

## Utilización de *Bacillus thuringiensis* para el control de *Meloidogyne incognita*

Marisel León Sánchez (1), Luz María Samaniego Fernández (2), Rubén C. Rodríguez Barrera (1), Ramón Liriano González (2)

(1) Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal (LAPROSAVE), Matanzas, Cuba.

(2) Universidad "Camilo Cienfuegos" de Matanzas, Matanzas, Cuba.

E-mail: [ramon.liriano@umcc.cu](mailto:ramon.liriano@umcc.cu)

---

**RESUMEN.** El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es considerado como una de las hortalizas más susceptibles a los daños por nematodos. Estimados mundiales de finales de la década pasada, indicaron un promedio de 20,9 % de pérdidas. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la efectividad de ocho cepas de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) para el control del fitonematodo *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919); (Chitwood, 1999) en el cultivo del tomate, para lo cual se montó un experimento en condiciones *in vitro* en el área de nematología del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal (LAPROSAVE), y un experimento en condiciones de producción que se ejecutó en cuatro Casas de Cultivo de la UBPC Mocha, sobre un suelo ferralítico rojo para el tomate variedad Aro 84-84. Los resultados obtenidos mostraron que todas las cepas de *B. thuringiensis* Berliner evaluadas "*in vitro*" manifestaron efectividad en la reducción de la eclosión de las larvas de *M. incognita*. De las dosis de *B. thuringiensis* evaluadas, la de 30 L/ha resultó ser la más efectiva en condiciones de producción.

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, *Meloidogyne incognita*, tomate.

**ABSTRACT.** The tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) is considered one of the vegetables more susceptible for the damage by nematodes. World estimates from the ending of the past decade indicate a range of 20 % of losses. The objective of this report is to evaluate the efectivity of 8 stumps of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) for the control of the fitonematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919); (Chitwood, 1999) did an experiment on tomato *in vitro* in the area of nematology in Province Laboratory of Vegetable Sanitation (LAPROSAVE) and another experiment in production conditions, executed in four Culture Houses of the UBPC Mocha on red ferralitic soil in tomato, variety Aro 84-84 evaluated *in vitro* that showed efectivity in the reduction of larvae eclosion of *M. incognita* (Kofoid and White, 1919); (Chitwood, 1999) . The evaluated dosis of *B. thuringiensis* Berliner the one of 30 L/ha resulted the most effective in production conditions.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, *Meloidogyne incognita*, tomato.

### INTRODUCCIÓN

Entre las producciones agrícolas, las hortalizas constituyen parte esencial de la dieta de la población mundial, ya que por su alto contenido en vitaminas y minerales resultan muy necesarias al organismo humano. Tanto en Cuba como en el mundo, las hortalizas y en específico el tomate, se ven grandemente afectados por los nematodos fitoparásitos que, en muchos casos, son la causa fundamental de las pérdidas de las cosechas.

Numerosas especies de nematodos asociados al del tomate han sido informadas, no obstante, solo un número reducido de estas es causante de la mayor

cantidad de daños registrados entre las que destaca el género *Meloidogyne* Goeldi, responsable de las mayores afectaciones, seguido por otros géneros importantes: *Rotylenchulus*, *Nacobbus* y *Ditylenchus*. (Netscher y Sikora, 1990)

El género *Meloidogyne* es el de mayor afectación económica en el cultivo de las hortalizas, ya que tiene una distribución cosmopolita y ataca a la mayoría de éstas (Roman, 1978). De modo general los fitonematodos agalleros están presentes en casi todos los cultivos hortícolas. En Cuba, *Meloidogyne* es el género de fitonematodos más distribuido y, el de mayor importancia en cultivos hortícolas.

El combate de los fitonemados no es una tarea fácil y se torna particularmente difícil en la agricultura alternativa. En nuestro país, numerosas experiencias con organismos biocontroladores, han demostrado su efectividad en la reducción de poblaciones de *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919); (Chitwood, 1999) entre los que destaca la bacteria *Bacillus thuringiensis* Berliner. (Marquez *et al.*, 2004)

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la efectividad de ocho cepas de *Bacillus thuringiensis* (Berliner) para el control del fitonematodo *Meloidogyne incognita* en tomate en Casas de Cultivos Protegidos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para la determinación en condiciones *in vitro* del efecto reversible en cepas de *Bacillus thuringiensis* sobre huevos de *Meloidogyne incognita*, se utilizaron las cepas LBT-3; LBT-13; LBT-24 y LBT-25 así como otras que no han resultado prometedoras en el control de algunos organismos nocivos como: cepa LBT-1, LBT-4, LBT-26 y LBT-47.

Se realizó un experimento en condiciones "*in vitro*" en el área de Nematología del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Matanzas para evaluar diferentes cepas de *B. thuringiensis*, para el control del nematodo *M. incognita* para lo cual se realizaron diluciones seriadas (decimales) y se realizó el conteo de endosporas/mL en la cámara de Neubaver. Las muestras para los bioensayos tenían una concentración de esporas/mL en el orden de:

Cepa	Concentración de Esporas
1	$1,5 \times 10^8$
3	$1,1 \times 10^8$
4	$1,6 \times 10^8$
13	$1,5 \times 10^8$
24	$1,8 \times 10^8$
25	$1,5 \times 10^8$
26	$1,6 \times 10^8$
47	$1,7 \times 10^8$

Las cepas de *B. thuringiensis* se cultivaron en medio agar nutritivo, el cual fue enriquecido con 302 g/L de extracto de levadura, la incubación se realizó durante 96 horas a temperatura de  $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Para obtener cultivos esporulados con cristales liberados al medio, las cepas se mantuvieron a temperatura de refrigeración a  $4^{\circ}\text{C}$ .

Para preparar las suspensiones de la bacteria se realizó el arrastre del crecimiento formado en las cuñas agarizadas con solución salina estéril (0,85 %) y se agitó vigorosamente.

Se realizaron diluciones seriadas (decimales). Se procedió al conteo de esporas/mL en cámara de Neubaver; se utilizó un microscopio óptico de contraste de fase con lente de 40X. Las muestras para los bioensayos se ajustan hasta obtener concentración de  $10^7$  esporas/mL.

El diseño experimental utilizado fue un bloque al azar, con cuatro réplicas.

En la ejecución del bioensayo se prepararon dos bandejas metálicas grandes y planas, esterilizadas, en cada una de ellas se colocaron 18 vidrios reloj esterilizados, que contenían 6 mL de solución. En total, se montaron nueve tratamientos (incluyendo un testigo con agua destilada solamente) y cuatro réplicas; se colocaron en su interior placas de Petri de tres centímetros de diámetro con algodones humedecidos en agua estéril, para garantizar condiciones adecuadas de humedad y se taparon con bandejas metálicas planas estériles.

Se seleccionaron raíces infestadas de tomate con síntomas visibles de presencia de masas de huevos, se extrajeron las ootecas y se esterilizaron durante 15 segundos en solución de hipoclorito de sodio al 0,05. Posteriormente, se enjuagaron con agua destilada estéril y se depositaron en los vidrios reloj a razón de una per cápita. A partir de los 3 días se comenzó a observar la cantidad de larvas eclosionadas, cada 2 días, hasta los 15.

El cálculo del porcentaje de reducción de la eclosión se determinó utilizando la fórmula de

Abbott (1925) y modificada por Ehw y Hardison (1957).

$$\% \text{ red. Eclosión (ET)} = \frac{(t - \text{larvas eclosionadas})}{t} * 100$$

Donde:

t : es el valor medio de larvas eclosionadas en el testigo.

La evaluación de la efectividad de *B. thuringiensis* para el control de *M. incognita* en condiciones de producción se ejecutó en cuatro Casas de Cultivo de la UBPC Mocha, perteneciente a la Empresa de Cultivos Varios de Matanzas, sobre un suelo ferralítico rojo en tomate, variedad Aro 84-84, con sistema de riego por goteo de Netafín. Se determinó el nivel de infestación inicial (evaluando el cultivo precedente, tomate), posteriormente se realizaron tres aplicaciones de la cepa 25 de *B. thuringiensis* al cultivo; con una frecuencia de 28 días.

Después de eliminado el cultivo precedente (tomate) se procedió a la evaluación de la infestación presente y a la extracción de todo el sistema radical y la inversión del prisma de suelo durante 21 días.

Cada parcela contaba con 7,5 m<sup>2</sup>. La preparación de suelo se realizó con tracción animal y se utilizó el riego por goteo del sistema Netafín. Al cultivo se le realizaron las labores normales de escarde manual, riego y las aplicaciones de fertilizantes con microelementos establecidos en la carta tecnológica para este sistema de producción.

El diseño experimental utilizado fue un bloque al azar con cinco réplicas.

Para la evaluación de la efectividad del control de *M. incognita* en condiciones de producción se emplearon las dosis referidas a continuación:

- 1) Testigo sin tratar
- 2) 10 L/ha cepa 25 = 640 mL/mochila
- 3) 15 L/ha cepa 25 = 960 mL/mochila

4) 20 L/ha cepa 25 = 1 280 mL/mochila

5) 30 L/ha cepa 25 = 1 920 mL/mochila

Al concluir el ciclo se evaluó en cada parcela el rendimiento de un m<sup>2</sup>, mediante el pesaje en una balanza comercial de los frutos de todas las plantas comprendidas en la superficie experimental de cada parcela, y el sistema radical de 10 plantas al azar, donde se evaluó el índice de infestación en las raíces, según los criterios de Taylor y Sasser (1978); García y Fernández (1983) y García *et al.* (1984).

A los resultados obtenidos se le aplicó un análisis de varianza doble y la prueba de comparación múltiple de Duncan para un 95 % y un 99 % de significación, respectivamente, utilizando el paquete estadístico STATGRAPHICS Plus, versión 5.0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Determinación en condiciones *in vitro* del efecto reversible en cepas de *Bacillus thuringiensis* sobre huevos de *Meloidogyne incognita*.

Al evaluar los niveles de eclosión promedio (Figura 1), se observa que hay varias cepas prometedoras para su utilización en el control de este nematodo por la efectividad mostrada en la reducción del nivel de eclosión, aspecto donde los resultados del presente trabajo coinciden con los obtenidos por Márquez *et al.* (2003 y 2004) en sus ensayos al respecto.

Todas las cepas de *B. thuringiensis* mostraron efectividad en la reducción del nivel de eclosión de las larvas de *M. incognita*, no apreciándose diferencia significativa en ninguno de los tratamientos (tabla 1).

Es posible evaluar en condiciones de producción la efectividad biológica de las cepas de *B. thuringiensis* LBT 25, LBT 24, LBT 1 y LBT 3, por ser las más prometedoras en el control de *M. incognita*, al obtener aproximadamente más de 50 % de efectividad técnica en la reducción de los niveles de eclosión. Lo que coincide con

los informes de actividad nematicida señalados por *thuringiensis* LBT 25, LBT 24 y con los de Mena *et al.* (2003 y 2004) para las cepas de *B. thuringiensis* LBT 25, LBT 24 y con los de Mena *et al.* (1997).

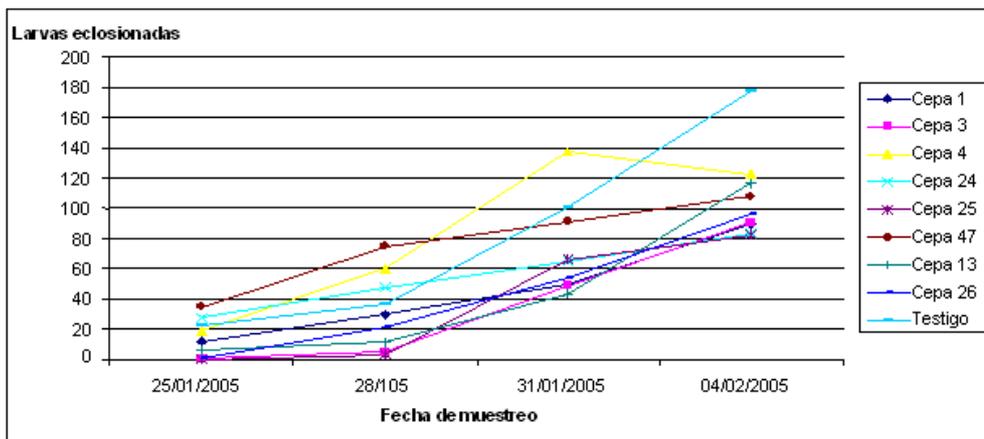


Figura 1. Niveles de eclosión de *Meloidogyne incognita* tratados con suspensiones de diferentes cepas de *Bacillus thuringiensis*.

Tabla 1. Prueba de comparación múltiple de Duncan para efectividad de los tratamientos

Cepas	Cepa 25	Cepa 24	Cepa 1	Cepa 3	Cepa 26	Cepa 47	Cepa 13	Cepa 4	E <sub>m</sub> E <sub>s</sub> ±
E. T	53,75	52,75	49,75	49,00	45,50	39,00	34,25	30,75	15,92

**Evaluación de la efectividad de *B. thuringiensis* para el control de *M. incognita* en condiciones de producción.**

• **Análisis del rendimiento**

Al concluir el ciclo del cultivo se evaluó el rendimiento obtenido en todas las parcelas de cada una de las Casas de Cultivo incluidas en el experimento; los resultados obtenidos en cada casa se reflejan en la tabla 2.

En el análisis de los rendimientos se aprecia que el tratamiento de 30 L/ha de *B. thuringiensis* mostró diferencias significativas con el resto de los tratamientos en las casas 21 y 22, mientras que en las casas 1 y 2 presentó diferencias significativas con el testigo y el tratamiento de 10 L/ha; lo que corrobora la efectividad del *Bacillus thuringiensis* para el control de *Meloidogyne incognita*, como señalaron Márquez *et al.* (2003 y 2004) y Mena *et al.* (2005).

Tabla 2. Rendimiento promedio obtenido por tratamiento (t/ha)

Tratamiento	Casa 1	Casa 2	Casa 21	Casa 22	Promedio
A (testigo s/t)	21,26 <sup>a</sup>	23,21 <sup>a</sup>	30,17 <sup>a</sup>	23,81 <sup>a</sup>	24,62 <sup>a</sup>
B (10 L/ha)	24,90 <sup>ab</sup>	24,00 <sup>ab</sup>	32,52 <sup>ab</sup>	25,87 <sup>a</sup>	26,82 <sup>ab</sup>
C (15 L/ha)	25,57 <sup>bc</sup>	25,70 <sup>ab</sup>	33,87 <sup>b</sup>	26,07 <sup>a</sup>	27,80 <sup>ab</sup>
D (20 L/ha)	27,03 <sup>bc</sup>	27,57 <sup>bc</sup>	36,88 <sup>b</sup>	26,40 <sup>a</sup>	29,35 <sup>bc</sup>
E (30 L/ha)	27,80 <sup>c</sup>	31,09 <sup>c</sup>	38,81 <sup>c</sup>	30,44 <sup>b</sup>	32,03 <sup>c</sup>
S. e.	0,15	0,10	0,09	0,18	0,10

a, b, c = letras desiguales denotan diferencias altamente significativas para P < 0,05 y P < 0,01, \*\*

### Evaluación de los niveles de infestación

Al concluir el ciclo del cultivo se evaluó el nivel de infestación radical ocasionado por el nematodo *M. incognita*, los resultados obtenidos en los niveles de infestación promedio por tratamiento en cada casa se reflejan en la tabla 3, donde se observa que el tratamiento de 30 L/ha de *B. thuringiensis* mostró diferencias significativas con el resto de los tratamientos en las casas

1, 2, 22 y en el análisis integral de las mismas, mientras que en la casa 21 presentó diferencias significativas con el testigo y el tratamiento de 10 L/ha, confirmando lo expuesto por Lacayo, 2004, de que es posible su utilización para el control de nematodos. Se corrobora lo expuesto por Márquez (2004) de que existen cepas de *B. thuringiensis* capaces de reducir los niveles de infestación ocasionados por los nematodos de agallas.

**Tabla 3. Niveles de Infestación promedio por tratamiento**

Tratamiento	Casa 1	Casa 2	Casa 21	Casa 22	Promedio
A (testigo s/t)	2,56 <sup>a</sup>	2,22 <sup>a</sup>	1,9 <sup>a</sup>	2,66 <sup>a</sup>	2,34 <sup>a</sup>
E (10 L/ha)	2,48 <sup>a</sup>	2,16 <sup>a</sup>	1,68 <sup>ab</sup>	2,38 <sup>b</sup>	2,18 <sup>ab</sup>
B (15 L/ha)	2,46 <sup>a</sup>	2,14 <sup>a</sup>	1,48 <sup>bc</sup>	2,30 <sup>b</sup>	2,10 <sup>b</sup>
C (20 L/ha)	2,34 <sup>a</sup>	2,08 <sup>a</sup>	1,30 <sup>c</sup>	2,28 <sup>b</sup>	2,00 <sup>b</sup>
D (30 L/ha)	1,62 <sup>b</sup>	1,38 <sup>b</sup>	1,28 <sup>c</sup>	1,88 <sup>c</sup>	1,54 <sup>c</sup>
E. E. ±	0,08	0,15	0,11	0,09	0,06

a, b, c = letras desiguales denotan diferencias altamente significativas para  $P < 0,05$  y  $P < 0,01$ , \*\*.

### Evaluación de la efectividad técnica

Al concluir el experimento se determinó la Efectividad Técnica presentada por las dife-

rentes dosis de *B. thuringiensis* sobre el nivel de infestación radical ocasionado por *M. incognita*, los resultados obtenidos se reflejan en la tabla 4.

**Tabla 4. Evaluación de la Efectividad promedio por tratamiento**

Tratamiento	Casa 1	Casa 2	Casa 21	Casa 22	Promedio
A (testigo s/t)	26,86 <sup>a</sup>	26,00 <sup>a</sup>	36,67 <sup>a</sup>	24,00 <sup>a</sup>	28,38 <sup>a</sup>
E (10 L/ha)	29,14 <sup>a</sup>	28,00 <sup>a</sup>	44,00 <sup>ab</sup>	32,00 <sup>b</sup>	33,29 <sup>ab</sup>
B (15 L/ha)	29,71 <sup>a</sup>	28,67 <sup>a</sup>	50,67 <sup>bc</sup>	34,29 <sup>b</sup>	35,83 <sup>b</sup>
C (20 L/ha)	33,14 <sup>a</sup>	30,67 <sup>a</sup>	56,67 <sup>c</sup>	34,86 <sup>b</sup>	38,83 <sup>b</sup>
D (30 L/ha)	53,71 <sup>b</sup>	54,00 <sup>b</sup>	57,33 <sup>c</sup>	48,29 <sup>c</sup>	52,83 <sup>c</sup>
E. E. ±	2,17	5,09	3,52	2,47	1,88

a, b, c = letras desiguales denotan diferencias altamente significativas para  $P < 0,05$  y  $P < 0,01$

En la misma se aprecia que el tratamiento de 30 L/ha de *B. thuringiensis* mostró diferencias significativas con el resto de los tratamientos en las casas 1, 2, 22 y en el análisis integral de las mismas, mientras que en la casa 21 se presentaron diferencias significativas con el testigo y el tratamiento de 10 L/ha, confirmando lo referido por Lacayo (2004), de que es posible su utilización para el control de nematodos.

### CONCLUSIONES

1. Todas las cepas de *B. thuringiensis* evaluadas *in vitro* mostraron efectividad en la reducción de la eclosión de las larvas de *M. incognita*.
2. Las dosis de 30 L/ha de *B. thuringiensis*, resultó ser la más efectiva de las aplicadas en condiciones de producción.

**BIBLIOGRAFÍA**

- CIBA-GEIGY (1981): *Manual para ensayos de campo en protección vegetal*, p. 200. Ed. División Agricul-tura, CIBA-GEIGY .S. A.
- García O. y E. Fernández (1983): Metodología para determinar el comportamiento varietal de cultivos agrícolas a los nematodos parásitos, 8 pp; Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal, La Habana.
- García O.; E. Fernández y J. Pérez (1984): “Modulación matemática y método para evaluar pérdidas económicas producidas por *Meloidogyne* spp. en cultivos temporales”, *Ciencia y Técnica en la agricultura. Protección de Plantas* 7 (2): 79-90.
- Lacayo, L. N. (2004): El *Bacillus thuringiensis* o Bt es un bioplaguicida utilizado para erradicar gusanos en cultivos como el repollo. [leslie.nicolas@laprensa.com.ni](mailto:leslie.nicolas@laprensa.com.ni) <http://www.clades.org/r11-art/htm>.
- Márquez, María E.; L. A. Torres y Mercedes Escobar (2003): “Evaluación del efecto nematicida de cepas de *Bacillus* spp.”, *FITOSANIDAD* 7(2): 55-58.
- Márquez, María E.; Leonor Garmendía; E. Fernández y Mercedes Escobar (2004): “Cepas de *Bacillus thuringiensis* con actividad biológica contra *Meloidogyne incognita*”, *FITOSANIDAD* 8(3): 31-35.
- Mena, J.; R. Vázquez; Marina Fernández; L. Pérez, y otros (1997): Two New reports on Bacteria wtith high nematocidal activity, III Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal; 23 al 27 de junio, Palacio de las Convenciones, Cuba.
- Mena, J.; E. Pimentel; A. T. Hernández; Yamilka Ramírez y otros (2005): Segundo Taller Internacional sobre Ciencia, Medio Ambiente, Ética y Sociedad; 28 y 29 de abril.
- Netscher, C. and R. A. Sikora (1990): “Nematode parasites of vegetables 237-283”, En *Plant Parasite Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. M. Luc, R. A. Sikora and J. Bridge (Eds.),. CAB International.
- Roman, J. (1978): *Nematología General*. pp. 187-203, Estación Experimental Agrícola, Universidad de Puerto Rico.
- Taylor, A. L. and J. N. Sasser (1978): Biology, identification and control of Root-Knot nematodes (*Meloidogyne* spp), 111 pp. A cooperative publication of the Dpt of Plant Pathology North Caroline State University and the United States Agency for International Development.

Recibido: 02/06/2006

Aceptado: 04/09/2006