

Solanum lycopersicum L.- nematodo agallero: efecto de biocarbón y *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre el patosistema



<https://cu-id.com/2247/v39e04>

Solanum lycopersicum L.- root knot nematode: effect of biochar and *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg on pathosystem

¹Daine Hernandez-Ochandía^{1*}, ¹Danay Ynfante Martínez¹, ¹Roberto Enrique Regalado¹,
¹Ileana Miranda Cabrera¹, ¹Belkis Peteira Delgado-Oramas¹, ¹Mayra G. Rodríguez Hernández¹

¹Departamento de Sanidad Vegetal. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, CP 32700, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del biocarbón de cáscara de arroz y *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg (cepa *Ta.90*) sobre el desarrollo de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. cultivar 'Elbita' y una población cubana de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood. El experimento se desarrolló entre el 5 de junio y el 30 de agosto de 2022, en el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, Cuba. Para el estudio, en condiciones semi- controladas, se inocularon 0,5 juveniles por gramo de suelo⁻¹ en macetas de 1 kg de capacidad que contenían 25 % de abono orgánico, 25 % de biocarbón y 50 % de suelo estéril. A las 72 horas después del trasplante, se adicionó *T. asperellum* cepa *Ta.90*, aplicándose 10⁸ Unidades Formadoras de Colonias.ml⁻¹ y se aplicaron cinco ml por maceta. Los tratamientos fueron: planta de tomate sana (control absoluto), Tomate + Biocarbón, Tomate + *Ta.90*, Tomate + Abono Orgánico, Tomate + *M. incognita*, Tomate + *M. incognita* + *Ta.90*, Tomate + *M. incognita* + Biocarbón, Tomate + *M. incognita* + Abono orgánico, Tomate + *M. incognita* + Biocarbón + *Ta.90*, Tomate + Biocarbón + *Ta.90* + Abono orgánico, Tomate + *M. incognita* + Biocarbón + *Ta.90* + A. orgánico. A los 60 días, se evaluaron los parámetros altura, diámetro del tallo, longitud de la raíz, número de hojas y masa fresca de raíz en las plantas; mientras que, se determinó el Índice de Agallamiento (IA) de las plantas y el número de huevos por hembra del nematodo. Los datos se compararon mediante ANOVA y las diferencias entre las medias se estableció por la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$) del paquete estadístico SAS 9.0. La aplicación conjunta de *T. asperellum* cepa *Ta.90* y Biocarbón enriquecido con abono orgánico, provocó la disminución del número de huevos por hembra del nematodo y de IA, difiriendo de manera significativa del testigo sin aplicación. En todos los tratamientos en los que se aplicó *T. asperellum* cepa *Ta.90*, se atenuó el efecto negativo del nematodo en parámetros, como altura, diámetro del tallo, número de hojas y masa fresca aérea.

Palabras Clave: Biocarbón de cáscara de arroz, control biológico, *Meloidogyne incognita*, nematodo agallero, Tomate.

ABSTRACT: The objective of this work was to determine the effect of rice husk biochar and *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg (*Ta.90* strain) on development of tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) cv. 'Elbita' and a Cuban population of *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood. The experiment was carried out at the National Center for Agricultural Health, Cuba, from June 5 to August 30, 2022. Under semi-controlled conditions, 1 kg pots containing 25 % organic fertilizer, 25 % Biochar and 50 % sterile soil were inoculated with 0.5 J₂ per gram of soil . At 72 hours after transplanting, five ml of a suspension of *T. asperellum* strain *Ta.90* with 10⁸ CFU.ml⁻¹ was added per pot. The treatments were healthy tomato plant (absolute control), Tomato + Biochar, Tomato + *Ta.90*, Tomato + Organic Fertilizer, Tomato + *M. incognita*, Tomato + *M. incognita* + *Ta.90*, Tomato + *M. incognita* + Biochar, Tomato + *M. incognita* + Organic fertilizer, Tomato + *M. incognita* + Biochar + *Ta.90*, Tomato + Biochar + *Ta.90* + Organic fertilizer, Tomato + *M. incognita* + Biochar + *Ta.90* + Organic Fertilizer. At 60 days, plant height, stem diameter, root length, number of leaves and root fresh weight were evaluated in the plants, and the root gall index (RGI) of the plants and the number of eggs per female of the nematode were determined. The data were compared by ANOVA, and the difference between the means was determined by the Tukey Test ($p \leq 0.05$) of the SAS 9.0 statistical package. The joint application of *T. asperellum* strain *Ta.90* and biochar enriched with organic fertilizer significantly reduced the number of eggs per nematode female and RGI observed in the control without application. In all treatments where *T. asperellum* strain *Ta.90* was applied, the negative effect of the nematode was attenuated on development indicators such as height, stem diameter, number of leaves, and plant aerial part fresh weight.

Key words: Rice husk Biochar, biological control, *Meloidogyne incognita*, root knot nematode, Southern Root-Knot Nematode, Tomato.

*Correspondencia a: Daine Hernandez-Ochandía. E-mail: daine@cenca.edu.cu

Recibido: 28/02/2023

Aceptado: 08/08/2023

INTRODUCCION

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) representa uno de las hortalizas de mayor consumo a nivel mundial cultivándose, en 2021, más de cinco millones de hectáreas en todo el mundo, y en ese mismo año, en Cuba, se sembraron unas 28 785 ha (1).

Sin embargo, en el país, se registran todavía bajos rendimientos del cultivo con relación al potencial de los genotipos que se utilizan, debido a la sequía, altas temperaturas y salinidad de algunos suelos (2), así como a la incidencia directa de diversas plagas que provocan la disminución de los rendimientos y la vida útil de las plantaciones, en especial, la producción protegida de hortalizas (3).

Los nematodos representan una de las principales plagas del tomate, constituyendo el género *Meloidogyne* el más dañino y ampliamente distribuido, provocando pérdidas en los rendimientos a nivel mundial, entre 20 - 33 % (4). En Cuba, *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood (4) es la especie que más afecta al tomate en plantaciones tradicionales y protegidas. Aunque las pérdidas no se cuantificaron en campo, estudios en condiciones semicontroladas demostraron que estos organismos afectan indicadores del desarrollo de diversos genotipos (4) de ahí, la necesidad implementar medidas para su manejo.

La tendencia actual en los sistemas agrícolas es utilizar prácticas de control poco tradicionales (relación planta-plaga) teniendo en consideración un enfoque ecológico. Así lo reflejan los estudios bioecológicos de las plagas, la selección oportuna de agentes de control biológico y su combinación con materiales orgánicos (5).

El Biocarbón (*Biochar* en idioma inglés) es un material heterogéneo, poroso, rico en carbono aromático y minerales, que se obtiene de la transformación de diversos tipos de biomásas a través de pirólisis, y que se usa como enmienda para mejorar los suelos (6, 7). Su aplicación en la agricultura demostró efectos positivos, al reducir la incidencia y severidad de enfermedades de origen microbiano. Van Sinhet *et al.* (8) describieron que el biocarbón es una enmienda muy útil para el manejo de diferentes plagas, en tanto, su combinación con agentes de control biológico e incorporación al suelo ofrece numerosos beneficios, debido a que el gran contenido de carbono que posee le confiere propiedades eléctricas de oxidación y reducción, mejorando la actividad bioquímica en el suelo, a la vez que facilita el hábitat para diferentes microorganismos.

Una opción para el manejo de nematodos agalleros en hortalizas, podría ser el uso del Biocarbón con agentes de control biológico de amplio espectro de acción como *Trichoderma*, cuyas especies y cepas demostraron efectividad sobre hongos de suelo y nematodos (9). Diversos estudios desarrollados en Cuba, señalaron que cepas de *Trichoderma* spp. fueron

efectivas contra *Meloidogyne* spp. en condiciones semicontroladas (10,11,12).

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del biocarbón y *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg (cepa Ta.90) sobre el desarrollo de las plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se desarrolló entre el 5 de junio y el 30 de agosto de 2023, en las instalaciones del Departamento de Sanidad Vegetal, perteneciente al Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) (22°59'29.1"N 82°09'12.3"W) ubicado en el municipio de San José de las Lajas, provincia Mayabeque, Cuba.

Obtención de las plantas

Se utilizaron plantas de tomate del cv. 'Elbita', a partir de semillas suministradas por el Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova", que se colocaron a germinar en bandejas de 260 alvéolos, con sustrato (mezcla de material orgánico (estiércol) y suelo). Las plántulas de tomate que emergieron permanecieron en un aislador biológico del CENSA, a temperatura ambiente y riego en días alternos, hasta el montaje del ensayo.

Biocarbón

El biocarbón de cáscara de arroz (carboncillo) se preparó en un horno artesanal en el módulo de casas de cultivo "La Magela" (22° 50' 52.2" de latitud N y 82° 21' 50.5" de longitud O; 60 m.s.n.m) ubicado en el municipio de Quivicán, provincia Mayabeque, Cuba. Este establecimiento produce sustratos locales de alta calidad, a base de carboncillo (13). El carboncillo se trasladó al CENSA en sacos y se almacenó en un lugar fresco y sombreado; se tomaron muestras y analizaron en el Laboratorio de Nematología Agrícola donde se les determinó pH, Conductividad Eléctrica (CE) y Potencial REDOX. Se conoció el pH, utilizando pHmetro EXTECH® con intervalo de pH entre 0,00 a 14,00; se determinó la conductividad eléctrica en un conductímetro portátil METTLER TOLEDO®, con un intervalo de medición de conductividad entre 0,010 µS/cm - 500 mS/cm, y para el Potencial de Óxido Reducción (Redox) se utilizó un medidor ORP METER® modelo: YK-23RP, con un intervalo de medición entre -1,999 mV ~ +1,999 mV. El material se caracterizó por presentar pH: 7,3; CE: 0,19 ds.m⁻¹ y REDOX: 410,02 mV.

Tratamiento de los sustratos

Se utilizó suelo Ferrasol Eútrico (14) y estiércol vacuno descompuesto, ambos materiales se esterilizaron en autoclave (121°C, 1 h) por separado. Se preparó

el sustrato con una proporción de 25 % de abono orgánico, 25 % de biocarbón de carboncillo y 50 % de suelo. Para el estudio, se utilizaron macetas de 1 kg de capacidad (1 L).

Cultivo del hongo

Para este estudio se seleccionó la cepa *Ta.90* de *T. asperellum*, por su efecto sobre *M. incognita* (15). La cepa de *T. asperellum* se cultivó en placas Petri de 90 mm (Ø) que contenían medio de cultivo Agar Malta (AM) (BioCen) e incubó a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ y régimen de oscuridad constante por 72 h. Posteriormente, a las colonias obtenidas se les adicionaron 10 ml de agua destilada estéril y con una espátula de Drygalsky estéril se desprendieron las esporas para obtener la suspensión que se ajustó a la concentración de conidios de 10^8 UFC.ml⁻¹, y se aplicaron 5 ml por maceta.

Preparación del inóculo de nematodos

Se utilizó una población pura de *M. incognita* raza fisiológica 2, proveniente de solanáceas, identificada y caracterizada por Gómez (12) y mantenida en los aisladores biológicos del CENSA en plantas de tomate cv. 'Elbita'. El inóculo consistió en una suspensión de juveniles infestivos de segundo estadio (J_2) y huevos que se prepararon siguiendo la metodología de Hussey y Barker (16). Las plantas se inocularon cuando tenían un par de hojas verdaderas, con una sola densidad poblacional (P_i) 0,5 J_2 /huevos por gramo de suelo⁻¹, equivalente a 500 J_2 /huevos por maceta⁻¹. El inóculo se introdujo a través de cuatro orificios hechos en el sustrato, cerca del sistema radical de la planta.

Se conformaron 11 tratamientos (Tabla 1) con cinco repeticiones cada uno (macetas) que se dispusieron en el aislador biológico del CENSA, siguiendo un diseño aleatorizado por completo.

Las plantas se mantuvieron en los aisladores con fotoperiodo natural, temperaturas entre 28-30°C/día y 23-25°C/noche y recibieron riego en días alternos. Se evaluó, semanalmente, el estado sanitario de las plantas. Transcurridos 60 días, las plantas se extrajeron y trasladaron a los Laboratorios de Nematología Agrícola y Micología Vegetal del CENSA, para su análisis.

Parámetros de desarrollo de las plantas

Se midió altura de las plantas, longitud de raíces principales, diámetro del tallo, masa fresca aérea y de raíces. La altura de las plantas (desde la base hasta el ápice) y la longitud de raíces, se evaluaron con el uso de una cinta métrica. Para establecer el diámetro de los tallos, a nivel del cuello de la raíz, se empleó un pie de rey. La masa fresca se determinó en una balanza técnica electrónica marca KERN® (e=0,01g).

Análisis Nematológico

Los sistemas radicales de las plantas se lavaron cuidadosamente con abundante agua potable y secaron en papel absorbente Whatman No. 4. A continuación, se observaron las raíces en el microscopio estereoscópico STEMI DV4®. Las raíces se tiñeron con fuschina ácida (0,05 %) al calor durante 30 segundos y se preservaron en placas Petri con lactofenol sin colorante, para su posterior análisis.

Tabla 1. Descripción de los tratamientos evaluados en ensayo en condiciones semicontroladas para determinar el efecto de biocarbón de cáscara de arroz, abono y *T. asperellum* sobre el desarrollo de plantas de tomate y población de *M. incognita* / Description of the treatments evaluated in the trial under semi-controlled conditions to determine the effect of rice husk biochar, manure, and *T. asperellum* on tomato development and *M. incognita* population

No	Denominación abreviada	Descripción
1	Tomate solo	Planta en suelo estéril
2	Tomate + biocarbón	Planta en maceta con suelo estéril y biocarbón (25 %)
3	Tomate + <i>Ta.90</i>	Planta en maceta con suelo estéril y <i>Ta.90</i> (10^8 UFC.ml ⁻¹)
4	Tomate + abono orgánico	Planta en maceta con suelo estéril y abono (25 %)
5	Tomate + biocarbón + <i>Ta.90</i> + abono orgánico	Planta en maceta con suelo estéril, biocarbón (25 %) + abono (25 %) y <i>Ta.90</i> (10^8 UFC.ml ⁻¹)
6	Tomate + <i>M. incognita</i>	Planta en suelo estéril + <i>M. incognita</i> (0,5 J_2 / g de suelo)
7	Tomate + <i>M. incognita</i> + <i>Ta.90</i>	Planta en maceta con suelo estéril, <i>M. incognita</i> (0,5 J_2 / g de suelo) y <i>Ta.90</i> (10^8 UFC.ml ⁻¹).
8	Tomate + <i>M. incognita</i> + Biocarbón	Planta en maceta con suelo estéril + Biocarbón (25 %) inoculada con <i>M. incognita</i> (0,5 J_2 / g de suelo)
9	Tomate + <i>M. incognita</i> + abono orgánico	Planta en maceta con suelo estéril + abono (25 %), Planta en <i>M. incognita</i> (0,5 J_2 / g de suelo)
10	Tomate + <i>M. incognita</i> + Biocarbón + <i>Ta.90</i>	Planta en maceta con suelo estéril + biocarbón (25 %), inoculada con <i>M. incognita</i> (0,5 J_2 / g de suelo) y <i>Ta.90</i> (10^8 UFC.ml ⁻¹)
11	Tomate + <i>M. incognita</i> + abono orgánico + Biocarbón + <i>Ta.90</i>	Planta en maceta con suelo estéril + abono (25 %) + Biocarbón (25 %), inoculada con <i>M. incognita</i> (0,5 J_2 / g de suelo) y <i>Ta.90</i> (10^8 UFC.ml ⁻¹)

Para determinar el Índice de Agallamiento (IA) se utilizó la escala de Taylor y Sasser (17). La cantidad de juveniles que se encontraban en el suelo de las macetas, se determinó mediante el método de bandeja de Whitehead y Hemming modificadas (18). Con los datos de juveniles en suelo y raíces, se determinó el Factor de Reproducción.

Factor de reproducción (FR): Parámetro que establece la cantidad de veces que se reprodujo la población inicial (Pi): $FR = \text{Población final (Pf)} / \text{Población inicial (Pi)}$ (niveles iniciales). La población final de nematodos se estableció mediante la suma de la población extraída de las raíces, utilizando el método de Hussey y Barker (16) y la extraída del sustrato, evaluando tres réplicas/maceta.

Número de huevos por hembra

Se tomaron, al azar, 10 hembras con sus ootecas de cada una de las cinco plantas (réplicas). Las ootecas se colocaron sobre portaobjetos en una gota de agua destilada y se les colocó un cubre-objeto. Las láminas se observaron al microscopio óptico (Zeiss®, 40 x) y se contó el número de huevos por cada hembra.

Análisis del antagonista

En el Laboratorio de Micología Vegetal del CENSA, se evaluó la colonización endofítica de *T. asperellum*. Las muestras de raíces, de cada tratamiento, se lavaron cuidadosamente con abundante agua potable y se secaron al aire sobre papel de filtro Whatman No. 4.

Seguidamente, las raíces se desinfectaron con hipoclorito de sodio (1 %) durante 30 s y después con alcohol (70 %) durante 30 s. Entre cada desinfección y al final de este tratamiento, las muestras se lavaron tres veces con agua destilada estéril. A continuación, las raíces se cortaron en fragmentos de un cm y se homogenizaron. Por último, se seleccionaron 10 segmentos al azar y se sembraron en placas Petri ($\varnothing = 90$ mm) contentivas de PDA (BioCen) con antibiótico cloranfenicol $0,1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; e incubaron en una incubadora (Friocell®) a temperatura de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y oscuridad. Las determinaciones se realizaron por triplicado, con evaluaciones cada 24 horas durante cinco días, hasta la aparición de las estructuras fúngicas del hongo.

Colonización de ootecas: Para ello se homogeneizaron las raíces de las plantas de tomate de los tratamientos donde estaba presente *T. asperellum* y se tomaron 20 ootecas. Se prepararon dos placas con medio de cultivo agar agua más antibiótico (cloranfenicol $0,1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), para cada tratamiento. Se tomaron seis ootecas por tratamiento, se lavaron con agua destilada estéril tres veces y se sembraron tres ootecas en cada placa. Las placas inoculadas se incubaron durante cuatro días a 28°C . Para evaluar el estado interior del

huevo, las masas de huevos se observaron al microscopio óptico con 160 de aumento.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza simple, y la diferencia entre las medias se estableció a través del test de Tukey $p(0,05)$ del paquete estadístico SAS, Versión 9.0.

RESULTADO Y DISCUSION

Parámetros de desarrollo de las plantas

En todos los parámetros evaluados, se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 2). En los tratamientos donde se aplicó el biocarbón y *T. asperellum* cepa-90, se beneficiaron los parámetros agronómicos de las plantas.

Las plantas con mayor altura y diámetro provenían de los tratamientos con *T. asperellum* cepa Ta. 90 y Biocarbón, con diferencias significativas respecto a los valores observados en las plantas inoculadas con nematodos. Las plantas tratadas con *T. asperellum* (con o sin nematodos) y biocarbón, tuvieron los valores mayores de número hojas y masa fresca aérea, sin diferencias significativas entre ellas, pero sí respecto con el resto de los tratamientos.

Con relación a la masa fresca de raíces, los mayores valores se obtuvieron en los tratamientos con nematodos, sin diferencias significativas entre ellos (con y sin *Trichoderma*) pero difirieron con el resto de los tratamientos (Tabla 2).

La presencia de nematodos agalleros en las raíces de las plantas provoca efectos diversos sobre el crecimiento y el rendimiento, debido a su acción parasítica. De manera general, los nematodos afectan de negativamente los parámetros relacionados con el desarrollo de las plantas, sólo la masa y el volumen de las raíces se incrementa en las plantas con nematodos, debido a la presencia de las agallas (19).

Por otra parte, se evidenció que la aplicación de *T. asperellum* cepa Ta. 90 y Biocarbón atenuó el efecto negativo del nematodo en parámetros, como altura, diámetro del tallo, número de hojas y masa fresca aérea, mostrando plantas con buen vigor al final del experimento (Tabla 2). Esto sugiere que sería acertado el uso de esta cepa en la producción de hortalizas, pues se conoce que los nematodos, generalmente, están presentes en la mayoría de los suelos productivos del país. Según Infante *et al.* (20) la aplicación de *T. asperellum* en las plantas mejora la respuesta de las plantas ante el ataque de patógenos en la raíz, contribuye a la solubilidad de nutrientes del suelo y beneficia el desarrollo de las raíces al incrementar la formación de pelos radiculares y por consiguiente, un enraizamiento más profundo. Por su parte, Gonzalez *et al.* (21) señalaron que *T. asperellum* tiene la capa-

Tabla 2. Efecto sobre los parámetros agronómicos de las plantas de tomate cultivar 'Elbita' de la interacción *M. incognita* - *T. asperellum* y Biocarbón / Effect on the agronomical parameters of plants of tomato cv."Elbita" and *M. incognita* - *T. asperellum* and biochar interaction.

Tratamientos	Altura de plantas (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Número hojas	Masa fresca aérea (g)	Masa fresca raíces (g)	Long. raíz (cm)
1	67,14 b	2,86 c	7,86 c	16,69	6,17c	15,43 c
2	92,14 a	5,86 a	9,71 b	46,44 ab	8,6 c	25,3ab
3	107,7 a	6,71 a	10,6 b	55,32 b	12,6 b	32,4 a
4	110 a	5,76 a	8,86 ab	51,48 b	10,4 ab	31,7a
5	75 b	4,74 b	6,73 c	38,49 c	12,5b	21,1c
6	37,14 c	1,86 c	5,06 c	16,09 c	5,17c	18,3 c
7	62,14 b	6,86 a	12,71 a	46,4 b	13,6 a	30,5 b
8	137,57 a	3,71 c	9,06 b	55,02 b	11,6 b	27,1 b
9	94,43 a	5,8 a	12,6 a	61,48a	13,9 a	28,6 b
10	117a	6,05 a	13,5a	65,06a	15,3 a	33,5 a
11	130 b	6,91 a	16,3 a	73 08a	17,05 a	35,9 a
ESx	2,05	3,71	0,63	6,09	1,3	1,51

cidad de secretar más de 70 metabolitos, entre ellos, sustancias estimuladoras del crecimiento y desarrollo de las plantas.

Análisis nematológico

Índice de agallamiento

El agallamiento que se produjo en el experimento fue de medio a alto, pues los valores de IA oscilaron, entre 3 y 5 en los tratamientos del 6 al 11, respectivamente (Tabla 3). Resultados similares obtuvieron Baños *et al.* (22) quienes informaron la disminución del IA provocado por *Meloidogyne* spp. con la aplicación de *Trichoderma viride* Pers (cepa C-66) y *Trichoderma harzianum* Rifai (cepa A-34).

Tabla 3. Efecto sobre Índice de Agallamiento (IA) y Factor de Reproducción (FR) de las plantas de tomate cultivar 'Elbita' y la interacción *M. incognita* - *T. asperellum* y Biocarbón. / Effect on the galling index (GI) and the Reproduction Factor of tomato plants of the cultivar 'Elbita' and *M. incognita* - *T. asperellum* and biochar interaction.

Tratamientos	(IA)	FR
1-Tomate solo	0	0
2-Tomate + Ta-90	0	0
3-Tomate + Biocarbón +Ta.90	0	0
4-Tomate + Biocarbón	0	0
5-Tomate+ A. Orgánico	0	0
6-Tomate + <i>M. incognita</i> (0,5 J ₂ / g de suelo)	5	2,5
7-Tomate + <i>M. incognita</i> + Biocarbón	5	1,5
8-Tomate + <i>M. incognita</i> + A. Orgánico	4	1,5
9-Tomate + <i>M. incognita</i> +Ta.90	3	1,3
10-Tomate + <i>M. incognita</i> + Biochar +Ta.90	3	1,2
11-Tomate + A. Orgánico+ Biocarbón + Ta.90+ <i>M. incognita</i>	3	1,1

La especie *M. incognita* parasitó y se reprodujo en el cultivar de tomate "Elbita", con valores de Factor

de Reproducción (FR) variables en los diferentes tratamientos, obteniéndose el mayor valor del FR en el tratamiento 6 (Tomate + *M. incognita* (0,5 J₂/ g de suelo) y el menor, en el 11(Tomate +*M. incognita* + Abono Orgánico+ Biocarbón + Ta.90) donde se encontraba la combinación de agente de control biológico y biocarbón (Tabla 3).

No se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) con relación al número de agallas por sistema radical entre los tratamientos (6 al 11); sin embargo, se produjo una disminución marcada en el número medio de agallas por raíz. En el tratamiento 9 (Tomate + *M. incognita* +Ta.90) fue de 75,5 agallas por raíz y 10 (Tomate + *M. incognita* + Biochar +Ta.) de 60,2; mientras, ese indicador fue de 150 agallas por raíz en las plantas no tratadas.

Huevos/ hembra

La mayor cantidad de huevos por hembra (Fig.1) se produjo en el tratamiento 6, donde el nematodo se inoculó en suelo estéril (0,5 J₂/ g de suelo) solo con la planta de tomate 'Elbita', con una reproducción cercana a los 300 huevos/hembra. Cada hembra puede producir entre 30 a 80 huevos por día, en dependencia de las condiciones ambientales y el hospedante (23) por lo que, al culminar el estudio, los valores obtenidos se corresponden con lo informado por estos mismos autores para el género *Meloidogyne* spp. Por otra parte, Goswami *et al.* (24) informaron la reducción del número de huevos por ootecas en experimentos en los que se aplicaron diferentes especies/cepas de *Trichoderma* spp, donde disminuyó de manera significativa la multiplicación del nematodo e IA en relación al control en plantas del tomate.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo planteado por Sharon *et al.* (25) acerca de que especies del género *Trichoderma* poseen la habilidad de parasitar diferentes estadios del ciclo de vida de *Meloidogyne*, señalando que la cepa 203 de *T. asperellum* disminuyó

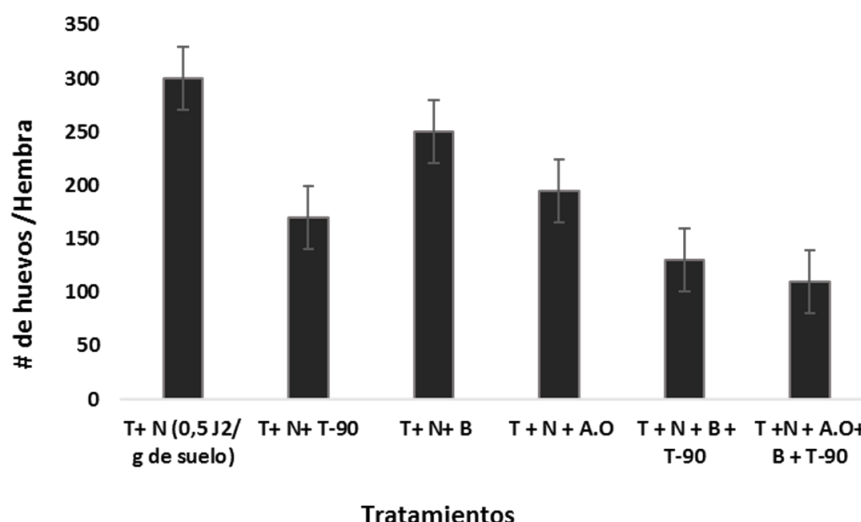


Figura 1. Efecto de diferentes tratamientos de *T. asperellum* cepa *Ta. 90* y su combinación con biocarbón y abono orgánico sobre el número de huevos por hembra de *M. incognita* raza 2/ Effect of different treatments of *T. asperellum* strain *Ta. 90* and its combination with biochar and organic fertilizer on the number of eggs per female of *M. incognita* race 2.

el número de hembras fértiles y el número huevos por hembra. Los resultados obtenidos indicaron que al aplicarse la cepa de *T. asperellum* disminuyó el número de huevos y se redujo el número de huevos por hembras, aspecto que reviste importancia práctica.

Otros estudios realizados por Silva de Araujo *et al.* (26) demostraron que la aplicación conjunta de cepas de *T. harzianum* y Biocarbón, además de disminuir el crecimiento del micelio de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en frijoles, estimuló el crecimiento de su masa foliar.

El IA, generalmente, es reflejo de las densidades poblacionales de nematodos agalleros en el suelo (17); sin embargo, las relaciones que se producen entre hospedantes y nematodos son complejas y no siempre ocurre la presencia de agallas notables en los cultivos. En el cultivar de tomate evaluado, "Elbita", el tamaño de las agallas que se observó fue el típico informado para esta especie de nematodo por Taylor y Sasser (17) donde las raíces mostraban agallas en forma de collar y al ser examinadas, se evidenció la presencia de hembras desarrolladas por completo y con huevos fértiles.

Bonanomi *et al.* (27) informaron las potencialidades que poseen las aplicaciones de enmiendas en el suelo para reducir otras plagas, como hongos que producen enfermedades. Posteriormente, estos autores, propusieron la mezcla de estas enmiendas con el biocarbón para, además de reducir los patógenos de suelo, conferirle a las plantas propiedades que les permitan inducir los sistemas de defensa, incrementar la abundancia de microorganismos benéficos y mejorar el entorno de la rizosfera de la planta con el consiguiente aumento del nivel de absorción de nutrientes en las plantas.

En nuestro experimento, se corroboró la pertinencia de la aplicación conjunta del biocarbón y *T. asperellum* cepa-90, donde se observó la disminu-

ción del índice de agallamiento (IA) y el número de huevos fértiles por hembra, a diferencia de los tratamientos donde no se aplicó *T. asperellum* cepa-90, en los cuales se incrementó de manera notable el IA hasta y se produjeron más de 200 huevos fértiles por hembra (Fig 1).

Otros autores como Debode *et al.* (28) realizaron estudios sobre la capacidad que posee el biocarbón como soporte de organismos benéficos y para incrementar la capacidad de supresión de enfermedades. Esto último convierte al biocarbón en una herramienta de gran utilidad para la salud del suelo y las plantas. Osei *et al.* (29) realizaron un experimento utilizando el biocarbón como enmienda al suelo y para manejar las poblaciones de nematodos fitoparásitos, lo cual mostró una disminución significativa en las poblaciones del nematodos y un decrecimiento del IA en las plantas evaluadas. En otras investigaciones realizadas por Sharf *et al.* (30) se obtuvieron resultados similares, al combinarse biofertilizantes y fertilizantes para el manejo poblaciones de *M. incognita*, logrando la disminución del IA al final del experimento. Por su parte, Abdelnabby *et al.* (31), realizaron investigaciones sobre el uso del biocarbón en sinergia con productos de origen químico para el manejo *Meloidogyne* en tomate, demostrando la disminución de poblaciones y la inhibición de la patogenicidad de los J₂, así como los daños causados en su cutícula.

Análisis del antagonista

El 100 % de los fragmentos de raíz provenientes de los tratamientos 3, 5, 7, 10,11 mostraron crecimiento del hongo, lo que demostró la permanencia del antagonista en las raíces de las plantas. También, que es altamente variable la capacidad de las especies del género *Trichoderma* de permanecer en suelo y raíces. Esta

depende de la especificidad de la cepa utilizada y de sus modos de acción. Martínez *et al.* (32) enfatizaron que es fundamental el estudio de los mecanismos relacionados, teniendo en cuenta que en las interacciones antagónicas pueden estar involucrados diferentes mecanismos de acción y que la multiplicidad de estos en un aislamiento, es una característica importante para su selección como agente de control biológico.

Se pudo constatar que la cepa *Ta. 90* de *T. asperellum* parasitó las raíces y colonizó el 80 % de las ootecas analizadas. En las ootecas parasitadas se observó desorganización en el contenido interno de algunos huevos. La envoltura o cubierta de los huevos de nematodos posee tres capas, una externa de vitelina, una media de quitina y otra interna de lípidos (33). La infección de los huevos por parte de cepas de *Trichoderma* spp., es posible debido al incremento de la actividad de enzimas como quitinasas y proteasas cuando el hongo entra en contacto con los huevos o juveniles. La actividad de tales enzimas, destruye la cubierta del huevo y favorece la penetración del hongo (34).

Hernández-Ochandía *et al.* (14) realizaron estudios con diferentes cepas de *T. asperellum*, encontrando que la cepa *Ta.90* mostró mejores resultados en la disminución del número de huevos por hembra y la colonización de ootecas. Benedetti *et al.* (35) demostraron en su estudio que el empleo de *Trichoderma* spp. para el manejo de poblaciones de nematodos en suelo es muy acertada, al reducirse en más de un 50 % el número de huevos por hembra.

La disminución significativa del número de agallas y del número de huevos por hembras reviste importancia práctica. La cepa *Ta.90* y el biocarbón de cabecilla de arroz enriquecido con abono orgánico, tuvieron efectos positivos sobre los parámetros vegetativos evaluados, aun en los tratamientos donde el nematodo estaba presente; lo que indica la presencia de compuestos que favorecen el desarrollo y posterior reproducción del cultivo, aspectos que deben ser objeto de estudios futuros, en condiciones de campo, encaminados a determinar la eficacia de las aplicaciones conjuntas de la cepa *Ta.90* y el biocarbón de cabecillas de arroz para el manejo de nematodo agallero en tomate.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el marco del Proyecto BioC (*Re-cycling of biomass nutrients and carbon for advanced organic fertilization in an ecosmart and climate positive agriculture on Cuba* (Bio-C), con financiamiento de SNSF, Suiza; FONCI y Programa Sectorial de Salud Animal y Vegetal, del MINAG, Cuba. De igual modo, los autores agradecen al ingeniero Julio César Hernández y a Olga Nelly O'Reilly por elaborar y donar el carboncillo de arroz para la realización de este experimento.

REFERENCIAS

1. FAOSTAT: Base de Datos de Estadísticas de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO): Consumo mundial de solanáceas (tomate)'. 2022. Disponible: <https://www.faostat.com> (Acceso: 5-2-2023)
2. Camejo Serrano Y, Miranda Caballero A. Factors Affecting Tomato Yield in Cuba. *Environmental Sciences and Ecology: Current Research (ESECR)*. 2022; 3(5):1067.
3. Rodríguez Hernández MG, Fernández González E, Casanueva Medina K, Gandarilla Bastarrechea H, Casanova Morales AS, Hernández Salgado JC (Eds). Manual práctico para la producción protegida de hortalizas en Cuba. 2023. Instituto de Investigaciones Hortícolas "Liliana Dimitrova"-Grupo Agrícola PNUD, Cuba. ISBN: 978-959-7111-71-9. Disponible en: <https://www.undp.org/sites/g/files/zskgke326/files/2023-08/PNUD-Cuba-manual-hortalizas-prottegida.pdf>
4. Gómez L, Enrique R, Hernández-Ochandía D, Miranda I, González E, Peteira B, Rodríguez M.G. Susceptibilidad de genotipos de *Solanum lycopersicum* L. frente a *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood. *Rev. Protección Veg.* 2012; 27(2):111-116.
5. Mateille T, Cadet P, Fargette M. Control and management of plant parasitic nematodes communities in a soil conservation approach. En: A. Ciancio, K. G. Mujeri (Ed.). *Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain crops nematodes*. Springer. 2008. 79-97pp.
6. Cornelissen G, Pandit NR, Taylor P, Pandit BH, Sparrevik M, Schmidt H.P (2016). Emissions and Char Quality of Flame-Curtain "Kon Tiki" Kilns for Farmer-Scale Charcoal / Biochar Production. *PLoS ONE*; 11(5):e0154617. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154617>
7. Sokchea H, Borin K, Preston T.R. Effect of biochar from rice husk (combusted in a downdraft gasifier or a paddy rice dryer) on production of rice fertilized with biodigester effluent or urea. *Livestock Research for Rural Development*. 2013; 25, Article # 4.
8. Van Sinh N, Risako K, Doan Thi TL, Nguyen Thi KP, Koki T. Influence of Rice Husk Biochar on Soil Nematode Community under Upland and Flooded Conditions: A Microcosm Experiment. *Agronomy*. 2022; 12:378. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020378>.
9. Liriano González R, Mirabal Gutiérrez O, Rodríguez Barrera R, Viltres Brizuela M. Uso del hongo *Trichoderma* spp. para el manejo de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en tomate. *Centro Agrícola*. 2012; 39 (4): 49-54.

10. Santana Baños Y, del Busto Concepción A, Rodríguez Hernández MG, Rodríguez FL, Maqueira Hernández D. Interacción de *Trichoderma harzianum* Rifai y *Azadirachta indica* A. Juss. sobre una población de *Meloidogyne* spp. en plántulas de *Solanum lycopersicum* L. Rev. Protección Veg. 2016; 31(1):114-119.
11. Quesada-Mola Y, Fernández-González E, Casanueva-Medina K, Ponce-Grijuela E, Márquez-Gutiérrez ME. Actividad biológica de nuevas cepas cubanas de *Trichoderma* spp. efectivas en el control de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. Revista Cubana de Ciencias Biológicas. 2019;7 (1):1-9.
12. Gómez L. Diagnóstico de nematodos agalleros y prácticas agronómicas para el manejo de *Meloidogyne incognita* en la Producción Protegida de Hortalizas. [Tesis en opción al grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas]. Universidad Agraria de la Habana, Cuba. (2007).100pp.
13. FAO-MINAG-ACTAF. Producción de posturas de hortalizas en cepellón con el uso de los sustratos locales. En: Iniciativas y evidencias innovadoras de agricultura sostenible y agroecología para el desarrollo rural, escalables a políticas públicas en Cuba. Oficina de FAO en Cuba. La Habana. 2021.
14. Hernández A, Pérez J, Castro N, Bosch D. Clasificación de los suelos de Cuba 2015. Ediciones INCA, Mayabeque, Cuba. 2015. 91 pp
15. Hernández-Ochandía D, Rodríguez M G, Peteira B, Miranda I, Arias Y, Martínez B. Efecto de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg sobre el desarrollo del tomate y *Meloidogyne incognita* (Kofoid Y White) Chitwood1 Rev. Protección Veg. 2016;30 (2): 139-147
16. Hussey RS, Barker KB. A comparison of methods of collecting inoculum of *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Dis Report. 1973; 57: 1025-1028.
17. Taylor AL, JN Sasser. Biology, identification and Control of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* species). International Meloidogyne Project'. Contract No. AID/ta-c-1234. A Cooperative Publication of the Department of Plant Pathology North Carolina State University and the United States agency for international Development. Printed by North Carolina State University Graphics. 1978.153pp
18. Whitehead AG, Hemming J.R. A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. Annals of Applied Biology.1965;55: 25-38.
19. Moens M., Perry R.N., Starr J.L. *Meloidogyne* Species - a diverse group of novel and important Plant Parasites. En: Root-knot Nematodes. Moens M., R.N. Perry, J.L. Starr (Eds). CAB International. 2009.1-17.
20. Infante D, González N, Reyes Y, Martínez B. Evaluación de la efectividad de doce cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels sobre tres fitopatógenos en condiciones de campo. Rev. Protección Veg. 2011; 26 (3):194-197.
21. González I, Infante D, Martínez B, Arias Y, González N. Inducción de quitinasas y glucanasas en cepas de *Trichoderma* spp. promisorias como agentes para el control biológico. Biotecnología Aplicada.2012;29:7-11.
22. Baños Y, del Busto A, Cruz R, Irisley Aguiar, Palomino L.Efecto de enmiendas orgánicas y *Trichoderma* spp. en el manejo de *Meloidogyne* spp. Rev. Brasileña de Agroecología.2010; 5(2):224-233.
23. Sikora RA, Coyne D, Hallmann J, Timper R. Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. 3rd.Edition. CAB International and USDA.2018.876 pp.
24. Goswami BK, Pandey RK, Rathour KS, Bhattacharya C, Singh L. Integrated application of some compatible biocontrol agents along with mustard oil seed cake and furadan on *Meloidogyne incognita* infecting tomato plants. Journal of Zhejiang University.2006; 7(11):873-875.
25. Sharon E, Chet I, Spiegel Y. *Trichoderma* as biological control Agent. Biological Control of plant parasitic nematodes: Building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms. Progress in Biological Control.11. K. Davies and Y. Speigel (Eds.).2011. 183-201, DOI 10.1007/978-1-4020-9648-8_8.
26. Silva de Araujo A, Assay Blum LE, Figueiredo C. Biochar and *Trichoderma harzianum* for the Control of *Macrophomina phaseolina*. Brazilian Archives of Biology and Technology.2019.62.
27. Bonanomi G, Antignani V, Pane C, Scala F. Suppression of soilborne fungal diseases with organic amendments. Journal of Plant Pathology.2007; 89(3):311-324. DOI 10.1590/1678.4324-2-10180259
28. Debodea J, Ebrahimia N, D'Hosea T, Cremeliea P, Viaene N, Vandecasteele B. Has compost with biochar added during the process added value overbiochar or compost to increase disease suppression. Applied Soil Ecology. 2020; 153. 103571pp.
29. Osei K, Adama AI, Tagoe EC, Sackey-Asante J. Biochar effect on nematodes and insects population density, soil improvement and yield of okra. Pakistan Journal of Nematology.2020; 38(1): 103-106. <http://dx.doi.org/10.18681/pjn.v38.i01.p103-106>
30. Sharf R, Hisamuddin A, Ambreen Akhtar. Combined Effect of Biofertilizers and Fertilizer in the Management of *Meloidogyne incognita* and on the Growth of Red Kidney Bean

- (*Phaseolus vulgaris*). International Journal of Plant Pathology .2014;5 (1): 1-11.
31. Abdelnabby H, Hu, Huihui Z, Xiangru W. Furfural-Biochar-based formulations show synergistic and potentiating effects against *Meloidogyne incognita* in tomato. J Pest Sci.2018; 91: 203-218. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0872-x>
32. Martínez B, Infante D, Reyes Y. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Rev. Protección Veg.2013; 28(1):1-9.
33. Bird A. The structure of nematodes. Academic Press. New York and London.1971. 318pp.
34. Saheban N, Hadavi N. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Soil Biology & Biochemistry.2008;40(2):2016-20
35. Benedetti T, Huzar-Novakowiski J, Sordi E, and Carvalho RI, Campanhola Bortoluzzi E. Microorganisms in the biological control of root-knot nematode: A metanalytical study. Research, Society and Development.2021;10(6): 1-20.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflicto de intereses

Contribución de los autores: **Daine Hernandez-Ochandía:** Investigación, Visualización y Escritura - borrador original. **Danay Ynfante Martínez:** Investigación. **Roberto Enrique Regalado:** Investigación. **Ileana Miranda Cabrera:** Análisis formal. **Belkis Peteira Delgado-Oramas:** Conceptualización, Supervisión, Redacción y edición. **Mayra G. Rodríguez Hernández:** Conceptualización, Supervisión, Redacción y edición.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)