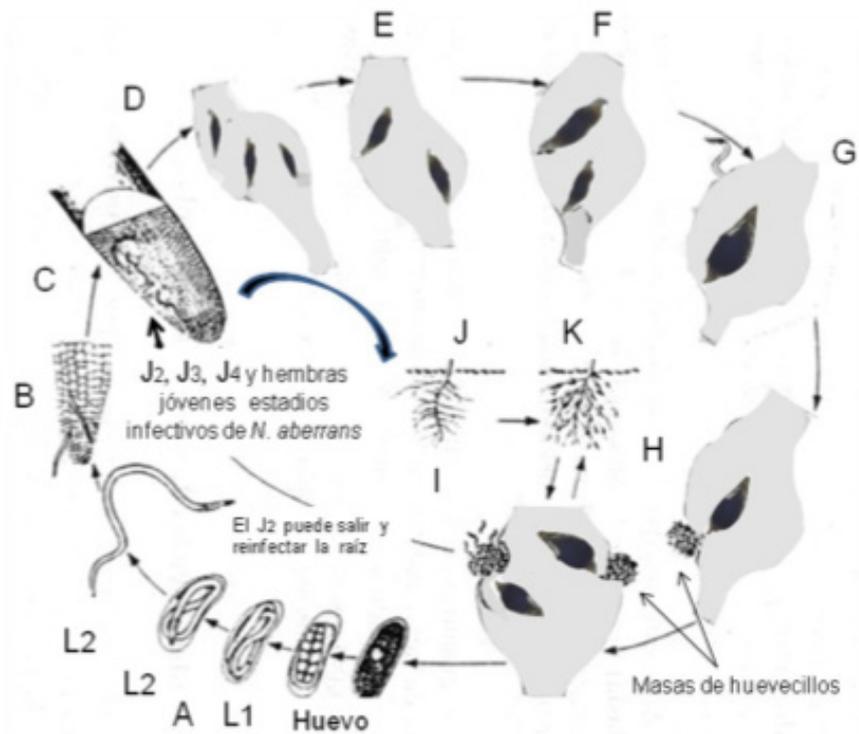


Foto 4: Representación del ciclo biológico de *N. aberrans*. A) etapa embriogénesis, B) segunda etapa larvaria, ataca raíces, C) J₂, J₃, J₄ y hembras jóvenes invaden la raíz como inoculo primario, D) J₂ se alimentan de células puede salir y reinfectar la raíz formando falsos nudos, E) tercera etapa larvaria, F) cuarta etapa larvaria, G) nematodos adultos, el macho abandona la raíz, H) hembra deposita huevos en ovisaco, I) las agallas contienen hembras ovipositoras, J) K) índice de agallamiento (fuente: Sánchez Portillo, J. F., 2010).

Medidas para el manejo de *N. aberrans*

Para disminuir la población de las plagas a niveles de daño económicamente aceptables, la desinfección del suelo se ha transformado en una práctica de manejo casi obligada en los sistemas intensivos hortícolas. Existen numerosas herramientas para llevar adelante esta práctica, sin embargo la más adoptada por los productores a nivel mundial ha sido el control químico. El uso del fumigante químico denominado bromuro de metilo se

generalizó debido a su gran poder biocida y a la practicidad para ser aplicado. Sin embargo el uso de este producto como fumigante de suelo está prohibido desde el año 2015 a través del Protocolo de Montreal por ser un gas que contribuye a la destrucción de la capa de ozono y además muy peligroso para la salud de los trabajadores que lo manipulan (SENASA, 2006). Surge entonces, la necesidad de probar otras alternativas biológicas, físicas y químicas para su sustitución.

Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares

Dentro de las medidas biológicas utilizadas para el control de los nematodos, se encuentran los hongos formadores de micorrizas arbusculares que constituyen una parte esencial de los ecosistemas agrarios ya que forman simbiosis mutualistas con más del 80% de las plantas vasculares terrestres. Esta simbiosis estimula el crecimiento de la planta hospedadora, a través de la modificación física y/o química de la rizósfera, lo cual se traduce en una mayor disponibilidad de nutrientes, especialmente fósforo y zinc, y mayor tolerancia al estrés (Cantrell & Linderman, 2001).

Según su estructura y relaciones morfológicas con la planta hospedadora se distinguen endomicorrizas y ectomicorrizas, y dentro de las primeras las más importantes en agricultura son las que al colonizar la raíz, desarrollan unas estructuras características (vesículas y arbusculos) que les dan el nombre de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) (Mitchell, 1993; Smith & Read, 2008). Los HFMA participan también en numerosas interacciones con otros organismos del suelo (Barea *et al.*, 1996; Facelli *et al.*, 2009) y se han citado efectos protectores de la micorrización frente a diversos agentes fitopatógenos (Linderman, 2000; Ryan *et al.*, 2003; Demir & Akkopru, 2005).

En el caso del ataque de nematodos se postula que el potencial de daño de los mismos es atenuado por el mayor volumen del sistema de absorción formado conjuntamente por raíces e hifas del hongo, además de una competencia por el nicho ecológico (Durán *et al.*, 2006).

El Ozono

Otra alternativa de control es el uso del ozono dirigido al suelo mediante su aplicación con el agua de riego, que persigue dos propósitos, el primero busca reducir las poblaciones de microorganismos habitantes del suelo, y a consecuencia de esto, el segundo pretende conseguir un estímulo en el crecimiento de las plantas (Bucio Villalobos, 2016). La ventaja de este método es que no deja residuos en el suelo y no es tóxico para el operador. El ozono es una variedad alotrópica (inestable) del oxígeno. Su molécula triatómica (O_3) se genera por la activación de la molécula diatómica (O_2) del oxígeno. Esta activación puede ser provocada por la acción de una descarga eléctrica o por la energía irradiada de los rayos ultravioleta. Debido a sus propiedades oxidantes, puede ser considerado como uno de los agentes microbicidas más rápido y eficaz que se conoce. En condiciones de pH bajo, por oxidación molecular y en medios de pH elevado por oxidación mediante hidroxilos, se destruyen o descomponen las membranas celulares y en ese momento se inactiva el ozono pasando de O_3 a O_2 . La eficacia de la desinfección está influenciada por el tiempo de contacto, la concentración de ozono, la temperatura del agua, el pH y las sustancias orgánicas e inorgánicas disueltas (Galindo, 2006). El ozono es un producto inocuo para el suelo, el agua o los productos agrícolas, debido a su baja residualidad. Tiene además un amplio espectro de acción siendo eficaz en la eliminación de bacterias, virus, protozoos, nematodos, hongos, agregados celulares, esporas y quistes (Owens *et al.*, 2000), dado que actúa sobre éstos a varios niveles. La oxidación directa de la pared celular o la membrana citoplasmática constituye su principal modo de acción, provoca la ruptura de las mismas, propiciando así que los constituyentes celulares salgan al exterior de la célula. Asimismo, el ozono inyectado en el agua ejerce su poder oxidante indirectamente mediante los radicales libres de hidroxilo, generados como consecuencia de la desintegración del ozono en el agua. Los daños producidos sobre los microorganismos no se limitan a la oxidación de su pared o membrana: el ozono también causa daños a los constituyentes de los ácidos nucleicos (ADN y ARN), generando la ruptura de enlaces carbono-nitrógeno, lo que da lugar a una despolimerización. Los microorganismos, por lo tanto, no son capaces de desarrollar inmunidad al ozono como hacen frente a otros compuestos (Pérez Calvo, 2010).

Control Químico

Entre las alternativas químicas, se utilizan productos de síntesis que al tomar contacto con el ambiente se transforman en gases, razón por la cual se los denomina fumigantes químicos (Argerich & Troilo, 2011). En lo que respecta a los productos disponibles en el mercado como alternativas al Bromuro de Metilo se encuentran los siguientes: Metam Sodio, Metam Potasio, 1.3-Dicloropropeno y Dazomet (SENASA, 2010). El Agrocelhone NE (1.3-Dicloropropeno 60,3% más Cloropicrina 33,3%) no daña la capa de ozono pero es un producto altamente tóxico. De acuerdo a lo indicado en el cuadro de Instrucciones de uso del marbete, es un insecticida-nematicida-fungicida de contacto, para uso en suelos agrícolas en pre-plantación o pre-siembra, para el control no selectivo de insectos, nematodos y hongos del suelo. Se trata de una mezcla fumigante-haluro alquílico altamente erradicante y penetrante. Actúa sobre los organismos por contacto, posiblemente por la formación de ácidos minerales en los tejidos. Afecta varias enzimas, oxidando la cisteína y el glutatión. Reduce la ceretina e inhibe la hidrogenasa y la hexoquinasa (Agroquímicos de Levante SA, 2008).

HIPÓTESIS

- El parasitismo de *Nacobbus aberrans* afecta el crecimiento y el rendimiento de las plantas de berenjena (*Solanum melongena*).
- El tratamiento con ozono reduce la población de *N. aberrans* en el suelo.
- La combinación de medidas de control biológicas, como la simbiosis con hongos micorrízicos arbusculares, y la aplicación de productos de acción nematicida reducen el efecto perjudicial de *N. aberrans* en las plantas y disminuye población del patógeno.
-

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto de la aplicación de nematicidas en un suelo infestado con *Nacobbus aberrans* y la inoculación al trasplante con HFMA sobre la población del patógeno y el crecimiento de plantas de berenjena.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Cuantificar la multiplicación y el daño de *N. aberrans* en raíces de berenjena, sometidas a distintos métodos de control.
- Evaluar si el parasitismo de *N. aberrans* afecta el crecimiento y la viabilidad de los hongos micorrícicos arbusculares.
- Evaluar las respuestas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas que provoca el parasitismo por nematodos en plantas de berenjena.
- Evaluar el crecimiento y el rendimiento de plantas de berenjena en presencia de distintos tratamientos de control del nematodo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó en condiciones de invernáculo, en un establecimiento de producción ubicado en la localidad de Arana, partido de La Plata.

Condiciones de cultivo: las plantas de berenjena, *Solanum melongena*, fueron transplantadas al invernáculo con el suelo infestado de nematodos, confirmado mediante un análisis de suelo. Los lomos se trataron en pretransplante con distintos productos químicos de acción nematicida, determinando los siguientes tratamientos:

- 1- Control (sin aplicación)
- 2- 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (Agrocelhone[®], FMC Corporation, Argentina)
- 3- Ozono

Al momento del trasplante y 20 días después, la mitad de las plantas de cada tratamiento fueron inoculadas con 80 g del hongo micorrícico *Rhizophagus intraradices* (RI) y el resto con inóculo inactivado (NI), para generar las mismas condiciones experimentales.

Preparación del inóculo: se utilizó inóculo de *Rhizophagus intraradices* proveniente del Banco de Glomeromycota *in vitro*, (BGIV), Bs. As., Argentina. Dicho inóculo se multiplicó en terrinas utilizando trébol blanco (*Trifolium repens*) como planta trampa, que se cultivó en un sustrato compuesto por perlita-vermiculita-arena (1:1:1), previamente tinalizado (100°C durante 1 h por día, tres días consecutivos). El crecimiento del inóculo se desarrolló en cámaras de crecimiento (25 +/- 2 °C, fotoperíodo de 16 h y 350 $\mu\text{moles. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$ de irradiancia) durante 90 días. Al cabo de tres meses posteriores a la inoculación, se suspendió el riego, dejando secar las plantas para luego eliminar la parte aérea. Las raíces se cortaron en fragmentos pequeños mezclándolas en forma homogénea con el sustrato, constituyendo el inóculo, una mezcla de sustrato, hifas, esporas y fragmentos de raíces de trébol (*Trifolium repens* L.) micorrizadas en un 90%, con una densidad de 60 esporas.g⁻¹ de sustrato seco.

Condiciones de aplicación de Agrocelhone® , FMC Corporation, Argentina:

Composición del concentrado emulsionable:

Dicloropropeno 60.8% p/p

Cloropicrina 33.3% p/p

Emulgentes 5% p/p

Densidad relativa: 1.325 kg/l

Una vez colocadas las dos líneas de goteros sobre los lomos y sellados los lomos con lámina de polietileno (mulching), se incorporó el Agrocelhone a través del riego por goteo. Mediante una bomba dosificadora se inyectó el fumigante durante un tiempo razonable conjuntamente con el agua de riego, con el objetivo de colocarlo a la profundidad de raíces. Al finalizar, se lavaron las líneas de goteros durante 10-20 minutos con agua sola. El suelo y el invernáculo quedaron tapados por 20 días, transcurrido ese tiempo, se ventiló el invernáculo y se realizó un test de germinación para luego proceder al transplante. La dosis utilizada fue de 35 gr/m².

Condiciones de aplicación del Ozono:

Para la aplicación de ozono se utilizó un prototipo de investigación, el mismo consiste en un dispositivo que a partir de las moléculas de oxígeno presentes en el aire, forma la molécula de ozono utilizando la tensión eléctrica.

Dicho ozono se inyectó a un tanque distribuidor de agua mediante una manguera, formando de esta manera burbujas en el agua, luego se procedió a regar el lomo cubierto con mulching con el agua ozonizada mediante cinta de riego con goteros a 25 cm. El dispositivo ozonizador fue programado para formular 5 ppm de ozono.

Tratamientos realizados: el ensayo fue realizado con un diseño factorial 3X2 completamente al azar con 12 repeticiones por tratamiento. Los tratamientos aplicados surgen de:

- Dos condiciones de micorrización: plantas no micorrizadas y plantas micorrizadas con *R. intraradices*
- Tres condiciones de tratamiento del suelo: control, 1,3 dicloropropeno + cloropicrina (Agrocelhone) y Ozono

Parámetros determinados:

- Semanalmente se midió la altura, se registró la fenología de las plantas y se determinó el índice de verdor utilizando el medidor portátil SPAD 502[®] (Minolta Co. Ltd., Japan). El procedimiento consiste en estimar el contenido relativo de clorofila total (a+b) presente en la hoja (unidades SPAD relativas de Minolta), mediante la medición de la absorción de la hoja en dos regiones de longitud de onda, roja y cercana a infrarroja. Utilizando estas dos transmisiones el medidor calcula el valor numérico SPAD, que es proporcional a la cantidad de clorofila presente en la hoja. Las mediciones se hicieron en la última hoja completamente expandida, ya que ha sido descrito como el mejor lugar para realizar las

medidas del contenido de clorofila (Hoel & Solhaug, 1998). Se realizaron tres medidas sobre la cara adaxial de la hoja de cada planta cada 15 días durante dos meses y medio. Los datos utilizados para este estudio corresponden a la media de cada grupo de tres medidas, obtenida mediante la función “average” del equipo (foto 5).



Foto 5 Medidor SPAD

(Fuente propia)

- A los 80 días de establecidos los tratamientos se tomaron muestras para determinar:
 - *Contenido de clorofila y carotenos.* Se determinó a partir de un disco de hoja de 1 cm de diámetro. Se utilizó N, N-Dimetilformamida como solvente de extracción, determinando la absorbancia de la solución a las longitudes de onda 647, 664 y 480 nm, en un espectrofotómetro Shimadzu UV 160 A® (Shimadzu Corp., Japan). El cálculo del contenido de pigmentos se realizó de acuerdo a Wellburn (1994):

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g cm}^{-2}) = 12 \times \text{Ab}_{663.8} - 3.11 \times \text{Ab}_{646.8}$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g cm}^{-2}) = 20.78 \times \text{Ab}_{646.8} - 4.88 \times \text{Ab}_{663.8}$$

$$\text{C total a+b } (\mu\text{g cm}^{-2}) = 17.67 \times \text{Ab}_{646.8} + 7.12 \times \text{Ab}_{663.8}$$

$$\text{Carotenoides } (\mu\text{g cm}^{-2}) = (1000 \times \text{Ab}_{480} - 1.12 \text{ Ca} - 34.07 \text{ Cb}) / 245$$

- *Porcentaje de micorrización.* Se estimó por observaciones con microscopio óptico luego de clarificar las raíces en KOH al 10% y teñirlas con azul de tripan al 5% (Phillips & Hayman, 1970). El porcentaje de raíces colonizadas M (%) se efectuó por observación microscópica, utilizando el método de cuadrícula de Giovanetti & Mosse (1980). Se calculó en base a la siguiente fórmula:

$$M (\%) = \frac{\text{Nro. de segmentos infectados}}{\text{Nro. de segmentos totales}} \times 100$$

- *Conductividad relativa de las membranas celulares de hojas y raíces.* Con el objeto de estimar su estabilidad o daño producido ante la situación de estrés, se realizó la determinación a partir de 200 mg de material fresco de hojas y raíces, de los distintos tratamientos, según el método de Lutts *et al.* (1996). Inmediatamente después del muestreo, los tejidos se lavaron tres veces con agua bidestilada durante 15 segundos, para eliminar los electrolitos adheridos a la superficie y aquellos liberados por las heridas producidas por el corte. Posteriormente, cada muestra se sumergió en un tubo con 10 ml de agua bidestilada donde permanecieron durante cuatro horas a temperatura ambiente. Seguido a esto, se determinó la conductividad eléctrica (dS m^{-1}) empleando un conductímetro Jenco modelo 3173. Luego, los tubos se taparon y se llevaron a autoclave donde se mantuvieron por 20 minutos a una presión de una atmósfera y $120\text{ }^{\circ}\text{C}$, con el objetivo de afectar totalmente la integridad de las membranas. Finalmente, los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se volvió a medir la conductividad eléctrica del medio. En base a los datos obtenidos, se estimó la conductividad relativa de las membranas celulares a partir de la siguiente fórmula:

$$CR (\%) = (L_1 / L_2) \times 100$$

Donde, L_1 y L_2 son las lecturas de conductividad eléctrica antes y después del autoclavado respectivamente.

- *Contenido de malonildialdehído (MDA)*. Se evaluó como indicador de la peroxidación de los lípidos de las membranas celulares. La cantidad de MDA en tejidos frescos, se determinó por la reacción con el ácido thiobarbitúrico (TBA) descrita por Heath & Packer (1968). Se procedió a moler 200 mg de hoja y 200 mg de raíz. A cada una de las muestras se les agregó 4ml de TBA 0,5% en 20% de ácido tricloroacético (TCA). Las mezclas se calentaron a 95°C durante 30 minutos y luego se introdujeron en un baño de hielo para enfriarlas y detener la reacción. A continuación, se centrifugaron a 10.000 g por 10 minutos, se separó el sobrenadante de cada muestra y se leyó la absorbancia a 532 y 600 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV 160 UV/V. La concentración de MDA se calculó usando un coeficiente de extinción molar de 155 mM⁻¹ cm⁻¹:

$$\text{Equivalentes de MDA (n.mol.ml}^{-1}\text{)} = [(A_{532} - A_{600}) / 155000] 10^6$$

- *Contenido de proteínas solubles*. Se determinó a partir de 200 mg de hoja o igual peso de raíz, de acuerdo al método de Bradford (1976). Los tejidos se homogeneizaron en un mortero con 1 ml del buffer de extracción (TRIS 50 mM, EDTA 1mM, PVPP insoluble 1%, MeSH 0,1% a pH 7,5) a 4°C. El homogeneizado resultante se centrifugó a 10.000 g durante 10 minutos a 4°C. Se tomaron 100 µl del sobrenadante y se le agregó 5 ml del reactivo Azul Brillante de Coomassie, se agitó en vortex y se leyó la absorbancia a 595 nm. El cálculo de la concentración de proteínas se efectuó empleando una curva patrón preparada con distintas concentraciones de albúmina de suero bovino (BSA, SiFMa Chemical Co).

- *Contenido de prolina* como indicador de estrés según el método de Bates *et al.* (1973). Para la determinación de prolina se homogeneizaron 100 mg de material fresco de hoja y de raíz con 2 ml de una solución de ácido sulfosalicílico al 3% en agua. El homogeneizado se centrifugó a 12.000 g por 15 minutos y se tomó 1 ml del extracto obtenido. Se lo hizo reaccionar con 1 ml del reactivo Ninhidrina ácida y 1 ml de ácido acético glacial en un tubo de 15 ml, en baño maría a 100 °C durante una hora. Al cabo de ese lapso la reacción se

interrumpió enfriando el tubo rápidamente. A la mezcla reaccionante anterior se le agregó 2 ml de tolueno y se agitó durante 15 a 20 segundos en vórtex. Se dejaron separar las fases y se tomó la fase acuosa conteniendo el cromóforo tolueno-prolina y se leyó la absorbancia a 520 nm usando tolueno como blanco.

Se calculó el contenido de prolina por unidad de peso fresco según:

$$\mu\text{mol prolina.g}^{-1} \text{ PF} = [(\mu\text{g prolina/ml} \times \text{ml tolueno})/115,5 \mu\text{g}/\mu\text{moles}]/[(\text{g PF})/5]$$

Donde: g PF = *Peso fresco de raíz* mediante balanza de precisión.

- *Número de huevos de nematodo por gramos de raíz* según la técnica de tamizado, centrifugación y flotación (Coolen, 1979).

- *Determinación del rendimiento* mediante la cuantificación del número y peso de los frutos. Las mediciones se realizaron 2 veces por semana durante los meses de octubre, noviembre hasta mediados de diciembre. Luego los datos se expresaron en kg.m^{-2} , teniendo en cuenta que las plantas se encontraban distribuidas a 50 cm entre ellas y la distancia entre lomos era de 1.8 m.

Análisis estadístico: el ensayo se realizó siguiendo un diseño experimental completamente aleatorizado, con 12 repeticiones por tratamiento. Los datos se analizaron por ANOVA y las medias se compararon usando LSD ($P < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSION

▪ Índice de Verdor

En la figura 1 se observa mayor índice de verdor en el tratamiento con agrocelhone, seguido por el testigo y por último el tratamiento de suelo con ozono. El análisis de la varianza muestra

diferencias significativas en los tres tratamientos (cuadro 1), no así entre las plantas micorrizadas y no micorrizadas.

En cuanto a la micorrización, a diferencia de lo encontrado en este trabajo, Díaz Franco *et al.* (2013) indicaron que la inoculación con *R. intraradices* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum*) incrementó significativamente el valor SPAD, el cual se correlaciona con el contenido de clorofila y la absorción de nutrientes en comparación con las plantas testigo (Sims & Gamon, 2002). En otros estudios se ha reportado también que la inoculación con HFMA en maíz (*Zea mays*) y pimiento (*Capsicum annuum*) incrementó los pigmentos fotosintéticos comparado con testigos no inoculados (Sheng *et al.*, 2008; Díaz Franco *et al.*, 2013), lo cual puede deberse a que con la actividad simbiótica la planta presenta un mejor aprovechamiento de los nutrientes poco móviles o inmóviles del suelo (Clark *et al.*, 1999; Allen *et al.*, 2001).

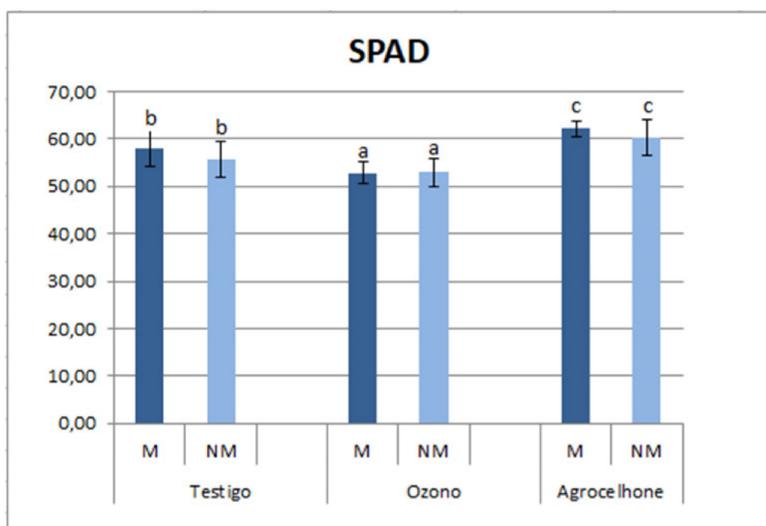


Figura 1: Índice de verdor medido con SPAD sobre hojas de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: testigo (sin aplicación); 1,3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro 1: Análisis de Varianza para SPAD - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	324,26	2	162,13	15,74	0,0000
B: Micorrización	0,64	1	0,64	0,06	0,8049
INTERACCIONES					
AB	0,14	2	0,07	0,01	0,9932
RESIDUOS	309,1	30	10,3033		
TOTAL (CORREGIDO)	634,14	35			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

▪ **Contenido de clorofila y carotenos**

El análisis de la varianza no mostró diferencias significativas en el contenido de clorofila ni en el de carotenos de los tratamientos realizados sobre plantas de berenjena (figuras 2 y 3; cuadros 2 y 3). Estos resultados serían inherentes al método empleado, ya que se determinaron en un único momento, en oposición a lo sucedido en este mismo experimento con las mediciones periódicas de índice de verdor donde sí se manifestaron diferencias significativas entre tratamientos. Zarco-Tejada *et al.* (2004) sostienen que en plantas sanas con alta capacidad de crecimiento, generalmente se espera que contengan concentraciones altas de clorofila, en relación con plantas poco saludables.

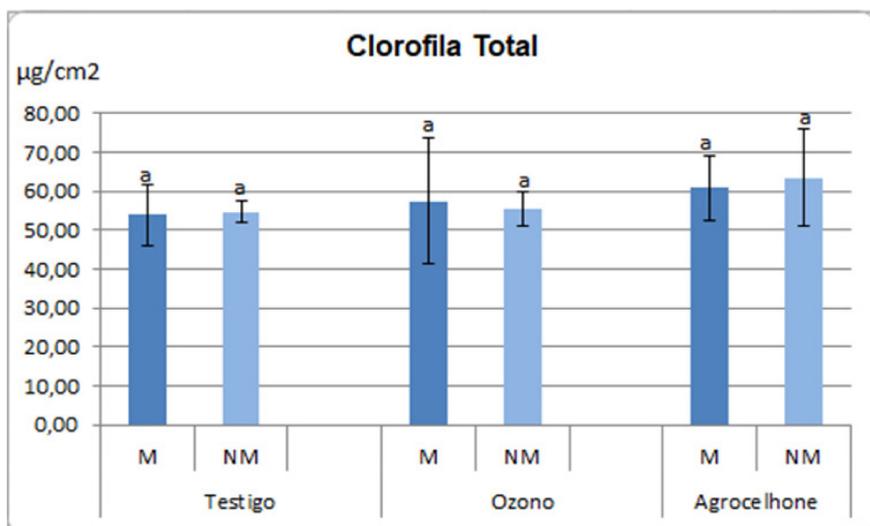


Figura 2: Contenido de clorofila de plantas de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro2: Análisis de Varianza para Clorofila Total - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	198,874	2	99,4371	1,05	0,3807
B: Micorrización	0,670482	1	0,670482	0,01	0,9344
INTERACCIONES					
AB	15,7918	2	7,89591	0,08	0,9207
RESIDUOS	1138,7	12	94,8915		
TOTAL (CORREGIDO)	1354,03	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

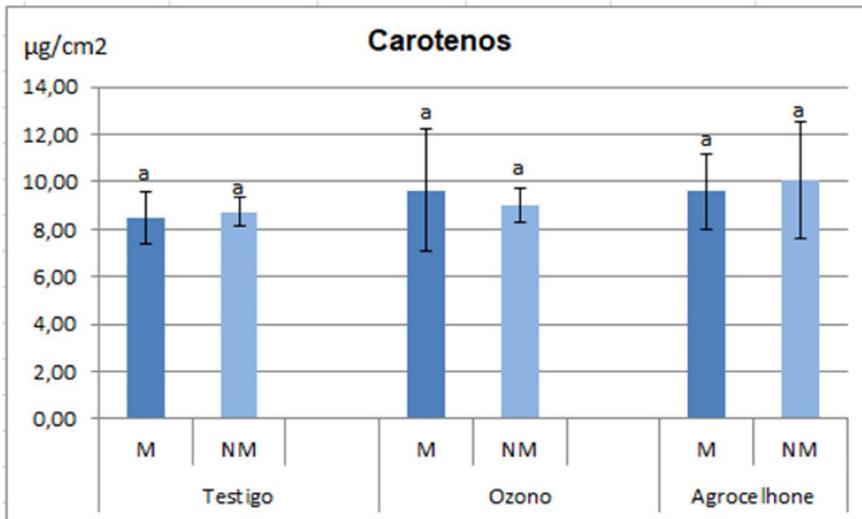


Figura 3: Contenido de carotenos de plantas de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro 3: Análisis de Varianza para Carotenos - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	4,54337	2	2,27169	0,79	0,4772
B: Micorrización	0,007688	1	0,007688	0,00	0,9597
INTERACCIONES					
AB	1,03674	2	0,518372	0,18	0,8377
RESIDUOS	34,6189	12	2,88491		
TOTAL (CORREGIDO)	40,2067	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

▪ Porcentaje de micorrización

Para determinar el porcentaje de raíces colonizadas por el hongo *R. intraradices*, se cuantificó el porcentaje de arbusculos, hifas y vesículas presentes dentro de la raíz, encontrándose

mayores porcentajes de estructuras del hongo inoculado en el testigo que en el tratamiento con agrocelhoney y ozono (tabla 1).

En general, se acepta que sólo una micorrización extensamente desarrollada y previa al ataque del patógeno, es capaz de incrementar la resistencia/tolerancia y compensar, por lo tanto, los daños causados a la planta (Cordier *et al.*, 1996 y Slezack *et al.*, 2000). Se puede inferir que en este ensayo las micorrizas demoraron en colonizar las raíces debido a que la inoculación se efectuó al trasplante, cuando por lo general se realiza a la siembra. Sin embargo, en otros trabajos donde se comparaba la efectividad de varios aislados de HFMA frente a un ataque de nematodos, no se encontró relación entre el grado de colonización y la protección proporcionada (Pinochet *et al.*, 1996).

Las infecciones radicales por nematodos patógenos son generalmente menores sobre plantas micorrizadas que sobre plantas no micorrizadas, pero la respuesta puede variar, y los mecanismos involucrados son controversiales (Paulitz & Linderman, 1991). Trabajos que demuestran el beneficio de la micorriza contra nematodos son presentados por Pinochet *et al.* (1995a) y Calvet *et al.* (1995). Otros (Pinochet *et al.* 1995b) no demostraron dicha reducción de la infección de nematodos. Paulitz y Linderman (1991), hallaron que el desarrollo de las micorrizas, expresado en porcentaje de germinación de esporas, desarrollo micelial y colonización de las raíces, se vio afectado por la presencia de nematodos formadores de agallas. Por lo contrario, Gómez *et al.* (2008) en un trabajo realizado en tomate donde los hongos formadores de micorrizas fueron introducidos al sistema sustrato-planta antes de que el hospedante fuera inoculado con *Meloidogyne incognita*, encontraron que dicho patógeno no produjo efecto negativo sobre el desarrollo de los hongos micorrícicos en las raíces del tomate. Se constató que en todas las plantas tratadas independientemente de la presencia de *M. incognita*, se obtuvo un alto número de raíces colonizadas.

Tabla1: Porcentaje de hifas (% H), arbuscúlos (% Ar) y vesículas (% V) en plantas de berenjena (*Solanum melongena* L.) inoculadas con *Rhizophagus intraradices*, con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, a los 219 días después del trasplante.

Tratamiento	% H	% Ar	% V
Testigo	46	16	4
Ozono	0	0	0
1, 3 dicloropropeno + cloropicrina	6	6	3

- **Conductividad relativa de hojas y de raíces**

En las figuras 4 y 5, se observa que los daños en las membranas celulares tanto de hojas como de raíces no superan el 33%, por lo que se puede considerar que no hubo daños significativos en estas estructuras. La permeabilidad selectiva de las membranas celulares puede verse afectada por diversos factores ambientales y situaciones de estrés, alterando la integridad celular y la capacidad de retención de sustancias intracelulares (Beltrano *et al.*, 2003).

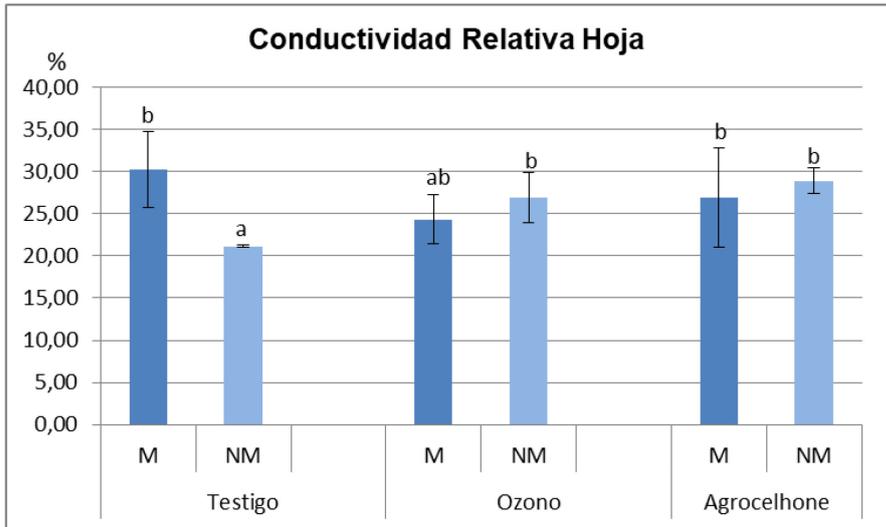


Figura 4: Conductividad medida en hojas de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro 4: Análisis de Varianza para conductividad de hoja – Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	20,6865	2	10,3432	0,82	0,4636
B:micorrizacion	10,4135	1	10,4135	0,83	0,3814
INTERACCIONES					
AB	130,114	2	65,057	5,16	0,0242
RESIDUOS	151,349	12	12,6125		
TOTAL (CORREGIDO)	312,564	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

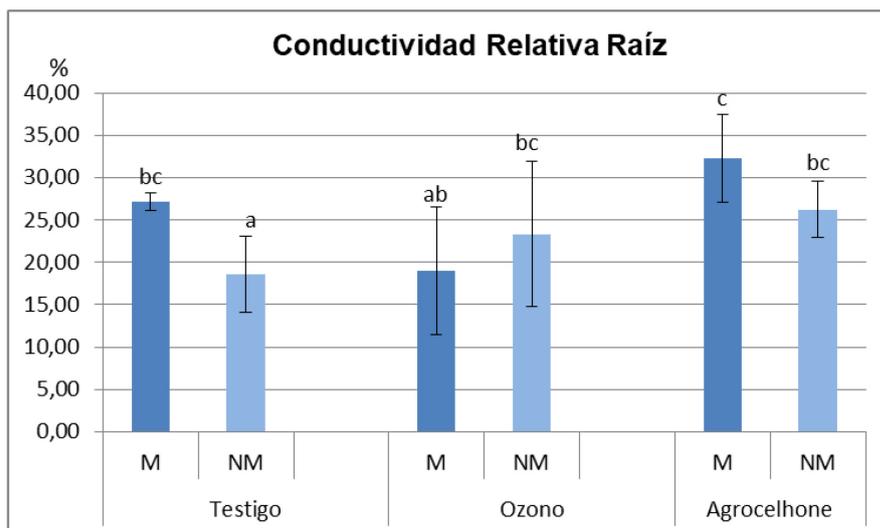


Figura 5: Conductividad medida en raíces de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro 5: Análisis de Varianza para conductividad de raíz - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	218,785	2	109,392	3,43	0,0664
B:micorrizacion	53,6959	1	53,6959	1,68	0,2190
INTERACCIONES					
AB	141,005	2	70,5025	2,21	0,1524
RESIDUOS	382,937	12	31,9115		
TOTAL (CORREGIDO)	796,423	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

▪ **Contenido de malonildialdehído (MDA)**

Al analizar el contenido de MDA en tejido foliar, no fueron observadas diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 6) (Figura 6).

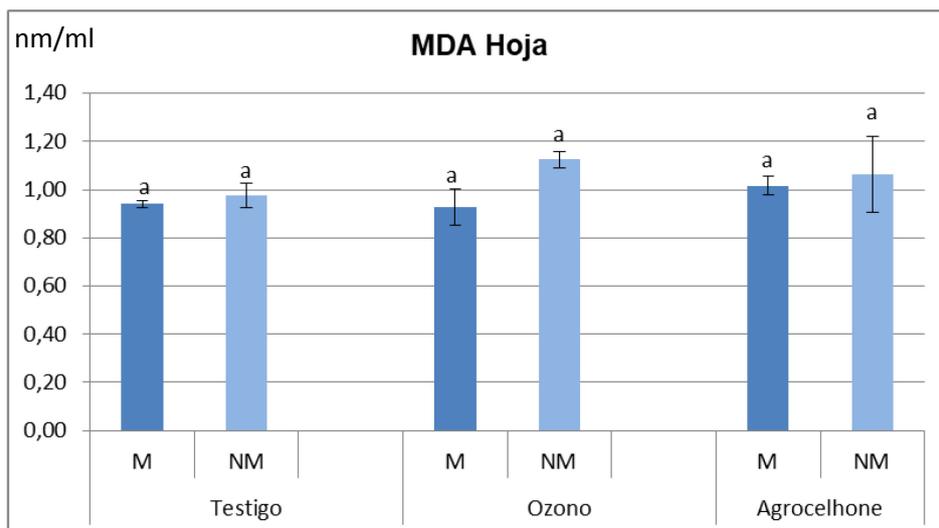


Figura 6: Contenido de MDA en hojas de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro 6: Análisis de Varianza para MDA de hoja - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamientos	0,0241501	2	0,0120751	0,90	0,4339
B:micorrizacion	0,0388276	1	0,0388276	2,88	0,1154
INTERACCIONES					
AB	0,0248154	2	0,0124077	0,92	0,4247
RESIDUOS	0,161751	12	0,0134792		
TOTAL (CORREGIDO)	0,249544	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Al analizar el contenido de MDA en raíces de plantas de berenjena se pudo observar que existen diferencias significativas entre los tratamientos y las plantas micorrizadas y no micorrizadas (figura 7 y cuadro 7). El contenido de MDA más alto se observó en el testigo NM, le sigue el tratamiento con agrocelhone NM, y con los valores más bajos se sitúa el tratamiento con ozono. Estas diferencias se deben posiblemente a que las raíces son las

primeras en ser expuestas al daño provocado por los nematodos y los diferentes tratamientos aplicados al suelo. El daño por el nematodo comienza con la ruptura de las células por el estilete, continúa con la disolución de las paredes celulares e induce cambios fisiológicos como consecuencia de la introducción de enzimas en el medio celular (Sijmons, 1993). El aumento en la peroxidación de los lípidos de las raíces en las plantas crecidas en presencia del nematodo, confirman el daño que, además de proporcionar un efecto negativo por afectar el funcionamiento normal de los tejidos, genera una predisposición de la planta al ataque de otros microorganismos también patógenos, contribuyendo a la caída de productividad del cultivo (Powell, 1972).

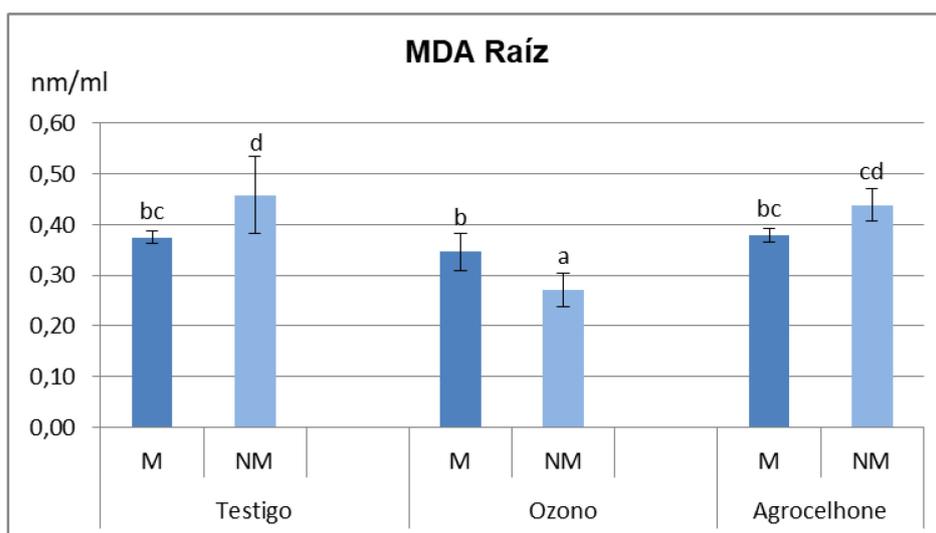


Figura 7: Contenido de MDA en raíces de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro 7: Análisis de Varianza para MDA de raíz - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamientos	0,0433788	2	0,0216894	13,33	0,0009
B:micorrizacion	0,0239805	1	0,0239805	14,74	0,0024
INTERACCIONES					
AB	0,000432333	2	0,000216167	0,13	0,8768
RESIDUOS	0,0195193	12	0,00162661		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0873109	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

▪ **Contenido de proteínas solubles**

El análisis de la varianza indica diferencias significativas entre los tratamientos (cuadro 8). El contenido de proteínas solubles es mayor en el tratamiento con agrocelhone, le sigue el ozono y el menor contenido corresponde al testigo (figura 8). No hay diferencias significativas entre las plantas inoculadas y no inoculadas (cuadro 8), posiblemente debido al tiempo que le toma al hongo colonizar la raíz y producir suficiente micelio externo para que la planta reciba su beneficio (Dodd, 1996). El contenido de proteínas foliares presentes en las plantas, se encuentra en estrecha relación con el nivel nutricional de las mismas, esto es debido a que una de las funciones fundamentales de los microorganismos inoculados, es estimular el desarrollo radical de las plantas, lo que posibilita una mayor exploración del sistema radical para una mejor absorción de nutrientes (Alfonso & Leyva Galán, 2006).

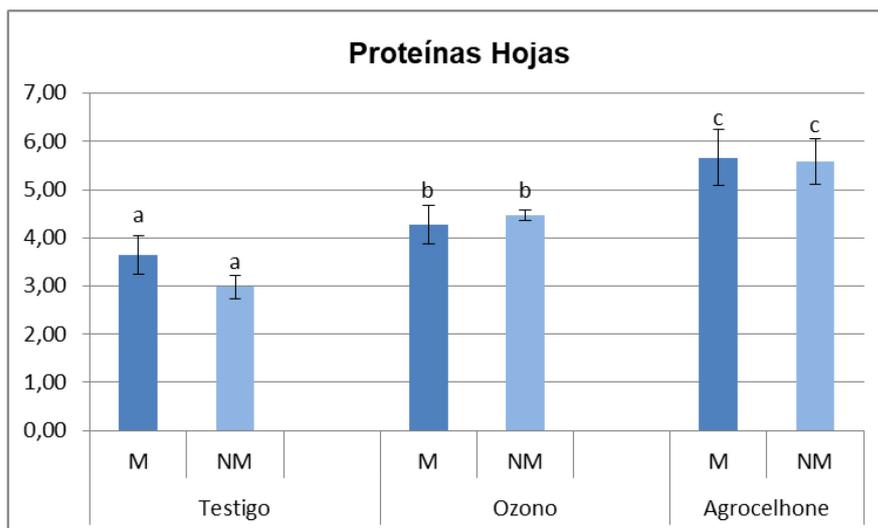


Figura 8: Contenido de proteínas solubles en hojas de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro 8: Análisis de Varianza para proteína de hoja - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamientos	16,0566	2	8,02828	50,88	0,0000
B:micorrizacion	0,157576	1	0,157576	1,00	0,3374
INTERACCIONES					
AB	0,580944	2	0,290472	1,84	0,2008
RESIDUOS	1,89359	12	0,157799		
TOTAL (CORREGIDO)	18,6887	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Respecto al contenido de proteínas en las raíces de las plantas de berenjena, el análisis de la varianza indica diferencias significativas entre tratamientos y entre plantas micorrizadas y no micorrizadas (figura 9 y cuadro 9). El contenido de proteínas fue mayor en el tratamiento con ozono micorrizado, seguido por el testigo tanto en plantas micorrizadas como no micorrizadas.

Los valores más bajos de proteínas solubles se encuentran en los tratamientos con 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y con ozono en plantas no micorrizadas. Estos resultados coinciden con lo investigado por Taylor & Sasser (1983), quienes estudiaron los efectos de la infección por nematodos en la fisiología del hospedero y determinaron que la infección por *Meloidogyne* trae un aumento en la producción de proteínas en las agallas, y un mal funcionamiento en el transporte de reguladores del crecimiento entre las raíces y el tallo, lo cual termina en una marcada reducción del crecimiento y desarrollo de las plantas.

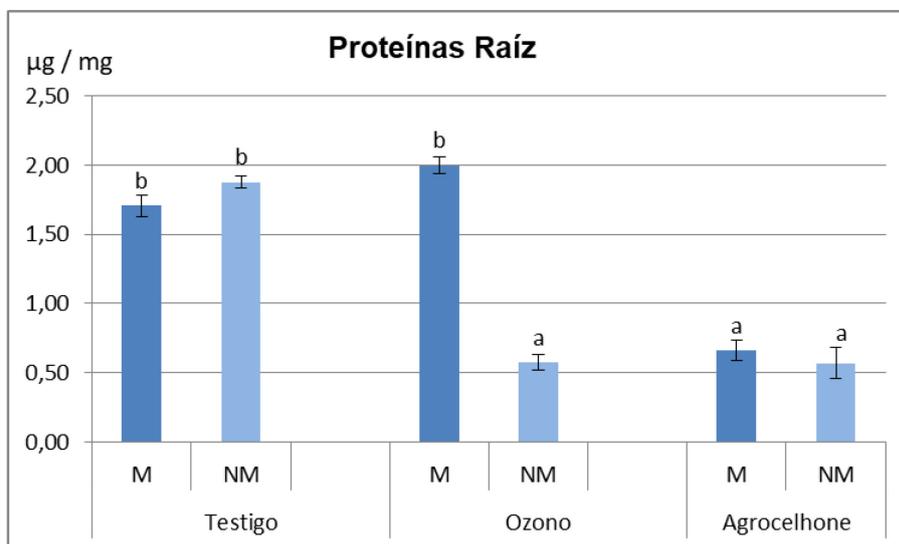


Figura 9: Contenido de proteínas de raíces en plantas de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro 9: Análisis de Varianza para proteína de raíz - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamientos	4,19261	2	2,09631	377,19	0,0000
B:micorrizacion	0,906396	1	0,906396	163,09	0,0000
INTERACCIONES					
AB	2,19859	2	1,0993	197,80	0,0000
RESIDUOS	0,0666929	12	0,00555774		
TOTAL (CORREGIDO)	7,3643	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

▪ **Contenido de prolina**

A partir del análisis de la varianza se observan diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento con agrocelhone y ozono y entre el tratamiento con agrocelhone y el testigo (cuadro 10). Los mayores niveles de prolina en los tratamientos con ozono y en el testigo (figura10), son probablemente una respuesta al daño causado por el patógeno en los tejidos. La prolina es un importante constituyente de defensa dentro del vegetal, ya que se ha demostrado su actuación en la protección de fosfolípidos de membranas (Samaras *et al.*, 1995), así como su participación en la fosforilación oxidativa para la generación de ATP donde ayuda en la compensación de los efectos negativos del estrés (Wyn & Gorham, 1983). Algunos autores proponen que el incremento de este aminoácido puede ser producido por la necesidad de la planta de eliminar el exceso de amoníaco producido y liberado en el medio celular (Amini & Ehsanpour, 2005). Cuando las plantas son sometidas a situaciones de estrés hídrico, activan determinados mecanismos fisiológicos a fin de evitar o tolerar esa situación adversa. Algunos de estos mecanismos son: 1) Aumento en la producción del gas etileno (Beltrano *et al.*, 1994); 2) Reducción en la síntesis de citocininas; 3) Cierre de estomas; 4) Senescencia foliar (Sánchez Díaz & Aguirreolea, 2000); 5) Ajuste osmótico (Prado, 1997). En este último mecanismo, los metabolitos como la prolina se acumulan, esto puede indicar también que las plantas están sometidas a estrés hídrico (Hare *et al.*, 1998; Peng *et al.*, 2008). La prolina tiene

un efecto protector de los tejidos ya que es una de las sustancias responsables de eliminar las especies reactivas de oxígeno, lo que facilita la corrección, por el organismo del potencial redox de las membranas, que generalmente es alterado en situaciones de estrés (Hasegawa *et al.*, 2000).

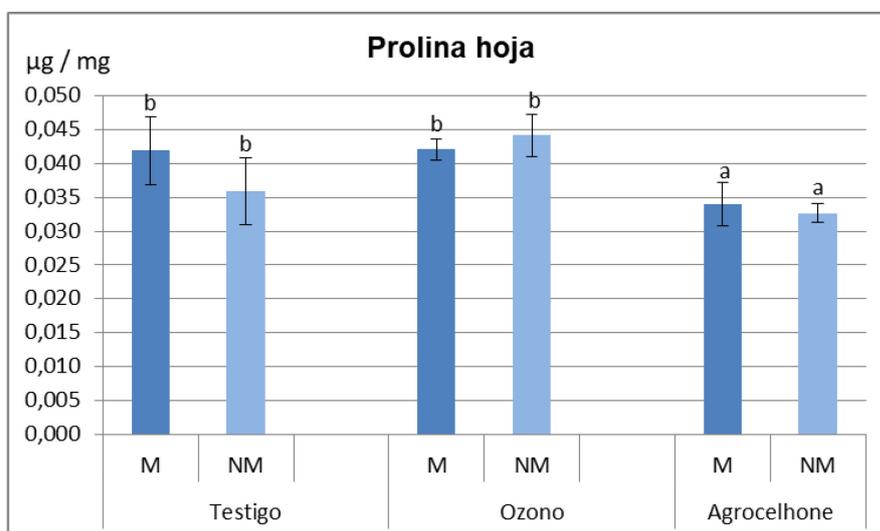


Figura 10: Contenido de prolina en hojas de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro10: Análisis de Varianza para prolina de hoja - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamientos	0,000289299	2	0,000144649	11,57	0,0016
B:micorrizacion	0,0000142222	1	0,0000142222	1,14	0,3072
INTERACCIONES					
AB	0,0000504653	2	0,0000252326	2,02	0,1757
RESIDUOS	0,000150083	12	0,0000125069		
TOTAL (CORREGIDO)	0,000504069	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

También se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto al contenido de prolina acumulado en raíces de berenjena (figura 11). Se pudo observar interacciones entre las plantas desarrolladas en el suelo tratado con agrocelhone y las plantas testigo, entre el tratamiento con agrocelhone y las plantas cultivadas en suelo tratado con ozono, entre los tratamientos con ozono y el testigo, y entre los tratamientos de suelo con ozono y con agrocelhone y la micorrización (Cuadro 11). En diversos trabajos se ha reportado la acumulación de prolina en plantas sometidas a varios tipos de estrés y que el aumento temporal de este compuesto es utilizado como un indicador metabólico de estrés (Shahba *et al.*, 2010).

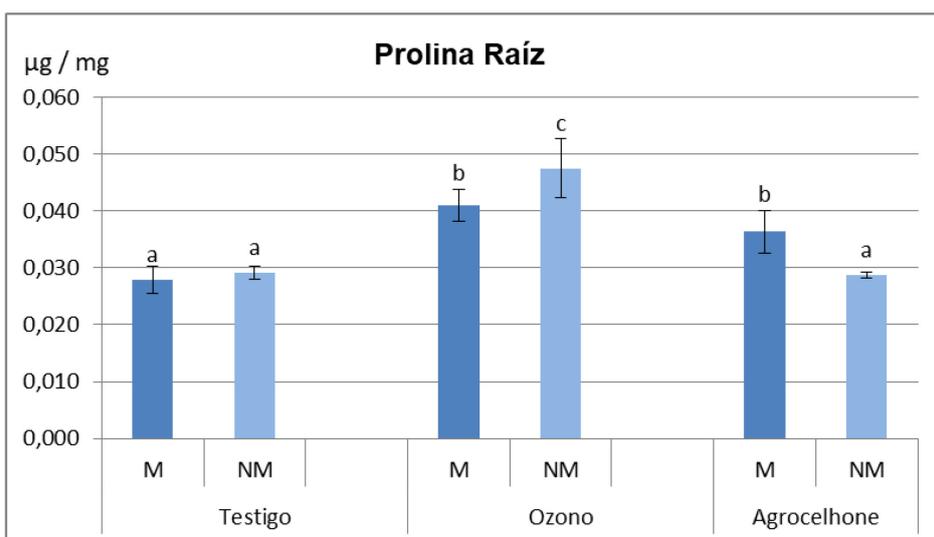


Figura 11: Contenido de prolina en raíces de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro 11: Análisis de Varianza para prolina de raíz - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamientos	0,000795111	2	0,000397556	43,90	0,0000
B:micorrizacion	2,22222E-7	1	2,22222E-7	0,02	0,8781
INTERACCIONES					
AB	0,000163111	2	0,0000815556	9,01	0,0041
RESIDUOS	0,000108667	12	0,00000905556		
TOTAL (CORREGIDO)	0,00106711	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

▪ **Peso fresco de raíz**

Respecto a este parámetro, el análisis de la varianza, que permite discriminar el efecto de cada factor y las interacciones entre ellos, mostró diferencias significativas en el peso fresco de raíces entre el testigo y el tratamiento con agrocelhone y entre el testigo y el tratamiento con ozono. No existieron, en cambio, diferencias estadísticamente significativas entre las plantas micorrizadas y las no micorrizadas (figura 12 y cuadro 12). El peso fresco de raíces fue mayor en el testigo. Estos resultados pueden ser explicados por la numerosa cantidad de agallas encontradas en las raíces producto de la hiperplasia e hipertrofia de las células, como consecuencia del parasitismo de *Nacobbus aberrans* (Shurtleff & Averre, 2000).

También existen, entre los antecedentes, referencias a una situación contraria a la verificada en el presente trabajo. Cabrera Hidalgo *et al.* (2015) trabajando en plantas de tomate, hallaron un incremento del 33.27% del peso fresco de la raíz, con la aplicación de DC + CP (300 L.ha-1) en comparación con las plantas control. Los mismos autores, en raíces de pepino midieron que el DC+CP proporcionó un ligero incremento en la biomasa de este órgano con ganancias menores al 5%, con relación al control.

En cuanto al tratamiento con ozono, Bucio Villalobos *et al.* (2016) encontraron que la aplicación de ozono en el agua de riego al inicio del cultivo de frutilla (*Fragaria × ananassa*

Duch), disminuyó inicialmente y de manera significativa las poblaciones de nematodos habitantes del suelo. Sin embargo, de acuerdo con la información presentada, esto no influyó sobre el crecimiento de las raíces y el follaje de las plantas; de hecho, ambos crecimientos se mantuvieron por debajo del mostrado en las plantas desarrolladas en la parcela tratada con metam sodio.

Contrario a lo evaluado en este trabajo en cuanto a los efectos de la micorrización, Gómez *et al.* (2008), estudiando una población cubana de *Meloidogyne incognita* en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill var. Vyta), pudieron apreciar un mayor peso radical en todas las plantas tratadas con micorrizas, incluyendo las inoculadas con nematodos. En cambio no se observaron diferencias significativas entre ellas.

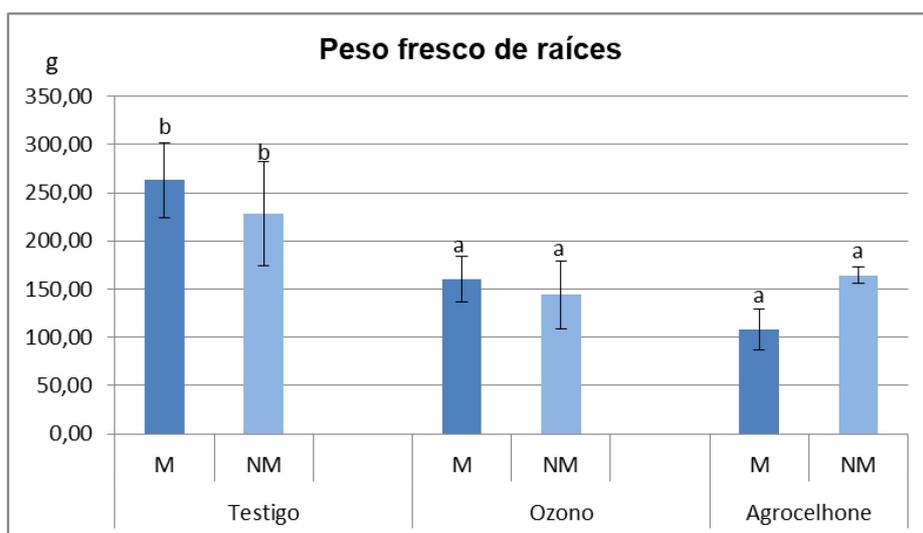


Figura 12: Peso fresco de raíces de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro 12: Análisis de Varianza para peso fresco de raíz - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tratamiento	41810,1	2	20905,1	18,69	0,0002
B: Micorrización	684,5	1	684,5	0,61	0,4492
INTERACCIONES					
AB	6241,0	2	3120,5	2,79	0,1012
RESIDUOS	13423,3	12	1118,61		
TOTAL (CORREGIDO)	62158,9	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

▪ **Número de huevos de nematodo por gramo de raíz**

De acuerdo al análisis de la varianza se observa que existen diferencias significativas en la cantidad de huevos de nematodos entre los tratamientos (figura 13 y cuadro 13). La reproducción del nematodo es afectada por diversos factores, tales como temperatura, disponibilidad de alimento, prácticas agrícolas, entre otros (Norton, 1978), por lo que los nematodos de las plantas control, al no tener algún factor crítico limitante, presentaron las máximas tasas de multiplicación. Lo contrario ocurrió en las poblaciones tratadas con dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone), que fue el tratamiento más efectivo en el control de *N. aberrans*. Estos resultados coinciden con los de un experimento realizado en papa (*Solanum tuberosum*) para estimar pérdidas por ataque del falso nematodo del nudo (*Nacobbus aberrans*), en el que se aplicó a un suelo infestado 1-3 D en mezcla con cloropicrina (Telone C- 17), y se logró un control eficiente aunque no total del nematodo en cuestión (Otazú *et al.*, 1985).

En concordancia con los resultados obtenidos en este ensayo, Cabrera Hidalgo *et al.* (2015) estudiando raíces de plantas de tomate, observaron que la mayor cantidad de nematodos se encontraba en las plantas control con 33 juveniles por gramo de raíz, y la menor cantidad, 9 juveniles por gramo de raíz, con el DC + CP.

En cuanto al tratamiento con ozono, Bucio Villalobos *et al.* (2016) evaluaron la eficacia del ozono disuelto en el agua aplicada como riego, para reducir las poblaciones de microorganismos habitantes del suelo en una plantación de frutilla (*Fragaria × ananassa* Duch) en comparación con metam sodio, fumigante utilizado como testigo regional de la comunidad Tamazula, México. Los autores obtuvieron diferencias estadísticas significativas al comparar la situación antes y después de la aplicación de los fumigantes en la población de nematodos. El metam sodio produjo una reducción mayor en las poblaciones de nematodos, llegando a disminuir hasta 4.8 veces la población inicial. En cambio, con el ozono las reducciones fueron de 1.9 veces. Estos resultados se aproximan a los obtenidos en este ensayo, donde el fumigante químico (1, 3 dicloropropeno + cloropicrina) resultó ser más efectivo que el ozono.

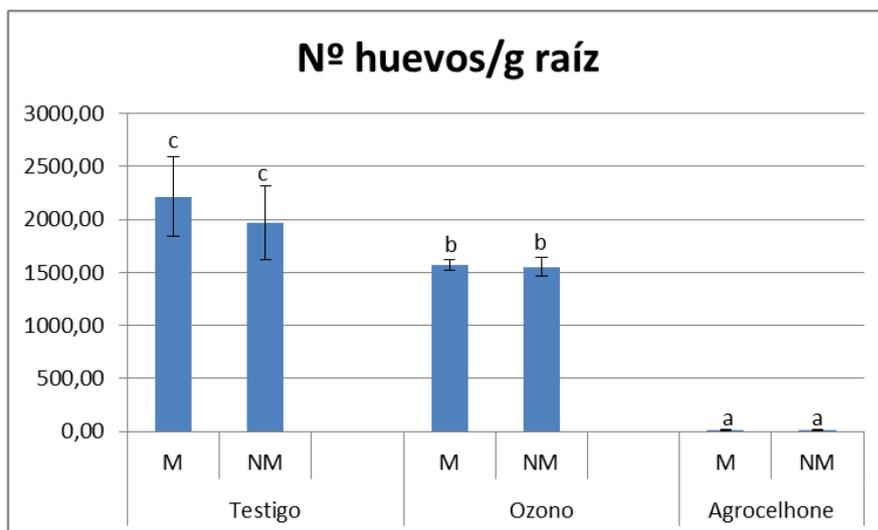


Figura 13: Número de huevos de nematodo contabilizados por gramo de raíz de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro 13: Análisis de Varianza para número de huevos de nematodo por planta- Suma de Cuadrados

Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:tratamiento	4,33163E11	2	2,16581E11	44,69	0,0000
B:micorrizacion	2,55315E9	1	2,55315E9	0,53	0,4819
INTERACCIONES					
AB	1,20629E9	2	6,03143E8	0,12	0,8841
RESIDUOS	5,81577E10	12	4,84648E9		
TOTAL (CORREGIDO)	4,9508E11	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

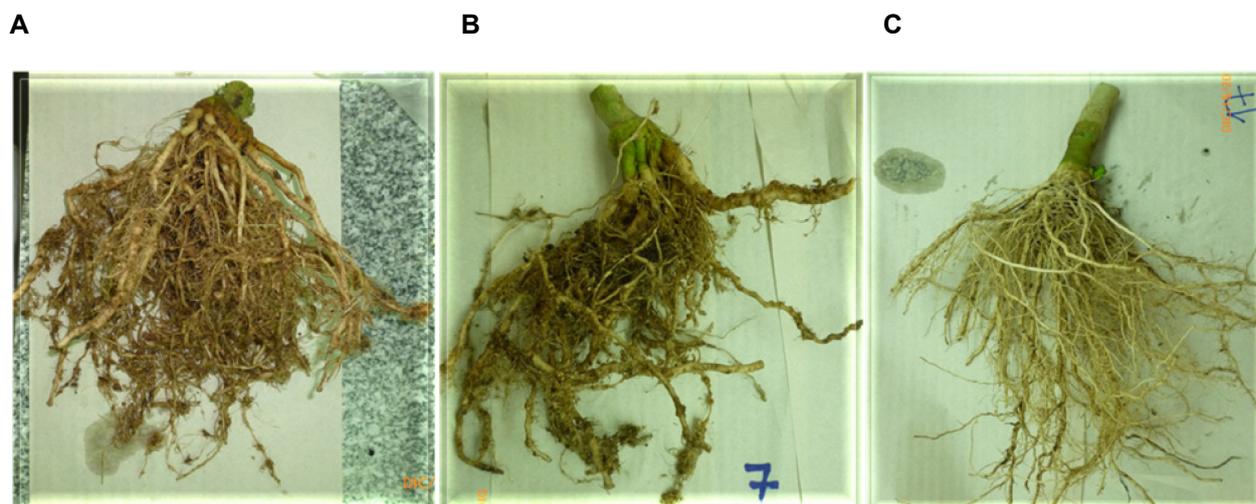


Foto 6: Raíces de berenjena no micorrizadas A) Testigo B) Ozono C) 1, 3 dicloropropeno +cloropicrina



Foto 7: Raíces de berenjena micorrizadas A) Testigo B) Ozono C)1, 3 dicloropropeno + cloropicrina

▪ **Determinación del rendimiento mediante la cuantificación del número y peso de los frutos.**

Se observa en la figura 14 un mayor rendimiento de frutos en el tratamiento con agrocelhone en comparación con el testigo y con el tratamiento con ozono. Resultados similares se encontraron en un ensayo realizado en México sobre plantas de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) cultivadas en un suelo infestado por *Nacobbus aberrans* y tratado con dicloropropeno + cloropicrina(300 L.ha-1). Cabrera Hidalgo *et al.* (2015) obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.0001$) en el rendimiento promedio de frutos por planta en comparación con el control. La aplicación de DC+CP incrementó la producción de frutos en un 38%. En tomate bajo invernadero, diferentes estudios enfatizaron las ventajas que tiene la inoculación micorrízica al incrementar la nutrición mineral, el tamaño de fruto y el rendimiento (Al-Karaki, 2006; Desgan *et al.*, 2008; Oseni *et al.*, 2010). No obstante, Corkidi *et al.* (2004) y Rodríguez *et al.* (2004), señalaron que la efectividad de la tecnología micorrízica en invernadero dependerá de la cepa del HFMA, la planta y las condiciones de su crecimiento.

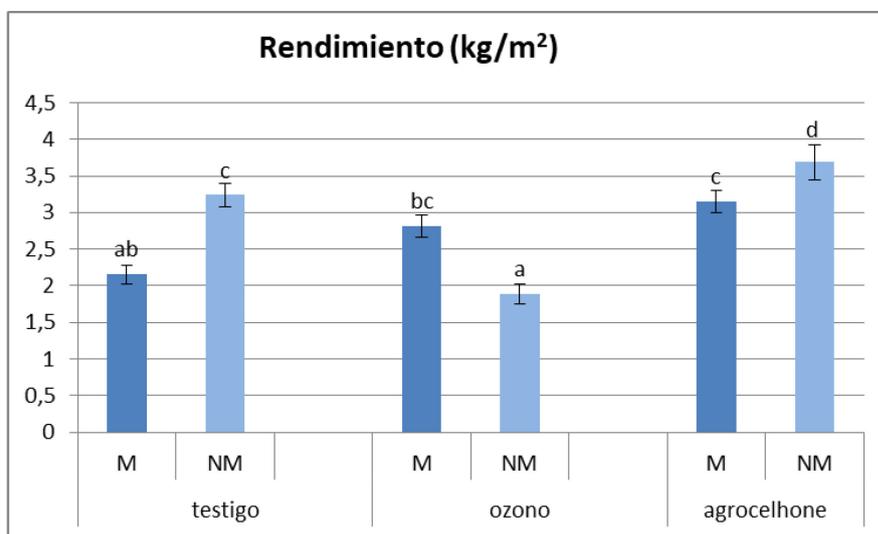


Figura 14: Rendimiento de berenjena (*Solanum melongena* L.) con distintos tratamientos de suelo: control (sin aplicación); 1, 3 dicloropropeno + cloropicrina (agrocelhone) y ozono, en plantas no inoculadas e inoculadas con *Rhizophagus intraradices*. Las barras indican la desviación estándar. Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas según LSD ($p < 0.05$).

Cuadro 14: Análisis de Varianza para rendimiento - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamiento	2,13893E7	2	1,06946E7	14,94	0,0000
B:micorrizacion	2,17396E6	1	2,17396E6	3,04	0,0861
INTERACCIONES					
AB	1,29693E7	2	6,48467E6	9,06	0,0003
RESIDUOS	4,72582E7	66	716034,		
TOTAL (CORREGIDO)	8,37908E7	71			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

CONCLUSIONES

-En coincidencia con la hipótesis, el parasitismo de *Nacobbus aberrans* afectó el crecimiento y el rendimiento de las plantas de berenjena (*Solanum melongena*).

-La inoculación al transplante con hongos micorrícicos arbusculares no fue efectiva para el portainjertos utilizado.

- La aplicación única de ozono al pretransplante del cultivo de berenjena (*S. melongena*) y la dosis utilizada no fue suficiente para disminuir significativamente la población del nematodo.

-La aplicación de dicloropropeno + cloropicrina redujo significativamente la población de *Nacobbus aberrans*.

COMENTARIOS FINALES

Si bien la aplicación de dicloropropeno + cloropicrina resultó favorable para el control de *N. aberrans* y se trata de un producto que no contribuye a la destrucción de la capa de ozono, su alta toxicidad ocasiona perjuicios. El dicloropropeno puede ser prohibido en un futuro por sospecharse su efecto negativo en la salud humana y los residuos de cloropicrina, líquido poco volátil, pueden resultar fitotóxicos para plantas hortícolas en suelos ácidos. Por estas razones,

se aconseja continuar indagando en alternativas para el control de nematodos, que sean más amigables con la salud de las personas y el medioambiente.

Con respecto a la utilización de ozono disuelto en el agua de riego para reducir las poblaciones de microorganismos, se sugiere realizar futuras investigaciones que permitan lograr una dosis óptima para obtener resultados satisfactorios, ya que se trata de una práctica novedosa sobre la que no se tiene información suficiente acerca de concentraciones.

En cuanto a la micorrización, un punto muy importante a considerar es que cuando las micorrizas están bien establecidas antes de que las plantas sean expuestas a los nematodos, el efecto negativo de los nematodos sobre los HFMA puede ser disminuido o incluso eliminado. Este aspecto es muy positivo si se tiene en cuenta que se puede introducir el simbionte en fases iniciales de la tecnología. Se recomienda la producción de plántulas en almácigo con sustratos libres de nematodos, para que de esta manera, la relación planta-hongo micorrícico se establezca antes de que las plántulas sean trasplantadas al campo, donde los nematodos pueden estar presentes.

BIBLIOGRAFIA

- Agroquímicos de Levante SA.** <http://www.agroproca.com/productos/documentacion/folletos/Agrocelhone%20124.3%20EC.pdf>. Último acceso: 6 de noviembre de 2016
- Alfonso, E.T. & Leyva Galán, A.** 2006. Evaluación agrobiológica de la coinoculación micorrizas-rizobacterias en tomate Agronomía Costarricense. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43630106> > ISSN 0377-9424. Último acceso: 8 de julio de 2017.
- Al-Karaki, G. N.** 2006. Nursery inoculation of tomato with arbuscular mycorrhizal fungi and subsequent performance under irrigation with saline water. *Sci. Hort.* 109:1-7
- Allen, B. L.; Jolley, V. D.; Robbins, C. W. and Freeborne, L. L.** 2001. Fallow versus wheat cropping of unamended and manureamended soils related to mycorrhizal colonization, yield and plant nutrition of dry bean and sweet corn. *J. Plant Nutr.* 24:921-943.

- Amini, F.; Ehsanpour, A. A.** 2005. Soluble proteins, proline, carbohydrates and Na⁺/K⁺ changes in two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars under in vitro salt stress. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology* .4:212-216.
- Argerich, C., & Troilo, L.** 2011. *Manual de Buenas Prácticas Agrícolas en la cadena de tomate* (No. Q02 ARG 18460). Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, Buenos Aires (Argentina) FAO INTA. 220 pp.
- Baixauli Soria, C. & Maroto Borrego, J. V.** 2016. Cultivos hortícolas al aire libre. Publicaciones Cajamar. Serie agricultura 13. Pp 509-532
- Barea, J.M., Azcón-Aguilar, C., Azcón, R.** 1996. Interactions between mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms within the context of sustainable soil-plant systems. En: *Multitrophic interactions in territorial systems*. (Gange, A.C., Brown, V.C. eds.) Blackwell, Oxford, UK. Pp 195-212
- Bates L.S., Waldren R.P. & Tease I.D.** 1973. Rapid determination of the proline for stress studies. *Plant Soil* 85: 107-129.
- Beltrano, J., Carbone, A., Montaldi, E. R., & Guiamet, J. J.** 1994. Ethylene as promoter of wheat grain maturation and ear senescence. *Plant Growth Regulation*, 15, 107-112.
- Beltrano, J., M. Ruscitti, C. Arango, L. Wahnam & M. Ronco.** 2012. Interacción fósforo-glifosato. Efecto sobre la producción y partición de shikimico en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) Inoculadas con hongos micorrizicos arbusculares. Actas de XXIX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal, Mar del Plata 17 al 20 de septiembre de 2012.
- Beltrano, J; Ronco, MG; Salerno, MI; Ruscitti, M; Peluso, O.** 2003. Respuesta de plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) micorrizadas en situaciones de déficit hídrico y de rehidratación del suelo. *Revista de Ciencia y Tecnología* 8:1-7.
- Boletín Hortícola** de la FCAYF. UNLP. 2007. año 12, Nro 37, Diciembre 2007 (2da etapa). Granitto, Georgina María. "El cultivo de berenjena en invernadero" P 16-20.
- Bradford, M. M.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248–254.
- Bucio Villalobos, C. M., Díaz Serrano, F. R., Martínez Jaime, O. A., & Torres Morales, J. J.** 2016. Efecto del ozono sobre la población microbiana del suelo y el crecimiento de plantas de fresa. *Revista Terra Latinoamericana*, 34(2), 229-237.
- Cabrera Hidalgo, A. J., E. Valadez Moctezuma, and N. Marbán Mendoza.** 2015. Effect of fluensulfone on the mobility *in vitro*, and reproduction and root galling of *Nacobbus aberrans* in microplots. *Nematropica* 45:59-71.
- Calvet, C., Pinochet, J., Camprubí, A., & Fernández, C.** 1995. Increased tolerance to the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* in mycorrhizal micropropagated BA-29 quince rootstock. *Mycorrhiza*, 5(4), 253-258.

- Cantrell, I. C., & Linderman, R. G.** 2001. Preinoculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. *Plant and Soil*, 233: 269-281.
- Censo Hortiflorícola de Buenos Aires 2005 (CHFBA '05).** Ministerio de Asuntos Agrarios y Ministerio de Economía de la Prov. de Buenos Aires. <http://www.estadistica.ec.gba.gov.ar/dpe/Estadistica/chfba/result.htm>
- Censo Nacional Agropecuario 2002 (CNA).** Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. http://www.estadistica.ec.gba.gov.ar/dpe/Estadistica/cuadros/primar/cna/definitivo/c12_tot.pdf
- Chaves, E. & Torres, M.S.** 2001. Nematodos parásitos de la papa en regiones productoras de papa semilla en la Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía* 21: 245-259.
- Clark, R. B.; Zobel, R. W. and Zeto, S. K.** 1999. Effects of mycorrhizal fungi isolates on mineral acquisition by *Panicum virgatum* in acidic soil. *Mycorrhiza* 9:167-176.
- Coolen, W. A.** 1979. Methods for the extraction of *Meloidogyne* spp. and other nematodes from roots and soil. pp. 317-329. En: *Root knot nematodes (Meloidogyne species) Systematics, Biology and Control.* (Lamberti, F. y Taylor, C. E., eds.) Academic Press, London.
- Cordier, C., Gianinazzi, S. y Gianinazzi-Pearson, V.** 1996. Colonisation patterns of root tissues by *Phytophthora nicotianae* var *parasitica* related to reduced disease in mycorrhizal tomato. *Plant Soil*. 185: 223-232.
- Corkidi, L.; Allen, E. B.; Merhaut, D.; Allen, M. F.; Downer, J.; Bohn, J. and Evans, M.** 2004. Assessing the infectivity of commercial mycorrhizal inoculants in plant nursery conditions. *J. Environ. Hort.* 22:149-154.
- Costilla, M.A., Ojeda, S. de & Gómez T. de.** 1981. Especies de *Meloidogyne* y *Nacobbus aberrans* atacando al tabaco en el noroeste argentino. IV Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Córdoba, Argentina. 19-21 de Agosto, 131-132 (Resumen).
- Costilla, M.A.** 1985. El falso nematodo del nudo *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 y su relación con el cultivo de papa en el Noroeste argentino. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 62, 79-97.
- Cristóbal, A.J., Cid del prado, I.V., Marbán-Mendoza, N., Sánchez, G.P., Mora- Aguilera, G. & Manzanilla, L.R.H.** 2001. Sobrevivencia de estadios biológicos de *Nacobbus aberrans* en condiciones de campo. *Nematropica* 31, 229-235
- Demir, S., & Akkopru, A.** 2005. Using of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for biocontrol of soil-borne fungal pathogens. *Biological Control of Plant Diseases: Current Concepts.* Chincholkar SB and Mukerji KG (Eds). *The Howarth Press Inc., Binghamton, NY, USA.* 17-37
- Desgan, Y. H.; Kusvaran, S. and Ortas, I.** 2008. Responses of soilless grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal (*Glomus fasciculatum*) colonization in re-cycling and open systems. *Afr. J. Biotech.* 7:3606-3613

- Díaz Franco A.; Alvarado, C. M.; Ortiz C. F. y Grageda, C. O.** 2013. Nutrición de la planta y calidad de fruto de pimiento asociado con micorriza arbuscular en invernadero. *Rev. Mex. Cienc. Agric.* 4:315-321.
- Dodd J. A.** 1996. Inter and intraspecific variations within the morphologically-similar arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae* and *Glomus coronatum*. *New Phytologist* 133:113-122.
- Doucet, M. E., & Lax, P.** 2005. El género *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 en Argentina. 6. La especie *N. aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Tylenchida) y su relación con la agricultura. In *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria* 59:5-45.
- Durán, L. F., Calderón, J., Cruz, A., Rivera, C., & Jiménez, J. I.** 2006. Evaluación de micorrizas y nematocidas orgánicos en el manejo del nematodo Agallador (*Meloidogyne* spp) en berenjena de exportación. Informe técnico. Programa de Hortalizas. Fundación hondureña de investigación agrícola. p. 104-111
- Facelli, E., Smith, S. E., & Smith, F. A.** 2009. Mycorrhizal symbiosis overview and new insights into roles of arbuscular mycorrhizas in agro-and natural ecosystems. *Australasian Plant Pathology*, 38(4), 338-344.
- Galindo, S. L. R.** 2006. Ozonoterapia, una opción para el sector agropecuario!!!. *REDVET*. 7(10), 1-16.
- Giovanetti, M. & B. Mosse.** 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular infection in roots. *New Phytol* 84:489-500.
- Gómez, L., Rodríguez, M., de la Noval, B., Ileana, M., & Hernández, M. A.** 2008. Interacción entre el Ecomic® y una población cubana de *Meloidogyne* incognita en tomate. *Revista de Protección Vegetal*, 23(2), 90-98.
- González, A. & Franco, J.** 1997. Los nematodos en la producción de semilla de papa. En: Producción de tubérculos-semillas de papa: manual de capacitación. Centro Internacional de la Papa (CIP). Fascículo 3.9, 13 pp.
- Hare, P. D., Cress, W. A., & Van Staden, J.** 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, cell & environment*, 21(6), 535-553.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., & Bohnert, H. J.** 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual review of plant biology*, 51(1), 463-499.
- Heath, R.L. & L.Packer.** 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives in Biochemistry and Biophysics* 125:189-198.
- Hoel, B.O., & Solhaug, K. A.** 1998. Effect of irradiance on chlorophyll estimation with the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Annals of Botany*, 82(3), 389-392.
- Lawande, K.E. & J.K. Chavan.** 1998. Eggplant (Brinjal). En: *Handbook of vegetable science and technology. Production, composition, storage and processing.* (Salunkhe D. K., Kadam S. S., eds.), New York. p. 225-244.

- Linderman, R. G.** 2000. Effects of mycorrhizas on plant tolerance to diseases. pp. 345-365. In *Arbuscular mycorrhizas: Physiology and function*. (Kapulnik, Y., Douds Jr., D.D. eds.), Springer Netherlands.
- Lutts, S., J.M. Kinet & J. Bouharmont.** 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L) cultivars differing in salinity resistance, *Ann. Bot.* 78: 389-398.
- Manzanilla-López, R.H., Costilla, M. A., Doucet, M., Franco, J., Inserra, R.N., Lehman, P. S., Cid del Prado, V. I., Souza, R. M. and Evans, K.** 2002. The genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): systematics, distribution, biology and management. *Nematropica*, 32(2), 149-227.
- Maroto Borrego, J.V.** 2002. Horticultura herbácea especial. 5º Edición. Mundi prensa. Madrid. 702 pp.
- Mitchell, D. T.** 1993. Mycorrhizal associations. In *Exploitation of microorganisms* (pp. 169-196). Springer Netherlands.
- Norton, D. C.** 1978. Ecology of plant-parasitic nematodes. John Wiley and Sons, Inc. United States of America. p 268
- Oseni, T. O.; Shongwe, N. S. and Masarirambi, M. T.** 2010. Effect of arbuscular mycorrhiza (AM) inoculation on the performance of tomato nursery seedlings in vermiculite. *Int. J. Agr. Biol.* 12:789-792.
- Otazú, V., Hoopes, R., Caero, G., & Huayta, I.** 1985. El rosario de la papa causado por *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne and Allen, 1944, su efecto en el rendimiento y algunos aspectos que inciden en su propagación y prevalencia en Bolivia. *Fitopatología*, 20, 65-70.
- Owens, J. H., Miltner, R. J., Rice, E. W., Johnson, C. H., Dahling, D. R., Schaefer III, F. W., & Shukairy, H. M.** 2000. Pilot-scale ozone inactivation of *Cryptosporidium* and other microorganisms in natural water. *Ozone: science & engineering*, 22(5), 501-517.
- Paulitz T & Liderman R.** 1991. Mycorrhizal Interactions with Soil Organism, Soil and Plants. In: Arora D, Rai B, Mukeyg K, Knudsen G, editors. *Handbook of Applied Micology*. N.Y: Mareel Dekker. p. 77-129.
- Peng, Y.L., Gao, Z.W; Gao, Y.; Liu, G.F.; Sheng, L.X. & Wang, D.L.** 2008. Eco-physiological characteristics of alfalfa seedlings in response to various mixed salt-alkaline stresses. *J. Integr. Plant Biol.*, 50: 29-39.
- Pérez Calvo, M.D. M.** 2010. Lavado de gases: tratamiento con ozono vía húmeda. Comunicación técnica. Congreso Nacional del Medio Ambiente 2010. Madrid. 11pp.
- Phillips, J.M. & D.S. Hayman.** 1970. Improved procedure of clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 159-161.

- Pinochet, J., Calvet, C., Camprubi, A., & Fernández, C.** 1995a. Interaction between the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* and the mycorrhizal association of *Glomus intraradices* and Santa Lucia 64 cherry rootstock. *Plant and Soil*, 170(2), 323-329.
- Pinochet J., Calvet C., Camprubi A. & Fernandez C.** 1995b. Growth and nutritional response of Nemared peach rootstock infested with *Pratylenchus vulnus* and the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Fundam. Appl. Nematol.*; 18(3):205-210.
- Pinochet, J., Calvet, C., Camprubi, A. & Fernández, C.** 1996. Interactions between migratory endoparasitic nematodes and arbuscular mycorrhizal fungi in perennial crops: A review. *Plant and Soil*. 185:183-190.
- Powell, M. T.** 1972. Interactions between nematodes and fungi in disease complexes. *Ann. Rev. Phytopathology*, 9:253 - 274.
- Prado, F. E.** 1997. Fisiología del estrés: respuestas de las plantas al ambiente. *Curso sobre fisiología de la quinua*. EPG UNA. Puno, Perú.
- Rodríguez, Y.; Noval, P. B.; Fernández, M. F. y Rodríguez, H. P.** 2004. Estudio comparativo del comportamiento de seis cepas de hongos micorrícicos arbusculares en su interacción con el tomate (*Lycopersicon esculentum*). *Ecol. Aplic.* 3:162-171.
- Ryan, N. A., Deliopoulos, T., Jones, P., & Haydock, P. P. J.** 2003. Effects of a mixed-isolate mycorrhizal inoculum on the potato-potato cyst nematode interaction. *Annals of applied biology*, 143(1), 111-119.
- Samaras, Y., Bressan, R. A., Csonka, L. N., Garcia-Rios, M. G., Paino, D., & Rhodes, D.** 1995. Proline accumulation during drought and salinity. In: N. Smirnoff (Ed.), *Environment and Plant Metabolism*, Bios Scientific Publishers, Oxford, pp. 161-187.
- Sánchez-Díaz, M., & Aguirreolea, J.** 2000. El agua en la planta. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Universidad de Barcelona, 17-30.
- Sánchez Portillo, 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 de *in vitro* e *in vivo*. Posgrado en fitosanidad. Instituto de Enseñanza e Investigación en ciencias agrícolas, Montecillo, Texcoco, México. 130 pp.
- SENASA.** 2006. Resolución 77-2006 <http://www.senasa.gov.ar/normativas/resolucion-77-2006-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria>. Ultimo acceso: 8 de noviembre de 2016.
- SENASA.** 2010. Resolución 934-2010 y Listado actualizado de principios activos al 2016. <http://www.senasa.gov.ar/resolucion-9342010-productos-agropecuarios>. Ultimo acceso: 8 de noviembre de 2016.
- Shahba, Z., A. Baghizadeh, A. Vakili Seid Mohamad, A. Yazdanpanah & Y. Mehdi.** 2010. The salicylic acid effect on the tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) sugar, protein and

proline contents under salinity stress (NaCl). *Journal of Biophysics and Structural Biology* 2: 35-41

Sheng, M.; Tang, M.; Chen, H.; Yang, B.; Zhang, F. and Huang, Y. 2008. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza* 18:281-286

Shurtleff, M.C. & C.W. Averre. 2000. *Diagnosing Plant Diseases Caused by Nematodes*. APS, USA

Sijmons, P.C. 1993. Plant nematode interactions. *Plant molecular biology*, 23: 917-931.

Sims, D. A., & Gamon, J. A. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote sensing of environment*, 81(2), 337-354.

Slezack, S., Dumas-Gaudot, E., Paynot, M. y Gianinazzi, S. 2000. Is a fully established arbuscular mycorrhizal symbiosis required for bioprotection of *Pisum sativum* roots against *Aphanomyces euteiches*? *Molecular Plant Microbiology Interaction*. 13: 238- 241.

Smith, S. E., & Read, D. J. 2008. Mineral nutrition, toxic element accumulation and water relations of arbuscular mycorrhizal plants. *Mycorrhizal symbiosis, 3rd edn. Academic, London*, 145-148.

Taylor, L.A. & Sasser, J. N. 1983. *Biología, identificación y control de los nemátodos de los nódulos radicales (especies de *Meloidogyne*)*. Universidad de Carolina del Norte. Traducido por Carlos Sosa- Moss. México. p 23.

Ustin, S.L., Smith, M.O., Jacquemoud, S., Verstraete, M.M., y Govaerts, Y. 1998. GeoBotany: Vegetation mapping for Earth sciences, in *Manual of Remote Sensing, Remote Sensing for the Earth Sciences*, edited by A. N. Rencz, 3rd ed., John Wiley, Hoboken, N. J. 3:189248.

Wellburn, A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*. 144:307-313.

Wyn, J. & Gorham, J. 1983. Physiological effects of salinity: scope for genetic improvement. In: *Improvement and management of winter cereals under temperature, drought and salinity stresses*. Proceeding of the International Symposium, Cordoba, Spain. P.177-201.

Zamudio, G. V., Carballo, Q. A. y Marban, M. N. 1987. Gama de hospedantes y evaluación de daño de *Nacobbus aberrans* en hortalizas comerciales. *Memorias del Congreso Nacional de Fitopatología*, Morelia, Michoacán, México. p.84.

Zarco-Tejada, P.J., Miller, J.R., Morales, A., Berjon, A. y Aguera, J. 2004. Hyperspectral indices and model simulation for chlorophyll estimation in open-canopy tree crops. *Remote Sens. Environ.* 90:463-476.