



Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Trabajo Final de Carrera Ingeniería Agronómica

“EFECTO DE LA BIOFUMIGACIÓN CON BRASSICÁCEAS SOBRE NACOBBUS ABERRANS EN PLANTAS DE TOMATE PLATENSE (*SOLANUM LYCOPERSICUM L. VAR. PLATENSE*)”

Alumna: Duarte Rolla, María Mercedes

DNI: 34.292.165

N° legajo: 26174/3

Mail: mech-@hotmail.com

Teléfono: 2214947865

Director: Ing. Agr. MSc. Sebastián Garita
sebastiangarita@hotmail.com

Co Director: Ing.Ftal. Dra. Marcela Ruscitti

La Plata, 3 de Septiembre de 2018

ÍNDICE

RESUMEN.....	3
INTRODUCCIÓN	4
Hipótesis	15
Objetivo general	15
Objetivos particulares	15
MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
Condiciones de cultivo	16
Tratamientos realizados	17
Parámetros evaluados	18
Análisis estadístico.....	20
RESULTADOS Y DISCUSION.....	20
CONCLUSIONES	26
BIBLIOGRAFÍA.....	26

RESUMEN

El nematodo del rosario, *Nacobbus aberrans*, puede ser considerado una de las plagas que más preocupación genera en los productores del Cinturón Hortícola Platense, siendo responsable de importantes pérdidas económicas. En las raíces de las plantas afectadas por este nematodo, se observa la presencia de agallas que limitan el transporte de agua y nutrientes, disminuyendo el crecimiento, el rendimiento e incluso provocando la muerte de la planta. Una alternativa a los fumigantes de suelo para el manejo de nematodos endoparásitos, es la incorporación de enmiendas orgánicas biofumigantes. Por tal motivo, es el objetivo de este trabajo, fue estudiar el efecto de la biofumigación con Brassicáceas sobre el nematodo *N. aberrans* en plantas de tomate platense. Para tal fin, se realizó un ensayo con un diseño factorial 2X3 completamente al azar con 5 repeticiones por tratamiento. Los tratamientos aplicados resultan de la combinación de los siguientes factores con sus correspondientes niveles: 2 condiciones de infestación con nematodos: plantas no inoculadas e inoculadas con *N. aberrans* y 3 niveles de residuo de repollo en el sustrato: 0 gr, 140 gr, y 280 gr por kg de sustrato. Se midieron semanalmente, la altura de las plantas, el índice de verdor y el número de hojas. A los 75 días después del trasplante, se determinó el peso fresco (PF) aéreo y radical, número de huevos totales de nematodo por planta, contenido de clorofila, malondialdehído (MDA), proteínas solubles, prolina y se contabilizaron y pesaron los frutos. Los datos se analizaron mediante ANOVA.

El PF, contenido de clorofila, altura de las plantas y cantidad y peso de los frutos, aumentó junto con la cantidad de repollo incorporada al suelo, sin verse influenciado por la presencia o ausencia del nematodo, exceptuando el número de frutos. Las proteínas en el tejido foliar se redujeron tanto por la incorporación de *Brassica* sp., como por la infestación con nematodos. En el tejido radicular, la concentración de proteínas aumentó

en los tratamientos con nematodos. El tiempo transcurrido entre la inoculación y las determinaciones fue insuficiente para que las plantas alcancen un nivel de estrés que pueda ser cuantificado a través de parámetros bioquímicos (prolina, MDA). El número de huevos y el factor de reproducción, disminuyó a medida que aumentó la concentración de repollo incorporada al sustrato. Se evidenció un aumento del crecimiento y rendimiento de las plantas de tomate biofumigadas.

INTRODUCCIÓN

La región hortícola del partido de La Plata es parte de un cinturón mayor que rodea a la ciudad de Buenos Aires. El cinturón del Gran Buenos Aires (GBA) abarca 15 partidos, con una superficie de más de 5.510 km². Esta gran superficie tiene su epicentro en la zona sur, que comprende los partidos de La Plata, Florencio Varela y Berazategui (Viteri *et al.*, 2013).

La superficie destinada a la producción de tomate en la provincia de Buenos Aires se incrementó en un 147% entre 1988 y 2002, mientras que en el resto de las provincias se mantuvo casi constante. La relevancia de la provincia se relaciona al crecimiento del Cinturón Hortícola Platense (Viteri *et al.*, 2013).

La Plata muestra una gran productividad, esto puede estar vinculado a la mayor dedicación de superficie bajo cubierta para tomate (Viteri *et al.*, 2013), siendo uno de los más importantes núcleos productivos de este cultivo en el país.

El tomate, (*Solanum lycopersicum*), (Foto1), pertenece a la familia de las Solanáceas, y es uno de los productos hortícolas más importantes por su consumo, superficie en producción y por la tecnología e investigación desarrollada en torno a él. Junto con la papa es el cultivo hortícola más difundido en el mundo, tanto por el volumen producido como por la superficie cosechada. Además, dado su alto contenido vitamínico,

se destaca por su alta calidad nutricional. Se consume en fresco, industrializado y en seco (Del Pino, 2017).



Foto 1: Planta de *Solanum lycopersicum L. var. platense*.

(Fuente: <http://hechoencomodoro.blogspot.com>)

Existe una gran cantidad de tipos culturales, variedades e híbridos en la actualidad, y año a año cambian, debido al mejoramiento permanente.

En Argentina, si bien es cultivado en todos los cinturones verdes, existen también zonas especializadas. Cuyo es la zona de producción de tomate para industria más importante, y con este destino también se produce en el Alto Valle de Río Negro y en el NOA (Salta y Jujuy). Para consumo en fresco, las zonas más importantes son el NOA (Salta y Jujuy), el NEA (Corrientes), Buenos Aires (La Plata, Berazategui, Florencio Varela y Mar del Plata), el Alto Valle de Río Negro y también Cuyo (Mendoza y San Juan). La superficie total cultivada de tomate en Argentina se estima en 17.800 ha (INTA, 2009).

El tomate es una planta herbácea, que se cultiva como anual. El porte de la planta es erecto, pero a cierta altura se torna decumbente. El sistema radicular principal es pivotante y profundo, puede llegar hasta 1,20 m de profundidad y está provisto de un

número elevado de raíces secundarias. También tiene la capacidad de formar raíces adventicias. El tipo de crecimiento es simpodial, y el tallo está conformado por una sumatoria de simpodios, cada uno con una cantidad determinada de hojas dependientes del cultivar, y una inflorescencia. Según el patrón de crecimiento de cada cultivar, determinado o indeterminado, este tallo puede alcanzar varios metros o tener una altura limitada. El fruto es de tipo baya, bi o plurilocular, que puede tener diferentes colores, formas y tamaños. El tomate es una especie sensible a heladas; las temperaturas por debajo de 0°C ocasionan daños en la parte aérea, y tiene un cero vegetativo de 6 a 8°C (también hay referencias de 10 °C). Es un cultivo de clima templado cálido, que se beneficia con temperaturas templadas. Las fluctuaciones de temperatura diurna-nocturna (termoperiodicidad), benefician su crecimiento y desarrollo. En general, esta fluctuación de temperatura diurna/nocturna es preferible que sea de 6 y 7°C (Del Pino, 2017).

En la década del '40 el tomate platense, *Solanum lycopersicum L. var. platense*, comienza a difundirse en la región. Esta variedad caracterizada por su sabor intenso, su forma irregular, achatada, acostillada o fuertemente lobulada; era el único tomate que se cultivaba en La Plata durante muchas décadas hasta la llegada de los paquetes tecnológicos fuertemente dependientes de insumos, adoptados a partir de fines de la década del '80, donde el tomate platense empieza a ser desplazado por el tomate híbrido, y sólo sobrevive gracias a un grupo de quinteros que lo conservaron por tradición. El tomate híbrido se siguió mejorando hasta llegar a las variedades larga vida genético y larga vida estructural (Garat, 2002; Garat *et al.* 2008)

Por otra parte, una demanda más segmentada, una mayor conciencia de lo que significa la pérdida de materiales genéticos con historia y adaptados a climas y suelos determinados, nos pone ante el desafío del rescate y la valorización de estas variedades (Garat, 2002).

La horticultura, en las últimas décadas, ha modificado radicalmente los sistemas productivos a raíz de la incorporación no sólo de cultivares mejorados e híbridos, como se mencionó anteriormente, sino también de invernaderos para cultivo bajo cubierta, riego por goteo, fertilizantes y agroquímicos, siendo estos últimos los principales responsables de los problemas socio-ambientales de la horticultura bonaerense, tal como lo muestra la presencia de residuos químicos en los productos cosechados y la contaminación de las aguas subterráneas (Bocer, 2002; Souza Casadinho & Bocero, 2008).

Según un extenso informe elaborado por la Defensoría del Pueblo de la Provincia de Buenos Aires (2015) y la Universidad Nacional de La Plata, en el Cinturón Hortícola Platense se detectan serios problemas ambientales y sanitarios debido al uso excesivo e indiscriminado de agroquímicos. Los análisis de suelo, aire y agua indican la presencia de principios activos en elevadas concentraciones, incluyendo algunos que se encuentran actualmente prohibidos como el Dieldrin y los DDTs. La aplicación de dosis elevadas y el incumplimiento de las normas respectivas al tiempo de carencia determinan que gran cantidad de hortalizas para consumo fresco lleguen al consumidor con niveles de productos fitosanitarios que exceden a las disposiciones legales vigentes (SENASA, 2006).

Nuestro país se encuentra en busca de alternativas para la sustitución del bromuro de metilo (BM) como fumigante y desinfectante de suelo, de acuerdo a lo establecido en el protocolo de Montreal en 1987, ratificado por Argentina en 1990, donde se acordó que este producto debía ser retirado del mercado en el año 2015 por tratarse de un gas que destruye la capa de ozono (Adlercreutz *et al.*, 2007). A esta circunstancia, se suma a la aparición de resistencia al mismo, la presión social por el acceso a alimentos más saludables (Gortari & Hours, 2016) y por el cuidado del medio ambiente. La suspensión de este fumigante compromete el control de importantes adversidades bióticas para los

cultivos de la región y destaca la importancia de rediseñar programas de manejo integrado.

El nematodo del rosario (Foto 2), *Nacobbus aberrans* (Thorne & Allen), puede ser considerado una de las plagas que más preocupación genera en los productores en la actualidad, ya que es responsable de importantes pérdidas en la producción de numerosos cultivos. Esta especie reúne una serie de características que la hacen diferente de otros nematodos del suelo. Entre ellas, se destaca su polifagia, un elevado potencial reproductivo y una notable capacidad de adaptación. Gracias a ello se encuentra ampliamente distribuido, abarcando diferentes regiones geográficas de nuestro país (Doucet & Lax, 2005). Constituye una de las adversidades bióticas más importantes en los cultivos bajo cubierta del Cinturón Hortícola Platense. El nematodo, *N. aberrans* provoca anualmente importantes pérdidas económicas en la región ya sea por la disminución en el rendimiento, o por el elevado costo de los fumigantes aplicados al suelo. Los datos formales sobre el daño económico causado por este nematodo son escasos. Un informe de INTA-Mar del Plata indica que los daños en tomate (*Solanum lycopersicon* L.) y pimiento (*Capsicum annuum* L.) bajo cubierta alcanzan el 40 % (Adlercreutz *et al.*, 2007) e investigadores mexicanos indican pérdidas en tomate del 80 % (Cristóbal *et al.*, 2006) y hasta la pérdida total del cultivo (Manzanilla-López *et al.*, 2002).



Foto 2: Juvenil de *Nacobbus aberrans*

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

Hasta el momento ha sido detectado en la Argentina, Chile, Bolivia, Ecuador, Perú, México y Estados Unidos (Lehman, 1985; CABI, 2002). Se vincula a una gama de hospedadores muy variada que comprende tanto a numerosos cultivos como a malezas (Manzanilla-López *et al.*, 2002). En las raíces de las plantas afectadas por este nematodo, se observa la presencia de agallas que se extienden a lo largo de la raíz (Manzanilla-López *et al.*, 2002). Las agallas provocan alteraciones morfológicas y fisiológicas, que derivan en la ruptura del xilema y el floema, limitando el transporte de agua, provocando déficit hídrico, cierre de estomas (Bird, 1974), y en consecuencia baja asimilación de CO₂, una disminución en la absorción de N, P, K, Ca y Mg (Cristóbal *et al.* 2001b), disminución del crecimiento, pérdidas del rendimiento e incluso la muerte de la planta (Castillo & Marbán-Mendoza, 1984; Inserra *et al.*, 1985).

Estas agallas son pequeñas en estadios iniciales de infección, separadas una de otras a manera de “rosario” y pueden estar vacías o contener hasta cinco hembras. Las agallas se forman por procesos de hiperplasia e hipertrofia que son inducidos por los nematodos para formar su sitio de alimentación (Cristóbal *et al.*, 2001b).

En hospedantes susceptibles se observa una reducción en el crecimiento apical lo que resulta en un severo achaparramiento de las plantas, clorosis, enrollamiento de las hojas y marchitamiento general si se acompaña de una deficiencia de humedad durante las horas de insolación (Jatala, 1985). En tomate y pimiento si la planta llega a la fructificación y maduración de frutos, éstos son pequeños, pierden firmeza, disminuyen su vida de anaquel (vida útil) y consecuentemente no tienen aceptación en el mercado (Cristóbal *et al.*, 2001a).

Dados los serios daños que ocasiona a la agricultura en general, se trata de una especie de importancia cuarentenaria (EPPO, 1984). Posee la capacidad de adaptarse a diferentes condiciones del medio lo que complica particularmente el manejo de sus poblaciones (Manzanilla-López *et al.*, 2002) En determinadas situaciones este nematodo puede pasar a un estado de anhidrobiosis, que le permite sobrevivir bajo condiciones de desecación del suelo por más de ocho meses, característica que dificulta su control (Sánchez Delgado, 2007).

Parte del ciclo de vida se desarrolla en el suelo y parte en los tejidos del hospedador. La duración del ciclo varía según la temperatura y la disponibilidad de alimento. En condiciones óptimas (22-24°C) puede oscilar entre 37 - 48 días (Costilla, 1985a).

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) (Doucet & Lax, 2005).

El ciclo comprende cuatro estadios juveniles y los adultos. El primer estadio (J1) se desarrolla en el interior del huevo. Luego de una muda, el segundo estadio juvenil (J2) que va a emerger al exterior. El J2 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 (J3) y cuarto estadio juvenil (J4). Posteriormente, darán lugar a un individuo filiforme: hembra inmadura (también llamada hembra joven) o a un macho. La hembra inmadura penetra en el interior de la raíz y se fija a 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 (Doucet & Lax, 2005).

Una vez fecundada, la hembra produce 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 mucilaginosa hasta que aparezcan condiciones ambientales favorables (Doucet & Lax, 2005).

En situaciones en las que la densidad de población es elevada resulta posible observar manchones en el cultivo. En esas zonas las plantas presentan escaso desarrollo, clorosis o marchitez. Esto es debido a la disminución de la capacidad de absorción de agua y nutrientes por parte de las raíces debido al ataque del nematodo.

El control de esta plaga se basa en el uso de desinfectantes de suelo (i.e. bromuro de metilo) y nematicidas químicos (Adlercreutz *et al.*, 2007). En nuestro país está prohibida la utilización de BM, por lo que hay que buscar alternativas de manejo, que deben ser eficaces, no impactar negativamente sobre el medio ambiente, ser económicas viables y socialmente aceptadas (Bello *et al.*, 2000).

La mayor consecuencia de la utilización del BM, es que no se retiene en su totalidad en el suelo, sino que del 50 al 95 % pasa en forma de emisiones gaseosas a la

estratosfera, donde se liberan átomos de bromo que reaccionan con el ozono y otras moléculas estables que contienen cloro, dando lugar a una reacción en cadena que contribuye a la disminución de la capa de ozono, incrementando la incidencia de rayos ultravioletas con los consecuentes riesgos para la salud y el medio ambiente (Thomas, 1997).

Como alternativa al BM y entre las prácticas de bajo impacto ambiental utilizadas para el manejo de nematodos endoparásitos, se pueden destacar, el uso de agentes biológicos como hongos nematófagos y micorrizas arbusculares (Puertas *et al.*, 2006), la solarización (Alcoser *et al.*, 2006), la incorporación de enmiendas orgánicas biofumigantes (Bongiorno *et al.*, 2009; Figueredo *et al.*, 2011) y la aplicación de aceites esenciales (Gupta *et al.*, 2011).

Se entiende como biofumigación, al proceso de degradación de la materia orgánica, el cual produce gases capaces de controlar los patógenos de los vegetales (Kirkegaard *et al.* 1993b; Bello, 1998) y ha sido incluido como una alternativa no química al BM por el "Methyl Bromide Technical Committee (MBTOC, 1997), perteneciente al Protocolo de Montreal. El anterior concepto de biofumigación que se aplicaba sólo a la emisión de isotiocianatos durante los procesos de descomposición de las brassicas y su efecto fungicida e insecticida (Kirkegaard *et al.* 1993a, b; Matthiesen & Kirkegaard 1993; Angus *et al.* 1994) se amplió a todas las materias orgánicas y residuos agroindustriales. Por otro lado, Stirling (1991), en una revisión sobre el control biológico de los nematodos parásitos de plantas, señala la importancia de la materia orgánica no solo por mejorar la fertilidad y estructura del suelo, sino también por su efecto tóxico sobre los nematodos fitoparásitos.

La eficacia de la biofumigación se incrementa cuando se incorpora dentro de un sistema de manejo integrado de cultivos (Bello 1998). Esta técnica puede ser de gran interés en países en vías de desarrollo debido al bajo costo y facilidad de aplicación

(MBTOC, 1998). Se observaron resultados favorables de su aplicación en cultivos de cucurbitáceas, pimiento, zanahoria, tomate, etc., obteniendo una eficacia similar a los agroquímicos convencionales, al mismo tiempo que incrementan los nematodos saprófagos, mejoran las características del suelo y la nutrición de la planta (Bello *et al.*, 2000).

La acción de los microorganismos sobre la materia orgánica durante su descomposición produce gran cantidad de productos químicos que pueden actuar en el control de los patógenos del suelo. El amonio, nitrato, ácido sulfhídrico y un gran número de sustancias volátiles y ácidos orgánicos pueden producir una acción nematicida directa, o afectar a la eclosión de los huevos, o la movilidad de los juveniles de nematodos; los fenoles y los taninos son también nematicidas a ciertas concentraciones (Mian *et al.*, 1982; Mian & Rodríguez-Kábana, 1982 a,b), por ello es difícil determinar con exactitud qué sustancia es responsable del control de los nematodos (Bello *et al.*, 2000).

De todos los productos químicos, obtenidos en la descomposición de la materia orgánica por la actividad de los microorganismos, que pueden tener acción nematicida, el amonio ha sido el mejor estudiado, aunque es difícil afirmar que un solo componente sea responsable de este efecto.

Díaz-Viruliche *et al.* (2000) estudiaron el efecto biofumigante de diferentes abonos verdes de plantas representativas de crucíferas, cucurbitáceas, gramíneas y leguminosas, y encontraron una eficacia superior al 90 % en el control de *Meloidogyne incognita*, mientras estudiaban el efecto biomejorador de los biominerales encontrados en las plantas estudiadas.

Por otra parte, Kirkegaard y Sarwar (1998) definen la biofumigación con abonos verdes de brasicáceas, como: "la supresión de organismos del suelo, patógenos de

plantas y otros patógenos, por compuestos biocidas originados de la hidrólisis de los glucosinolatos producidos durante la descomposición de los abonos verdes de *Brassica*" (Angus, *et al.* 1991; Kirkegaard, *et al.* 1996; Sarwar & Kirkegaard 1998; Sarwar *et al.* 1998). La eficacia de la biofumigación depende de varios factores, fundamentalmente de la especie de *Brassica* empleada, de la eficacia en la incorporación de los abonos verdes, de la actividad enzimática de la mirosinasa que es responsable de la hidrólisis de los glucosinolatos, de las pérdidas por volatilización, la adsorción por la arcilla, la pérdida por percolación y la degradación microbiana (Brown & Morra 1997).

Como ya se mencionó, el abono verde de brasicáceas se ha considerado supresor de organismos productores de plagas y enfermedades cuando se incorpora al suelo (Chan & Close 1987; Mojtahedi *et al.* 1991). Este efecto se atribuye por lo general a los isotiocianatos, que se han considerado como los productos más tóxicos (Brown & Morra 1997; Rose *et al.* 1997). Se originan a partir de la hidrólisis de los glucosinolatos, por la acción del enzima mirosinasa. Los glucosinolatos son inactivos contra microorganismos, pero los productos de hidrólisis son biocidas muy eficaces contra nematodos, bacterias, hongos, insectos y la germinación de semillas (Brown & Morra 1997; Rose *et al.* 1997; Smolinska *et al.* 1997). Como la mayoría son volátiles (Kirkegaard, *et al.* 1996), se utiliza el término biofumigación.

La técnica incrementa su eficacia en el tiempo cuando forma parte de un sistema de producción integrada. Se ha encontrado que, por lo general, cualquier materia orgánica puede actuar como biofumigante, dependiendo su eficacia principalmente de la dosis y del método de aplicación. Se ha demostrado que tiene la misma eficacia en el control de nematodos, hongos, insectos, bacterias y plantas adventicias que los pesticidas convencionales, pudiendo regular los problemas de virus al controlar los organismos vectores (Bello *et al.* 2000).

HIPÓTESIS

- La presencia de *Nacobbus aberrans* en el suelo y el parasitismo que se establece con las plantas de tomate, impide la correcta absorción de agua y nutrientes, afectando el crecimiento de las mismas.
- El parasitismo de *Nacobbus aberrans* determina en las plantas de tomate, condiciones de estrés, que pueden evaluarse a través de determinados parámetros bioquímicos y fisiológicos.
- La biofumigación con *Brassica oleracea*, libera compuestos biocidas que pueden afectar a los nematodos, disminuyendo el estrés generado en las plantas.

OBJETIVO

Estudiar el efecto de la biofumigación con *Brassica oleracea* sobre la supervivencia de *N. aberrans* en el suelo y su reproducción en plantas de tomate platense, y evaluar el efecto de esta práctica sobre el daño del nematodo en la planta.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Cuantificar la multiplicación y el daño de *N. aberrans* en raíces de tomate platense, en presencia y ausencia de residuos de *Brassica oleracea* en descomposición.
- Evaluar las respuestas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas que provoca el parasitismo por nematodos en plantas de tomate platense, en presencia y ausencia de residuos de *Brassica oleracea* en descomposición.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó en condiciones ambientales semicontroladas, en un invernadero del Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP). (Foto 3)



Foto 3: Plantas de tomate en invernáculo.

Condiciones de cultivo

Las semillas de tomate platense fueron sembradas en speedlings de 72 celdas, utilizando como sustrato una mezcla de perlita - vermiculita (1:1v/v). Periódicamente las plantas se regaron con solución nutritiva de Hoagland (Hoagland & Arnold, 1950).

Pasados 30 días de la siembra, se efectuó el trasplante a macetas de 10 L de capacidad, a las cuales se les incorporó *Brassica oleracea* var. *capitata* molida en chipeadora. El material incorporado fue mezclado, y la cantidad se colocó de acuerdo al tratamiento correspondiente. El día siguiente al trasplante se realizaron 3 orificios alrededor de las plantas donde se inoculó con una suspensión acuosa conteniendo 5000 huevos y juveniles de *N. aberrans* por maceta.

Tratamientos realizados

El ensayo tuvo un diseño factorial 2X3 (dos niveles de inoculación, por tres niveles de volumen de material biofumigante incorporado) completamente al azar con 5 repeticiones por tratamiento.

De esta forma quedaron definidos los siguientes tratamientos:

A- Plantas no inoculadas

- 1- Plantas con 0 gr de residuo de repollo por kg de sustrato.
- 2- Plantas con 140 gr de residuo de repollo por kg de sustrato.
- 3- Plantas con 280 gr de residuo de repollo por kg de sustrato.

B- Plantas inoculadas con *N. aberrans*

- 1- Plantas con 0 gr de residuo de repollo por kg de sustrato.
- 2- Plantas con 140 gr de residuo de repollo por kg de sustrato.
- 3- Plantas con 280 gr de residuo de repollo por kg de sustrato.

Parámetros evaluados:

A partir de 20 días después del trasplante (DDT) se midió semanalmente, la altura de las plantas, el índice de verdor con un medidor Minolta SPAD[®] (Minolta Co., Ltd., Japan), el número de hojas y se registró la fenología de las plantas.

A los 70 DDT se determinó

- Peso fresco (PF) aéreo y radical.
- Número de huevos totales de nematodo por planta, extraídos según la técnica de molienda, tamizado, centrifugación y flotación (Coolen, 1979) y un cociente entre:

N° de huevos totales presentes en raíz

N° de huevos inoculados

- *Estimación del contenido de clorofila y carotenoides*

El contenido de clorofila y carotenoides se determinó a partir de un disco de hoja de 0,5 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. Co, Japan). El cálculo del

contenido de pigmentos se realizó de acuerdo a Wellburn (1994) con las siguientes ecuaciones:

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

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

- *Contenido de malondialdehído (MDA)*

Se evaluó según el método de Heath & Packer (1968), como un indicador de la peroxidación de los lípidos de las membranas celulares. Se tomaron 200 mg de peso fresco de hoja y raíz, se maceraron con 1 mL de ácido tricloroacético al 0,1%, y luego se centrifugaron. A 1 mL de sobrenadante se le agregó 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 0,1 %. Esta mezcla se volvió a centrifugar y al sobrenadante se le agregó 1 ml del reactivo TCA-BHT-TBA (TCA 20%, ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,37% y butilhidroxitolueno (BHT) 0,01 g). Seguidamente, los tubos se incubaron durante 30 minutos a 95°C. Pasado este período, se introdujeron en un baño de hielo para enfriarlos y detener la reacción y luego se centrifugaron a 10.000 g durante 10 minutos. Finalmente, se separó el sobrenadante 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 de 155mM⁻¹ cm⁻¹:

$$\text{Equivalentes de MDA (n.mol.ml}^{-1}\text{)} = [(A532 - A600) / 155000] 106$$

- *Contenido de proteínas solubles*

El contenido de proteínas solubles se determinó a partir de 200 mg de la última hoja expandida 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 20 µl del sobrenadante y se

le agregó 1 ml del reactivo Bradford (Azul Brillante de CoomassieG-250 0,021% (p/v) etanol 4,7% (p/v) y ácido fosfórico 8,5% (p/v)) se agitó en vórtex 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, Siga Chemical Co).

- *Contenido de prolina*

Según el método de Bates *et al.* (1973), para la determinación de prolina se homogeneizaron, por separado, 100 mg de material fresco de hoja y 100 mg de raíz, con 2 ml de una solución al 3 % de ácido sulfosalicílico. El homogeneizado se centrifugó a 12000 g por 15 minutos. Se tomó 1 ml del sobrenadante y 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:

$$\mu\text{moles prolina.g}^{-1}\text{PF} = [(\mu\text{g prolina/ml} \times \text{ml tolueno})/115.5 \mu\text{g}/\mu\text{moles}] / [(\text{g PF})/5]$$

- *Número y peso de frutos por planta*

Al finalizar el ensayo, se procedió a recolectar los frutos, contarlos y pesarlos con balanza electrónica.

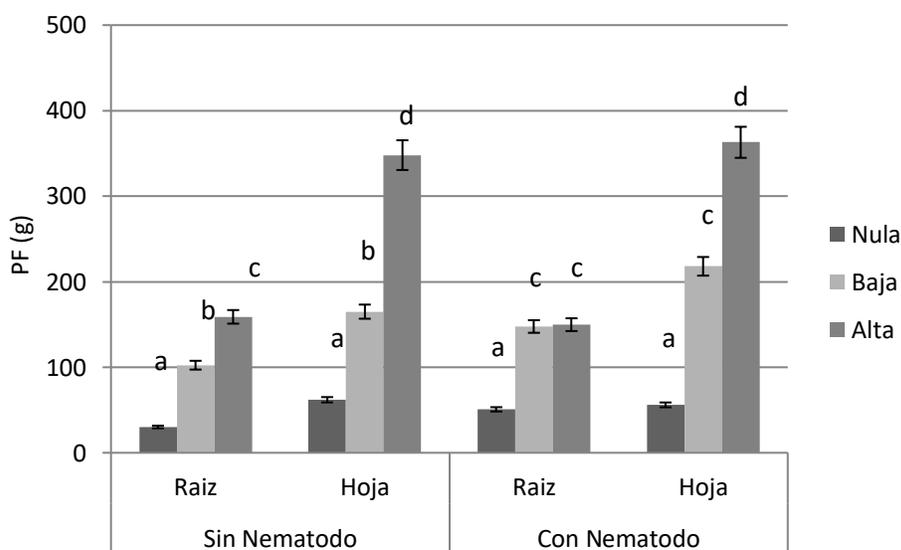
Análisis estadístico:

El ensayo se realizó siguiendo un diseño experimental completamente aleatorizado, con cinco repeticiones por tratamiento. Los datos se analizaron por ANOVA y las medias se compararon usando LSD ($p < 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar el crecimiento de las plantas, se observó que tanto en el crecimiento radicular como en el crecimiento aéreo, el peso fresco, aumentó de forma directamente proporcional a la cantidad de repollo incorporada al suelo, sin verse influenciado por la presencia o ausencia del nematodo (Figura 1).

Figura 1. Peso fresco de tejido radicular y aéreo en plantas de tomate con diferentes incorporaciones de *Brassica sp.* al sustrato: nula, baja y alta.



*Medias seguidas por la misma letra no difieren significativamente por el test de LSD de Fisher ($p < 0,05$)

En este trabajo, al igual que en el de Franco-Navarro *et al.*, 2002; se observó que la incorporación de residuos de brassica al momento del trasplante, favoreció el desarrollo

de las plantas de tomate independientemente de la presencia o ausencia de *N. aberrans* (Foto 4 y 5).

La incorporación de enmiendas orgánicas contribuye a un mayor crecimiento de las plantas, principalmente cuando se incorporan materiales cuyas relaciones C:N son bajas como sucede en el caso de la col, entre otras (Ritzinger & McSorley, 1998a, 1998b). El beneficio de las enmiendas puede ser directo, al aportar uno o más nutrientes o bien, indirecto, al mejorar varias propiedades físicas del suelo (Díaz-Viruliche *et al.*, 2000).

El crecimiento tanto radicular como foliar, de las plantas de tomate, no se vio influenciado por la presencia de nematodos. Aunque según lo expresado por Zamudio *et al.*, 1987; las plantas infectadas con *N. aberrans*, presentan un menor peso del follaje verde y raíces, en comparación con plantas libres de nematodos.



Foto 4 y 5: Raíz de tomate con nematodos y sustrato sin repollo (izquierda) y raíz de tomate con nematodos y doble concentración de repollo (derecha).

La misma tendencia fue observada en otro parámetro vinculado al crecimiento, como es el contenido de clorofila en las hojas (Tabla 1). El contenido del pigmento aumentó en la medida que se incrementó la cantidad de *Brassica sp.* incorporada al sustrato. Esto puede deberse, a que no sólo el repollo actúa como un biocida, sino también como una enmienda orgánica. En nuestro ensayo no se hallaron diferencias significativas en el contenido de clorofila entre los tratamientos inoculados y no inoculados. Esto resulta discrepante con el resultado esperable, ya que en plantas sanas con alta capacidad de crecimiento, generalmente se observan concentraciones más altas de clorofila, en relación con plantas poco saludables, según lo que sostienen Zarco-Tejada *et al.*, 2004.

Tabla 1. Contenido de Clorofila y Concentración de proteínas en tejido foliar y radicular.

Contenido de Brassica G	Nematodo	Clorofila $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	Proteínas en tejido foliar	Proteínas en tejido radicular $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$
0	Ausente	27,86 A*	7,55 B	0,73 A
140	Ausente	24,93 AB	5,05 A	0,74 A
280	Ausente	41,49 C	5,07 A	0,58 A
0	Presente	29,06 AB	4,21 A	0,83 B
140	Presente	37,33 BC	5,53 A	1,12 B
280	Presente	40,01 C	5,70 A	1,17 B

*Medias seguidas por la misma letra no difieren significativamente por el test de LSD de Fisher ($p < 0,05$)

En las mediciones de altura realizadas semanalmente, se observó que en el momento del trasplante y durante las primeras tres mediciones no había diferencia de altura entre las plantas. A partir de la cuarta medición las plantas que tenían *Brassica sp.* en el sustrato, independientemente de la inoculación o no con nematodos comenzaron a tener incrementos de altura significativamente mayores con respecto a las plantas no biofumigadas. A finalizar el ensayo las plantas más altas fueron aquellas que tenían 280 g.de repollo.Kg⁻¹ de suelo.

Si bien el principal objetivo de la incorporación de brassicáceas al sustrato es la liberación de compuestos con actividad biocida, hay otros beneficios que fueron

documentados y que han sido evidenciados en este trabajo. La incorporación de materia orgánica al suelo mejora la estructura del suelo y la penetración del agua (Kirkegaard & Matthiessen 2004), y cambia las propiedades físicas y químicas del suelo de tal manera que hacen el medio favorable para el desarrollo del cultivo (Chavarría-Carbajal & Rodríguez-Kábana, 1998; Ritzinger & McSorley, 1998a, 1998b), ya que es una provisión de nutrientes potencialmente disponibles para la planta. Por estos beneficios, a partir de la cuarta semana del ensayo cuando el material picado comenzó a degradarse, las plantas comenzaron a tener un mayor crecimiento en altura que las plantas testigo.

La concentración de proteínas en el tejido foliar se redujo tanto por la incorporación de *Brassica* sp. al sustrato, como por la infestación con *Nacobbus aberrans*. Esto resulta previsible, ya que un estrés biótico o abiótico activa una cascada de eventos tales como una reducción en el crecimiento celular, inhibición en la síntesis proteica y la represión y/o activación de la actividad enzimática (Marmioli *et al.*, 1993).

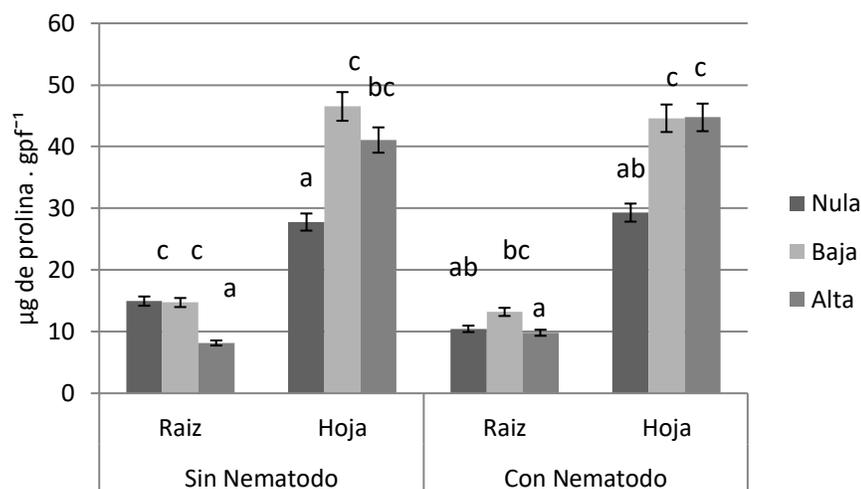
En el caso del tejido radicular, la concentración de proteínas aumentó significativamente en los tratamientos con presencia del nematodo (Tabla 1). Este aumento en la concentración de proteínas en plantas atacadas por nematodos, coincide con lo expuesto por Taylor & Sasser, 1983, que afirman que las raíces infectadas por *Meloidogyne*, presentan un metabolismo intermediario más acelerado en las agallas, especialmente en los sistemas de síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, por lo que hay mayor producción de proteínas y menor transporte de sustancias al resto de la planta.

Al evaluar el contenido de prolina en el tejido radicular y foliar (Figura 2), se observaron algunas diferencias entre tratamientos. Sin embargo los niveles encontrados de este metabolito no indican una concentración similar a aquella encontrada cuando plantas de tomate son sometidas a estreses en los que las raíces pierden su funcionalidad. En este trabajo la concentración máxima de prolina, fue de 1200 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en las hojas y de 358 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en las raíces. En contraste Ruscitti *et al.* (2015) sometieron

plantas de tomate a estrés hídrico y encontraron concentraciones mucho mayores (25000 $\mu\text{mol. g}^{-1}$ en tejido foliar y 8500 $\mu\text{mol. g}^{-1}$ en tejido radicular).

Del mismo modo, las concentraciones de malondialdehído (MDA) no manifestaron un daño importante de las membranas celulares pese a las diferencias encontradas entre tratamientos.

Figura 2. Contenido de prolina en tejido foliar y radicular en plantas de tomate con diferentes incorporaciones de *Brassica* sp. al sustrato: nula, baja y alta.



*Medias seguidas por la misma letra no difieren significativamente por el test de LSD de Fisher ($p < 0,05$)

El tiempo transcurrido entre la inoculación y las determinaciones realizadas fue suficiente para analizar lo ocurrido con la población del nematodo, sin embargo fue insuficiente para que las plantas alcancen un nivel de estrés que pueda ser cuantificado a través de parámetros bioquímicos. El hecho de que el ensayo haya sido realizado en un invernáculo con ventilación forzada y refrigeración controlada puede haber disminuido el estrés térmico al que las plantas son expuestas en los invernáculos de la zona.

Los tratamientos a los que se les incorporó *Brassica* sp. al sustrato, produjeron mayor cantidad y peso de los frutos. Según un trabajo de Franco-Navarro *et al.*, 2002, los

residuos de repollo, favorecen el crecimiento e incrementan la producción acumulada total y comercial de las plantas de tomate.

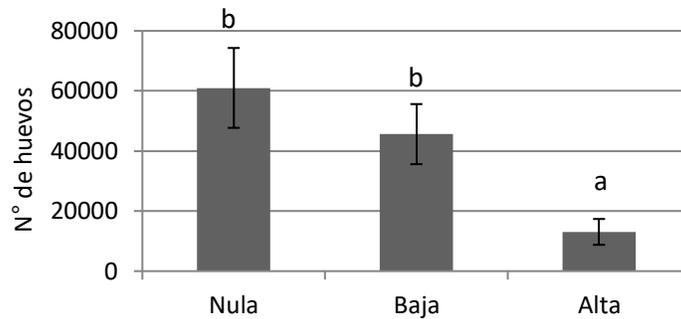
No se hallaron diferencias significativas en el peso de los frutos entre los tratamientos con y sin nematodos, mientras que la mayor cantidad de frutos se obtuvieron en los tratamientos con nematodos (Foto 6). Cristóbal *et al.*, 2001 indican que los frutos de las plantas de tomate y pimiento infectadas con nematodos, son pequeños, pierden firmeza, disminuye su vida útil, y consecuentemente no tienen aceptación en el mercado.



Foto 6: Tomates afectados por nematodos.

El número de huevos en raíces disminuyó a medida que aumentó la concentración de repollo incorporada al sustrato. La menor cantidad de huevos, se contabilizó en el tratamiento con 280 g de repollo.kg⁻¹ de sustrato (Figura 3).

Figura 3. Número de huevos contabilizados en raíces de tomate cultivadas con diferentes concentraciones de *Brassica* sp.



*Medias seguidas por la misma letra no difieren significativamente por el test de LSD de Fisher ($p < 0,05$)

Según el trabajo de Bello *et al.*, 2000, la acción de los microorganismos sobre la materia orgánica durante su descomposición produce gran cantidad de productos químicos que pueden actuar en el control de los patógenos del suelo. El amonio, nitratos, ácido sulfhídrico y un gran número de sustancias volátiles y ácidos orgánicos pueden producir una acción nematicida directa o afectar a la eclosión de los huevos o la movilidad de nematodos juveniles (Mian *et al.* 1982; Mian & Rodríguez-Kábana 1982 a,b).

La biofumigación logró disminuir el cociente entre el número de huevos totales presentes en la raíz y el número de huevos inoculados de 12,2, en el caso del tratamiento testigo, a 9,1 en el tratamiento con baja concentración de repollo y a 2,6 en el tratamiento con alta concentración. La biofumigación fue útil para reducir este cociente, aunque no suficiente, ya que el mismo está por encima de 1, por lo cual habría que sumar otra u otras técnicas que permitan alcanzar valores menores a 1 y evitar que la población final de nematodos sea mayor que la población inicial.

CONCLUSIONES

- El crecimiento de las plantas y la cantidad y peso de los frutos se incrementó significativamente cuando se incorporó repollo.
- Las plantas no alcanzaron un nivel de estrés que pueda ser cuantificado a través de las determinaciones bioquímicas realizadas.

- La biofumigación logró disminuir la población del nematodo, siendo la dosis de 280 g de repollo.kg⁻¹ de suelo la más efectiva.

BIBLIOGRAFIA

- Adlercreutz, E. A., E. Chaves, E. Mondino & A. Szczesny.** 2007. Fluctuación poblacional de juveniles del segundo estadio de *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne* sp. bajo condiciones de invernáculos. (Período Sept. 2004 / Oct. 2007). INTA. 2pp.
- Alcoser, H., J. Murguía-Cordova & C. Murguía.** 2006. Efectos de solarización y enmiendas orgánicas contra el nematodo del nudo *Meloidogyne incognita* bajo condiciones de vivero. *Universalía* 11 (1): 13-22.
- Angus, J. F; P. A. Gardner; J. A. Kirkegaard; J. M. Desmarchelier.** 1994. Biofumigation: Isothiocyanates released from Brassica roots inhibit growth of the take-all fungus. *Plant and Soil* 162, 107-112.
- Angus, J.F.; A.F. van Herwaarden; G.N. Howe.** 1991. Productivity and break-crop effect of winter growing oilseeds. *Aust.J.Exp.Agric.* 31, 669-677.
- Bates, L.S., R.P. Waldren & I.D. Tease.** 1973. Rapid determination of the proline for stress studies. *Plant Soil* 85: 107-129.
- Bello, A.** 1998. Biofumigation and integrated pest management. In: A. Bello; J. A. González; M. Arias; R. Rodríguez-Kábana (Eds). *Alternatives to Methyl Bromide for the Southern European Countries*. Phytoma España, DG XI EU, CSIC, Valencia, Spain, 99-126.
- Bello, A., J.A. López-Pérez & L. Díaz Viruliche.** 2000. Biofumigación y solarización como alternativas al bromuro de metilo. Dpto Agroecología, CCMA, CSIC. Serrano 115 dpdo 28006 Madrid.
- Bello, A., J.A. López-Pérez, R. Sanz, M. Escuer & J. Herrero.** 2000. Biofumigation and organic amendments. *Regional Workshop on Methyl Bromide Alternatives for North Africa and Southern European Countries*, United Nations Environment Programme (UNEP), Francia, pp.113-141.
- Bird, A. F.** 1974. Plant response to root-knot nematode. *Annual Review of Phytopathology* 12: 69-85.
- Bocer, S.L.** 2002. Cultivos protegidos y problemas ambientales: un estudio de la horticultura marplatense en la década del noventa. Tesis de Maestría, Facultad Latinoamericana de Ciencias Sociales, Universidad Nacional de Mar del Plata.
- Bongiorno, M., C. Larrosa, A. Maidana, M. Arenas, Y. Cruz, R. López, L. Gianuzzi & Cap, G.** 2009. Biofumigación con recursos locales: el caso de la producción hortícola de los quinteros del Parque Pereyra Iraola. *LEISA revista de agroecología*.
- 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.
- Brown, P.D. & M.J. Morra.** 1997. Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants. *Advan. Agron* 61: 167-231.

CABI. 2002. Crop protection compendium. CAB International, Wallingford, UK.

Castillo, P. G. & N. Marbán-Mendoza. 1984. Histopatología y desarrollo de *Nacobbus aberrans* Thorne & Allen 1944 en raíces de *Capsicum annuum* y *C. baccatum*. *Agrociencia* 56:85-93.

Chan M.Y.K.; R.C. Close. 1987. Aphanomyces root rot of peas. 3. Control by the use of cruciferous amendments. *N.Z.J.Agric.Res.* 30, 225-233.

Chavarría-Carvajal, J. A., & R. Rodríguez-Kábana. 1998. Changes in soil enzymatic activity and control of *Meloidogyne incognita* using four organic amendments. *Nematropica* 28:7-18.

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.

Costilla, M.A. 1985a. El falso nematode 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., I. Cid del Prado V., N. Marbán-Mendoza, G.P. Sánchez, G. Mora-Aguilera y L.R.H. Manzanilla. 2001. Sobrevivencia de estadios biológicos de *Nacobbus aberrans* en condiciones de campo. *Nematropica* 31:229-235.

Cristóbal, A.J., I. Cid del Prado, G.P. Sánchez, N. Marbán-Mendoza, R.H. Manzanilla-López & G. Mora-Aguilera. 2001. Alteraciones nutrimentales en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) por efecto de *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 31: 221-228.

Cristóbal, A. J., G. Mora-Aguilera, R. H. Manzanilla, N. Marbán-Mendoza, P. Sánchez, I. Cid del Prado & K. Evans. 2006. Epidemiology and Integrated control of *Nacobbus Aberrans* on Tomato in México. *Nematology* 8: 727-737.

Defensoría del Pueblo de la Prov. de Buenos Aires. 2015. Relevamiento de la utilización de agroquímicos en la Provincia de Buenos Aires.

Del Pino, M. 2017. Guía didáctica: Cultivo y manejo del cultivo de tomate. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Agrarias. Curso de Horticultura y Floricultura. pp 1-19.

Díaz-Viruliche, L.; A. Pinilla; J.A. López-Pérez; A. Bello. 2000. Biominerales y efecto biofumigante de los abonos verdes. XXXII Annual Meeting of the Organization of Nematologist of Tropical American (ONTA), April 16-20, 2000, Auburn, Alabama, USA. 51

Doucet, M. E. & P. Lax. 2005. El Género *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 en la Argentina. 6. La especie *N. aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Tylenchida) y su relación con la agricultura. *Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria.* Buenos Aires. Tomo LIX, pp. 5-14.

EPPO. 1984. EPPO data sheets on quarantine organisms: *Nacobbus aberrans*(Thorne) Thorne & Alien (*sensu lato*). *EPPO Bulletin* 14, 61-65.

Figueredo Rodríguez, M., A. Bello Pérez, A. Piedra Buena & M. Díez Rojo. 2011. Evaluación del uso de residuos agrícolas como biofumigantes en el control de nematodos. *Centro Agrícola* 38:15-19.

Franco-Navarro, F., I. Cid del Prado-Vera, E. Zavaleta-Mejía y P. Sánchez-García. 2002. Aplicación de enmiendas orgánicas para el manejo de *Nacobbus aberrans* en tomate. *Nematropica* 32:113-124.

Garat, J.J. 2002. Tomate platense en La Plata, Argentina. *Biodiversidad* pp. 19-21.

Garat, J.J., Castro A. & Nico A. 2008. Tomate uno: la recuperación y preservación del "tomate platense". *Infohuertas, Revista de Agricultura Urbana y Periurbana*. Boletín nro 21. <http://www.reddehuertas.com.ar/textos21a130/02102tomaeplatense.htm>

Gortari, M.C. & R.A. Hours. 2016. *Purpureocillium lilacinum* LPSC # 876: Producción de conidias en cultivos sobre sustratos sólidos y evaluación de su actividad sobre *Nacobbus aberrans* en plantas de tomate. *Rev. Fac. Agron.* Vol 115 (2): 239-249.

Gupta, A., S. Sharma & S. N. Naik. 2011. Biopesticidal value of selected essential oils against pathogenic fungus, termites, and nematodes. *Int Biodeter Biodeg* 65:703-707.

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.

Hoagland, D.R. & D.I. Arnold. 1950. The water culture method for growing plants without soil. *California Agriculture Experiment Station Circular* 347.

Inserra, R. N.; G. D. Griffin; J. L. Anderson. 1985. The false root-knot nematode *Nacobbus aberrans*. *Utah Agricultural Experiment Station*. Logan, Utah., USA. *Research bulletin* 510.

Jatala, P. 1985. El nematodo falso nodulador de la raíz: *Nacobbus aberrans*. Pp. 47-55 en *Fitonematología Avanzada I*. M. N. Marbán y J. I. Thomason, eds. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México, México.

Kirkegaard, J.A.; J.F. Angus; P.A. Gardner; H.P. Cresswell. 1993a. Benefits of brassica break crops in the Southeast wheatbelt. *Proc. 7th Aust. Agron. Cons.* Adelaide, 19-24 Sept., 282-285.

Kirkegaard, J. A.; J. Gardner; J. M. Desmarchelier; J. F Angus. 1993b. Biofumigation using Brassica species to control pest and diseases in horticulture and agriculture. In: N. Wrather; R. J. Mailes (Eds). *Proc. 9th Australian Research Assembly on Brassicas* (Wagga Wagga). 77-82.

Kirkegaard, J. A. & Matthiessen, J. N. 2004. Developing and refining the biofumigation concept. *Proceedings 1 st International Symposium of Biofumigation* Florence, Italy.

Kirkegaard, J.A.; M. Sarwar. 1998. Biofumigation potential of brassicas: I. variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. *Plant and Soil* 201, 71-89.

Kirkegaard, J.A.; P.T.W. Wong; J.M. Desmarchelier. 1996. In vitro supression of fungal root pathogens of cereals by Brassica tissues. *Plant Pathol.* 45, 593-603.

Lehman, P.S. 1985. *Nacobbus*, the false root-knot nematode. *Nematology Circular* 119, 4pp.

Lutts, S., J.M. Kinet & J. Bouharmont. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differin in salinity resistance, *Ann. Bot.* 78: 389-398.

Manzanilla-López, R.H., Costilla, M.A., Doucet, M., Franco, J., Insera, R.N., Lehman, P.S., Cid del Prado-Vera, I., Souza, R.M. & Evans, K. 2002. The genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): Systematics, distribution, biology and management. *Nematropica* 32:149-227.

Marmioli, N; Pavesi, A; Di Cola, G; Hartings, H; Raho, G; Conte, MR; Perrotta, C. 1993. Identification, characterization and analysis of cDNA and genomic sequences encoding two different small heat shock proteins in *Hordeum vulgare* L. *Genome* 36: 1111-1119.

Matthiesen, J. N.; J. A. Kirkegaard. 1993. Biofumigation, a new concept for 'clean and green' pest and disease control. *Western Australian Potato Grower* October, 14-15.

MBTOC. Assessment of the Alternatives to Methyl Bromide. United Nations Environment Programme. 1998, Nairobi: 358pp.

Mian, I. H.; G. Godoy; R. Rodríguez-Kábana; G. Morgah-Jones. 1982. Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. *Nematropica* 12, 71-84.

Mian, I. H.; R. Rodríguez-Kábana. 1982a. Soil amendments with oil cakes and chicken litter for control of *Meloidogyne arenaria*. *Nematropica* 12, 205-220.

Mian, I. H.; R. Rodríguez-Kábana. 1982b. Organic amendments with high tannin and phenolic contents for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. *Nematropica* 12, 221-234.

Mojtahedi, H; G. S. Santo; A.N. Hang; J.H. Wilson. 1991. Suppression of root-knot nematode populations with selected rapeseed cultivars as green manure. *J. Nematol.* 23, 170-174.

Puertas, A., B.M. de la Noval, B. Martínez, I. Miranda, F. Fernández & L. Hidalgo-Díaz. 2006. Interacción de *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* con *Rhizobium* sp., *Trichoderma harzianum* y *Glomus clarum* en el control de *Meloidogyne incognita* Rev. Protección Veg. Vol. 21 No. 2: 80-89

Ritzinger, C. H. S. P., & R. McSorley. 1998a. Effect of fresh and dry organic amendments on *Meloidogyne arenaria* in greenhouse experiments. *Nematropica* 28:173-185.

Ritzinger, C. H. S. P., & R. McSorley. 1998b. Effect of castor and velvetbean organic amendments on *Meloidogyne arenaria* in greenhouse experiments. Supplement of the *Journal of Nematology* 30:624-631.

Ruscitti, M., S. Garita, M. C. Arango & J. Beltrano. 2015. Inoculación con aislamientos seleccionados de hongos vesículo-arbusculares como alternativa para moderar el estrés hídrico en plantas de tomate platense bajo condiciones de invernáculo. *Rev. Fac. Agron.* Vol 114 (2): 219-229.

Sánchez Delgado, G.A. 2007. Comportamiento de las principales variedades comerciales de tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum* Mill) al parasitismo de los nematodos "nudo de la raíz" (*Meloidogyne incognita*) y "rosario de la raíz" (*Nacobbus aberrans*) en Ibarra-Imbabura. Tesis de Ingeniero Agropecuario.

SENASA. 2006. Resolución 77-2006. <http://www.senasa.gov.ar/normativas/resolucion-77-2006-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria>. Ultimo acceso: mayo de 2016.

Souza Casadinho, O.J. & S.L. Bocero. 2008. Agrotóxicos: condiciones de utilización en la horticultura de la Provincia de Buenos Aires (Argentina). *Revista Iberoamericana de Economía Ecológica*. 9:87:101.

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. Pp. 23.

Viteri, M.L., G. Ghezán & D. Iglesias. 2013. Tomate y lechuga: producción, comercialización y consumo. Estudio socioeconómico de los sistemas agroalimentarios y agroindustriales. Área Estratégica de Economía y Sociología. Proyecto Propio de la Red Competitividad de las Cadenas Agroalimentarias y Agroindustriales. INTA. Pp. 52-54.

Wellburn, AR. 1994. The spectral determination of chlorophylls A and B, as well as Total carotenoids, using various solvents with Spectrophotometers of different resolution. *J. Plant. Phys.* Vol. 144:307-313.

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. Pp. 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.