

Control de nemátodos en maracuyá usando benzimidazoles en ácidos húmicos

Carlos A. Soria

Laboratorios Labitech Cia. Ltda., Quito.
Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito.
casoria@puce.edu.ec

Recibido: 2010-04-19, aprobado: 2010-05-28

Los nemátodos son un problema fitosanitario en los cultivos de maracuyá. Su presencia se asocia, generalmente, con el apareamiento de nódulos radiculares que obstruyen el flujo savial, disminuyen la vida de la planta y afectan considerablemente su producción. Del estudio fitonemático del maracuyá, se descubre su susceptibilidad al ataque de géneros polifitófagos encontrados, como: *Meloidogyne*, *Helicotylenchus* y *Rotylenchus*.

Los benzimidazoles son compuestos orgánicos cíclicos nitrogenados con actividad antiparasitaria. Bioterr de Labitech, un nematicida formulado con derivados de benzimidazol, nos permitió estudiar su efecto novedoso en el control de nemátodos, más aún, si se administra acompañado de ácidos húmicos (Orgánica, Labitech), conocidos como modificadores de los corpúsculos de suelo y como acarreadores moleculares, en presencia de saprófitos poco afectados por el benzimidazol. Los controles indicaron una infección significativa con nemátodos, algunos, formadores de nódulos radiculares, pocas raicillas nuevas, menor peso radicular y menor producción. Mientras que en los cultivos tratados, se observó lo contrario: disminución significativa de nemátodos, presencia de más raicillas, mayor peso radicular y aumento significativo de la producción.

Palabras claves: maracuyá, nemátodos, control, benzimidazol, rendimiento.

Nematode control in passion fruit using benzimidazol with humic acids.

Nematodes are a very common phytosanitary problem for passion fruit, causing the appearance and proliferation of typical root nodules which obstruct sap flux, reduce yield production and plant's life expectancy. Susceptibility of this crop is mainly to the attack of phytonematodes belonging to the genera: *Meloidogyne*, *Helicotylenchus* and *Rotylenchus*.

Benzimidazoles are cyclic nitrogenated organic compounds with anti-parasite activity. Bioterr from Labitech, formulated with types of benzimidazole, allowed us to study its novel effect in phytonematode's control when administered with humic acids, known as soil corpuscle modifiers and molecular carriers. Little effect was found in saprofitos also considered as soil modifiers. Controls indicated a significant nematode infection, evidenced by the presence of root

nodules, absence of secondary roots, lower root weights and scarce production, contrary to the results observed after treatment, evidenced by a significant reduction of numbers of nematodes, presence of secondary roots, increased total root weight and better yields.

Key words: passion fruit, nematodes, benzimidazole, control, better yields.

Introducción:

Los nemátodos fitófagos, phylum Nematoda, clase Secernentea del orden Tylenchida, son las plagas que más daño causan a la agricultura (1) ocasionando problemas como pudrición o daños a la raíz de más de 2.000 especies de hortalizas, leguminosas y frutales (2, 3).

Cuando el parásito daña los tejidos externos de la raíz o avanza hacia el conducto interno radicular, inyecta sus toxinas esofágicas y puede transmitir virus, bacterias u hongos que ingresan a través de las heridas ocasionadas. Se reporta, por ejemplo, infecciones con *Fusarium oxysporum* a través de lesiones causadas por *Pratylenchus* sp. (4) o *Meloidogyne* sp. (5).

El ataque del género *Meloidogyne* es el más común (5) y se caracteriza por el apareamiento de nódulos o agallas en la raíz que obstaculizan el flujo de nutrientes y pueden causar necrosis tisular.

Pero los nematoparásitos son diversos, algunos de vida libre o ectoparásitos (Trychodoridos) fáciles de controlar; otros facultativos (ecto o endoparásitos), productores de huevos con matrices gelatinosas (*Meloidogyne*, *Tylenchus*, *Rotylenchus*) o quistes (*Globodera*, *Heterodera*) difíciles de eliminar; y además, otros endoparásitos exigentes (*Pratylenchus*, *Rodopholus*), cuyo control resulta aun más difícil por estar protegidos dentro de tejidos radiculares, por ende, difíciles de ser alcanzados y fácilmente transmisibles de una plantación a la siguiente (1).

Estos diferentes tipos de parasitismo, solos o en sinergismo entre ellos, debilitan a las plantas huéspedes, ocasionando pérdidas económicas calculadas en miles de millones de dólares a nivel mundial, ya sea por mermas en la producción, aumento de la mortalidad del cultivo o por la suma de las dos (2, 5, 6).

Productos fosforados o carbamatados, tóxicos tanto para el usuario como para el medio ambiente, se han utilizado por mucho tiempo en controles fitosanitarios. En humanos y animales, el efecto de los organofosforados se mide por la inhibición de la colinesterasa, enzima que interviene en la hidrólisis de la acetocolina, en las sinapsis neuronales colinérgicas. El uso continuo de estos organofosforados se asocia con daños neuronales (2, 7, 8).

El benzimidazol y la úrea sustituida, son los componentes principales del Bioterr de Labitech Cia. Ltda., una nueva alternativa para control fitonemático, libremente soluble en el agua de riego y de fácil migración en el suelo, por difusión y convección.

En el Ecuador, el cultivo de maracuyá, *Passiflora edulis*, se ha extendido a aproximadamente 30.000 ha, principalmente en las provincias de Los Ríos, Guayas, Manabí, Bolívar, Esmeraldas y Santo Domingo de los Tsáchilas (9). Los nemátodos están entre los problemas fitosanitarios más comunes de este cultivo.

Durante este estudio, se probaría la eficacia antinemática de una formulación con derivados de benzimidazol y ácidos húmicos, en maracuyá. Se reconocería y cuantificaría los diferentes tipos de nemátodos en muestras de suelo control y tratado. Se estudiaría los daños ocasionados a la raíz y se asociaría este parasitismo con disminución en los niveles de producción.

Materiales y métodos:

Cultivos:

Se utilizaron 6 ha de cultivos comerciales de maracuyá en 5 fincas pequeñas de Chone. Cada ha en producción constaba de 750 plantas adultas de 2 años de edad. Tres de las fincas, totalizando 4 ha, fueron asignadas para recibir tratamiento; las otras 2 no recibieron ninguno y sirvieron de control.

Tratamiento:

Bioterr (Labitech Cia. Ltda.), es un nematicida consistente de 150 g de derivados de benzimidazol y 820 g de úrea amoniacal más excipiente, por kg. Orgánica (Labitech) es un desestresante y activador de suelos que contiene 150 g de ácidos húmicos por litro de producto.

Las plantas tratadas recibieron 188 mg de Bioterr (benzimidazol) y 188 mg de Orgánica (ácidos húmicos), aplicados en 250 cc de agua de riego por planta. El producto fue aplicado una sola vez, en drench, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Previo a la aplicación, el suelo debe estar húmedo a capacidad de campo, para favorecer la penetración del producto hacia el sector de las raíces secundarias donde se localiza mayormente la infección (10). El resultado que se obtenga, dependerá totalmente de esta condición.

Conteo e identificación de nemátodos:

Muestras de 100 g de suelo colectadas al azar, totalizando aproximadamente 1 kg por cada finca, por control o por suelo tratado, fueron mezcladas en una funda plástica, separado los controles de los suelos tratados.

De cada total de muestra proveniente de cada finca, se pesó 20 g de suelo, cantidad que fue suspendida con agitación continua durante 2 min, en 250 cc de agua de la llave reposada (durante la noche) en botellas cilíndricas de boca ancha, de 500 cc de capacidad. Luego se dejó decantar durante 1 minuto y el sobrenadante fue filtrado por malla de tela fina.

A continuación se pasó por una malla de 40 μm , y lo que quedó en la malla fue recolectado y lavado con 20 cc de agua en un vaso de precipitación. De esta fracción, se tomó una muestra volumétrica de 5 cc, la cual fue depositada en una caja petri para el conteo o identificación de nemátodos en 25 campos, usando un estéreo microscopio con 50 aumentos.

Se reportó el total observado por género, incluyendo estadíos larvales y adultos por volumen de muestra. El resultado obtenido en cada muestra se multiplicó por 20 y se reportó como número total por género (o grupo de saprófitos y otros) por 100 g de suelo. Los conteos corresponden al promedio de 3 repeticiones.

Nódulos en las raíces:

Se estudiaron los nódulos radiculares en las raíces colectadas a 20 cm de profundidad, de cada una de las 20 plantas que sirvieron de control y por separado, de otras 20 que recibieron tratamiento.

Las raíces de cada grupo (15 g por planta), fueron mezcladas manualmente en fundas separadas, luego se pesaron 100 g de cada grupo y se contaron nódulos de 3 mm o más de diámetro. Los muestreos y conteos de los controles y de las plantas tratadas se hicieron a los 30 días posteriores a la aplicación del tratamiento; los nódulos encontrados se reportaron por 100 g de raíces en cada grupo y para cada uno de 3 ensayos o repeticiones.

Desarrollo radicular:

Se seleccionaron al azar y en forma separada, 3 plantas adultas tanto del cultivo control como del que recibió tratamiento. Se sacrificó cada una de estas plantas, se extrajo completamente la raíz y se procedió a pesarla y a reportarla en g, tanto el peso de las raicillas como el de la raíz total, incluido su peso promedio.

Producción:

Durante 3 semanas se registró la producción semanal de maracuyá tanto en los cultivos que recibieron tratamiento como en los que no recibieron, y el resultado se reportó como kg de producción semanal por ha; se calculó también la producción promedio semanal. Los datos extrapolados de la producción en kg por ha, fueron obtenidos contabilizando el peso de la producción semanal de las 2 fincas control, comparado con la producción de las 3 fincas que recibieron tratamiento.

Estadística:

Se realizaron análisis de varianza para detectar diferencias estadísticas en las muestras ensayadas y adicionalmente pruebas de significación de Tukey al 0.05.

Resultados

Los resultados obtenidos (Figura 1, cultivo tratado) se expresaron como número de nemátodos por género y por muestra en 100 g de suelo, tanto para los controles como para las muestras tratadas. Muestreos y conteos se realizaron 30 días después de aplicado el nematicida con los ácidos húmicos.

Del conteo realizado en los suelos controles (Tabla 1), se pudo observar una infección considerable de nemátodos parásitos (entre 160 hasta 400 individuos por 100 g de suelo), de los géneros *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Helicotylenchus*, así como una población numerosa de saprófitos (entre 300 y 360). También se detectaron números menores de *Radophylus* y *Rotylenchus* (entre 40 y 80) y de otros nemátodos (entre 100 y 160) que no pudieron ser identificados.

En las muestras de suelos que recibieron tratamiento, se notó una disminución significativa ($p < 0.05$) en el número de nemátodos de casi todos los géneros parásitos con la excepción de *Radophylus* ($p=0.058$). Con el tratamiento, también se encontró una aparente disminución de saprófitos (de un promedio de 330 a 293), pero esta diferencia en los resultados no fue significativa ($p > 0.05$).

Se reportaron nódulos en las raíces tanto de los controles como de las plantas tratadas (Tabla 2). Se contaron de 125 a 155 nódulos (Prom = 138) por 100 g de raíces controles. Y en las plantas tratadas, el número fue de 120 a 150 (Prom = 133); por lo tanto, tampoco hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre el número de nódulos en las raíces controles y los encontrados en las plantas tratadas.

Tres plantas adultas del grupo control y 3 tratadas fueron sacrificadas para poder observar completamente sus raíces (Figura 2, Tabla 3). Se encontró diferencias significativas ($p < 0.05$) en el peso promedio de raicillas nuevas en las plantas tratadas (Prom = 8 g por planta), comparado con el de los controles (Prom = 3 g por planta). De igual forma, el peso total de las raíces sin tratamiento varió entre 197 y 210 g (Prom = 203 g) en comparación con las plantas tratadas que mostraron pesos entre 250 y 281 g (Prom = 262 g), un resultado significativamente más alto que el reportado para los controles ($p < 0.05$).

La producción semanal de las 2 fincas sin tratamiento, fue comparada con la de las otras 3 fincas que si fueron tratadas. Cada una de estas producciones semanales (3 semanas) fue extrapolada y reportada como producción semanal de maracuyá por ha (750 plantas adultas por ha) en kg (tabla 4). Se encontró una producción promedio de 245 kg semanal por ha comparada con una producción significativamente mayor ($p < 0.05$), promedio de 287 kg en las fincas tratadas.

Discusión:

Los benzimidazoles son compuestos orgánicos cíclicos nitrogenados, derivados de los imidazoles, con intensa actividad antiparasitaria en animales y en el hombre. El tratamiento aplicado con benzimidazoles y ácidos húmicos, para uso agrícola, nos permitió estudiar su efecto novedoso en el control de los nemátodos del suelo (11).

La capacidad del tratamiento para disolverse totalmente en el agua de riego, facilita su uso. A esto se suma el hecho de ser aparentemente un producto no tóxico, de sello verde, cuyas moléculas activas, además de actuar por contacto, probablemente pueden ser absorbidas o acarreadas a través de la raíz hacia los tejidos infectados cercanos (12). Los otros componentes incorporados, por ejemplo, la úrea sustituida amoniaca y/o los ácidos húmicos, actuarían como moléculas catiónicas con poder surfactante y tensoactivo, que probablemente ayudarían en la penetración o acarreo del benzimidazol y de los nutrientes del suelo.

Se sabe que la absorción radicular de un pesticida en solución acuosa, dependerá de su formulación y entre otros, de la presencia de los ácidos húmicos y fúlvicos (13), como los administrados, cuya incorporación al suelo también ocasionan soltura corpuscular, oxigenación por aereación, y solubilización por quelación de sales insolubles u otros principios activos no disueltos (datos no reportados).

De lo encontrado, se desprende que estos cultivos de maracuyá son bastante susceptibles al ataque de varios géneros de nemátodos polifitófagos (Tabla 1), de los cuales, los géneros *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Helicotylenchus*, fueron los más abundantes en el estudio de los grupos control. Otros como *Radophylus* y *Rotylenchus*, se encontraron en números significativamente más bajos ($p < 0.05$), comparados con *Meloidogyne*, por ejemplo, pero no por eso pueden ser considerados infectivamente menos importantes, ya que algunos son endoparásitos portadores y transmisores de infecciones virales (14).

Fue claro el control de la infección después del tratamiento, evidenciado por la sanidad del cultivo (Figura 1) y la reducción significativa ($p < 0.05$) en el número de los nemátodos encontrados (Tabla 1). El benzimidazol, mejor acarreado parcialmente por los ácidos húmicos, en contacto con el nemátodo, sea afuera en el suelo o dentro en la raíz, probablemente es absorbido a su sistema muscular, por contacto externo o con el alimento, provocando parálisis por

inhibición enzimática e incapacidad para metabolizar la glucosa muscular. Interacciones del benzimidazol con las glicoproteínas o con los esteroides de las membranas parasitarias (15), podría desencadenar en catástrofes metabólicas suficientes como para causar su mortalidad (16).

La poca mortalidad observada en los saprófitos después del tratamiento, también resulta interesante (Tabla 1). Esta selectividad podría explicarse porque éstos, al alimentarse de tejidos muertos, en vez de tejidos vivos, como es su hábito, no ingieren los antiparasitarios incorporados sistémicamente a la savia (1, 12).

La presencia de saprófitos es una ventaja para el cultivo porque al ser convertidores de tejidos muertos en substratos, algunos asimilables, se vuelven remodeladores y acondicionadores iónicos de los suelos, más aun, en presencia de ácidos húmicos (13). Es la actividad fisiológica de estos nemátodos, más la presencia de los ácidos húmicos que actúan como quelantes o acarreadores iónicos, lo que permite la liberación de nutrientes que pueden estar localizados en algunos nichos y no en otros (17), causando además, un mejor aprovechamiento del agua y del oxígeno del suelo (8).

El ataque del género *Meloidogyne*, es peculiar en más de 3.000 variedades de cultivos (18) y se caracteriza por estimular una multiplicación de células gigantes y aledañas, formadoras de nódulos, donde se acumulan toxinas, celulasas, proteinasas o radicales oxigenados de alta reactividad, que suprimen procesos fotosintéticos y de respiración.

El cultivo queda disminuido en el flujo de nutrientes y agua por necrosis radicular y por el apareamiento de infecciones bacterianas, fungosas y virales (5) que ocasionan bajos rendimientos, como se pudo observar en los cultivos control. Estos últimos, mantuvieron poblaciones altas de nemátodos (Tabla 1) y baja producción (Tabla 4).

Al estudiar las raíces control y las del grupo tratado (Figura 2), se encontró en ambos la presencia de agallas (Tabla 2) en números similares, es decir, en cifras estadísticamente no significativas ($p > 0.05$). Pero sí se observó una renovación significativamente abundante de raicillas (Tabla 3) en los grupos tratados ($p < 0.05$).

Estos resultados se explican porque una vez iniciado el daño del tejido con el apareamiento de los nódulos (6), éstos permanecen temporalmente aun en ausencia de nemátodos que podrían haber sido ya controlados por el tratamiento (12).

El número bajo de nemátodos que se encontraron en el suelo tratado 30 días atrás, podría explicarse porque los benzimidazoles no sufren fácilmente biotransformaciones (19) por descarboxilización, debido a su estructura anillada que les confiere estabilidad; esta propiedad, permite que estas moléculas puedan permanecer activas en el suelo por más de 30 días, quizá al

mantenerse débilmente queladas a los ácidos húmicos . Esta característica de los derivados anillados imidazólicos, se traduce en la obtención de mejores cosechas (Tabla 4), debido, entre otros, al control fitonemático prolongado, a la disponibilidad de nutrientes acondicionados por los nemátodos saprófitos y por los ácidos húmicos, así como al mejoramiento de la absorción que pudiera explicarse por el aumento de la masa radicular, especialmente de las raicillas absorbentes (Tablas 1,2,3). Además del ahorro que ocasiona la implementación de tratamientos menos seguidos requeridos para romper ciclos nemáticos (5) que ocurren aproximadamente cada 30 días.

Literatura citada:

1. Lamberti F., Greco N., Basile M., 1986. Treatments of soil-nematological aspects. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **16**, 327-333.
2. Fleming C., McKinney S., McMaster S., Johnston M., Donnelly P., Kimber M., Maule A., 2007. Getting to the root of neuronal signaling in plant-parasitic nematodes using RNA interference. *Nematology* **9** (3), 301-315.
3. Ubidia P., Soria C., 2006. Revisión de efectos y daños causados por los nemátodos fitoparásitos en cultivos importantes en la producción agrícola. XXX Jornadas Nacionales de Biología. Sociedad Ecuatoriana de Biología y Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Libro de resúmenes, p. 112.
4. Castillo P., Jimenez R., Gomez A., Vovlas N., 1995. Parasitism of the root-lesion nematode *Pratylenchus thornei* on chickpea. *Plant Pathology* **44**, 728-733.
5. Leonard D., 1991. The nematode. *Horticulture* **69** (3), 1-7.
6. Hofmann J., Grundler M., 2007. How do nematodes get their sweets? Solute supply to sedentary plant-parasitic nematodes. *Nematology* **9** (4), 451-458.
7. Pink R., Hudson A., Mourie's M., Bendig M., 2005. Opportunities and challenges in antiparasitic drug discovery. *Nature reviews* **4**, 727-740.
8. Blouin M., Zuily-Fodil Y., Pham-Thi A., Laffray D., Reversat G., Pando A., Tondoh J., Lavelle P., 2005. Belowground organism activities affect plant aboveground phenotype, inducing plant tolerance to parasites. *Ecology letters* **8**, 202-208.
9. Servicio de Información Agropecuaria del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador. Presentación de Maracuyá (Ing. Olmedo Luna). El cultivo de maracuyá en el Ecuador (Ing. Pablo Rizzo Pástor).

<http://www.sica.gov.ec/cadenas/>.

10. Araya M., Vargas A., Cheves A., 1999. Nematode distribution in roots of banana (Musa AAA cv. Valery) in relation to plant height, distance from the pseudostem and soil depth. *Nematology* **1** (7-8), 711-716.
11. Soria C., 2006. Benzimidazoles en el control de nemátodos. XXX Jornadas Nacionales de Biología. Sociedad Ecuatoriana de Biología y Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Libro de resúmenes, p. 51-52.
12. Soria C., 2009. Bioterr Labitech, un nuevo fitonematicida a base de benzimidazol. *Rev Ecuat Med Cienc Biologicas* **30** (1,2), 28-41.
13. Kyriakopoulos G., Doulia D., 2006. Adsorption of pesticides on carbonaceous and polymeric materials from aqueous solutions: a review. *Separation and Purification Reviews* **35**, 97-191.
14. González L. 1985. Introducción a la Fitopatología. 4ta Edición, Editoril IICA, San José de Costa Rica, Costa Rica, p. 57-64.
15. Vervelde L., Van Leeuwen M., Kruidenier M., Kooyman F., Huntley J., Va Die I., Cornelissen A., 2002. Protection studies with recombinant excretory / secretory proteins of *Haemonchus contortus*. *Parasite Immunology* **24**, 189-201.
16. Kerboeuf D., Riou M., 2006. Nematodes as Models for the Study of the Regulation of Activity of P-glycoproteins in Multidrug Resistance (MDR). *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry* **5**, 389-402.
17. Wurst S., Langel R., Scheu S., 2005. Do endogeic earthworms change Plant competition? A microcosm study. *Plant and Soil* **271**, 123-130.
18. Castagnone P., 2002. Genetic variability in parthenogenetic root-Knot nematodes, *Meloidogyne* spp., and their ability to overcome plant resistance genes. *Nematology* **4**, 605-608.
19. Ballinger D., Kollmorgen J., 1986. Control of take-all of wheat in the field with benzimidazole and triazole fungicides applied at seeding. *Plant Pathology* **35**, 67-73.

Tabla 1. Efecto del tratamiento con derivados de benzimidazoles y ácidos húmicos (a) sobre el número de nemátodos en 100 g de suelo cultivado con maracuyá.

Género/ grupo	Controles			Tratados			
	1(b)	2(b)	Prom(c)	1(b)	2(b)	3(b)	Prom(c)
<i>Meloidogyne</i>	400	360	380	80	100	60	80
<i>Pratylenchus</i>	320	300	310	60	20	40	40
<i>Helicotylenchus</i>	160	180	170	40	20	20	27
<i>Rodophylus</i>	80	60	70	20	40	0	20
<i>Rotylenchus</i>	40	60	50	20	0	0	7
Otros	160	100	130	20	40	40	33
Saprófitos	300	360	330	280	340	260	293

(a) Tratamiento: 188 mg de Bioterr + 188 mg de Orgánica en 250 cc de agua /planta

(b) Repeticiones: 1,2,3

(c) Prom: promedio

Tabla 2. Efecto del tratamiento con derivados de benzimidazoles y ácidos húmicos (a) sobre el número de nódulos en 100 g de raíces de maracuyá.

Número Ensayo	Número nódulos / 100 g de raíces	
	Controles	Tratados
1	155	130
2	125	150
3	134	120

(a) Tratamiento: 188 mg de Bioterr + 188 mg de Orgánica en 250 cc de agua /planta.

Tabla 3. Efecto del tratamiento (a) sobre el peso de las raicillas y raíces de plantas de maracuyá.

Peso	Sin tratamiento				Tratados				
	(g)	1(b)	2(b)	3(b)	Prom(c)	1(b)	2(b)	3(b)	Prom(c)
<i>Raicillas</i>		3	4	2	3	8	10	7	8
<i>Raíces</i>		203	197	210	203	255	250	281	262

(a) Tratamiento: 188 mg de Bioterr + 188 mg de Orgánica en 250 cc de agua /planta

(b) Planta número: 1,2,3

(c) Prom: promedio

Tabla 4. Efecto del tratamiento con benzimidazoles y ácidos húmicos (a) sobre la producción extrapolada semanal de maracuyá en kg/ha/750 plantas.

Sin tratamiento				Tratados			
1(b)	2(b)	3(b)	Prom(c)	1(b)	2(b)	3(b)	Prom(c)
265	240	230	245	280	300	280	287

(a) Tratamiento: 188 mg de Bioterr + 188 mg de Orgánica en 250 cc de agua /planta

(b) Semana número: 1,2,3

(c) Prom: promedio



Figura 1. Cultivo de maracuyá tratado con benzimidazoles y ácidos húmicos (Foto de Abdón Tapia)



Figura 2. Raíces de maracuyá (Foto de Abdón Tapia)