

ARTÍCULO ORIGINAL

Modelación de la interacción *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood- *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg en garbanzo (*Cicer arietinum* L.)

**Ileana Miranda Cabrera^{1*}, Daine Hernández-Ochandía¹, Yadira Hernández del Amo^{II},
Benedicto Martínez Coca¹, Mayra G. Rodríguez Hernández¹**

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

^{II}Universidad Agraria de La Habana (UNAH), San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: El objetivo de este trabajo fue simular la dinámica de interacción que se produce entre la cepa Ta-90 de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg y *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood, para demostrar el efecto del hongo como control biológico del nematodo en garbanzo (*Cicer arietinum* L.). La interacción fue simulada mediante el modelo determinístico propuesto por Anderson y May. Para el cálculo de los parámetros poblacionales que intervienen en el modelo, en condiciones semicontroladas, se realizaron dos tratamientos: 1) plantas inoculadas con *M. incognita* raza 2 a un nivel poblacional de 0,9 juveniles infestivos (J_2) por gramo de suelo y 2) al suelo estéril se aplicaron 5 ml (10^7 UFC.ml⁻¹) de la cepa Ta-90 de *T. asperellum* previo a la siembra del garbanzo y posterior a la inoculación del nematodo. Según un diseño completamente al azar, se distribuyeron cinco macetas por tratamiento. Luego de 35 días se realizó el conteo de número de huevos, J_2 , UFC en suelo, colonización de ootecas y porcentaje de parasitismo. Se demostró que la población del nematodo tiende a decrecer por la acción de *T. asperellum* y alcanzó valores por debajo del nivel de inóculo a partir de los 73 días. Además, se infiere que de una generación a otra la población se reduce en 35%, y esta disminución poblacional se logra en presencia de *T. asperellum* en niveles superiores a 10^4 UFC.ml⁻¹. Se propuso un segundo modelo de interacción, en el que se incorporó la dinámica de crecimiento del cultivo para ser validado en trabajos futuros que demuestren la acción del hongo en cada estadio biológico del nematodo.

Palabras clave: control biológico, ecuaciones diferenciales, modelos matemáticos, nematodos agalleros.

Modeling of the interaction between *Meloidogyne incognita* (Kofoid and Wwhite) Chitwood and *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg in chickpea (*Cicer arietinum* L.)

ABSTRACT: The objective of this work was to simulate the dynamics of the interaction *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood-*Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg (strain Ta-90) to demonstrate the effect of the fungus as a biological control of the nematode in chickpea (*Cicer arietinum* L.). The interaction was simulated by a deterministic model proposed by Anderson and May. For the calculation of the biological parameters involved in the model, two treatments were included under semi-controlled conditions, treatment 1: control chickpea plants with 0.9 nematode infective juveniles (J_2) per soil gram, treatment 2: chickpea plants with nematodes + 50 ml of *T. asperellum* (10^7 UFC.ml⁻¹). Five plants per treatment were used in a randomized experimental design. After 35 days, the number of eggs per female, number of J_2 , CFU, colonization of ootecas, and the parasitic activity of the fungus were evaluated. It was shown that the nematode population tended to decrease by the action of *T. asperellum*

and reached values below the level inoculated after 73 days. Besides, it was inferred that the population decreased in a 35% from a generation to the next one, and this population decline was achieved when the level of *T. asperellum* presence was higher than 10^4 CFU.ml⁻¹. A second model including the crop growth dynamics was proposed to be validated in future works to demonstrate the action of the fungus at each biological stage of the nematode life-cycle.

Key words: biological control, differential equations, mathematic models, root knot nematodes.

* Autor para correspondencia: Ileana Miranda Cabrera. Correo electrónico: ileanam@censa.edu.cu

INTRODUCCIÓN

El garbanzo (*Cicer arietinum* L.) constituye una leguminosa ampliamente apreciada por la población cubana (1). Contiene fibras y minerales como son el cobre, el manganeso, el hierro y el zinc, así como vitaminas A, B, C y E (2).

Hasta los años 90, las producciones de garbanzo en Cuba fueron moderadas. Para satisfacer la demanda del consumo interno, las importaciones se incrementaron desde el año 1992 hasta 2001, con un nivel promedio anual de 807,7 toneladas, a un costo promedio de 1000 USD por tonelada, atendiendo al código armonizado para garbanzo seco (3).

Los nematodos representan una de las principales plagas de las leguminosas a escala internacional (4), donde el género *Meloidogyne* es el más distribuido y dañino (5).

Un estudio reciente evidenció que el cultivar de Garbanzo Nacional 29, uno de los más extendidos en el país (3), resulta hospedante de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood raza 2 (6), por lo que este cultivar puede ser empleado como modelo para el estudio de interacciones entre la plaga (*M. incognita*) y agentes de control biológico u otras tácticas.

Los representantes del género *Trichoderma* se utilizan para el control de un amplio número de patógenos de suelo, debido a los diferentes mecanismos de acción que tiene este hongo (7). La efectividad de *Trichoderma* spp. en la disminución de los daños y el control de poblaciones de *Meloidogyne* spp. se informó por diferentes autores (8,9,10). Algunas cepas de *Trichoderma harzianum* Rifai pueden afectar a los nematodos formadores de agallas de dos modos: parasitismo directo en J2 y huevos o la producción de metabolitos tóxicos (9,10).

En Cuba, *Trichoderma* spp. se emplea, junto a otras tácticas, en el manejo de nematodos en cultivos hortícolas dentro del Programa Nacional de Agricultura Urbana y Cultivos Protegidos (11,12); se evaluaron en diversas especies y cepas de este organismo con efectividad sobre poblaciones de *Meloidogyne* spp. en diversas zonas del país (13, 14, 15, 16).

Para el estudio de las interacciones multitróficas que se producen entre plantas-plagas-agentes de control biológico, y de los factores que pueden influir en ellas, se desarrollaron diferentes modelos matemáticos con el objetivo de predecir la densidad de la plaga en interacción con un agente de control. En las interacciones nematodo-agente de control, se propuso el modelo *M. incognita* - *Pausteria penetrans*

(17,18), pero aún no se posee un modelo que explique la relación del *M. incognita-Trichoderma* spp. Este tipo de estudio ofrecería elementos a los investigadores que permitirían optimizar los diseños experimentales y predecir el comportamiento de la interacción en campo.

El objetivo del presente trabajo fue simular la interacción *M. incognita-T. asperellum* cepa Ta-90 y estimar el nivel de inóculo del agente de control biológico que, aplicado en campo, logrará la reducción mantenida de la población del nematodo en suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló en las instalaciones de la Dirección de Sanidad Vegetal, perteneciente al Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), ubicado en el municipio San José de las Lajas, Provincia Mayabeque, Cuba (23° longitud norte y 82° de longitud oeste), en el periodo comprendido entre el 22 de febrero y el 30 de marzo de 2015. Las temperaturas en el periodo se midieron con hidrotérmetro digital Loger TESTO® y oscilaron entre 21-25°C.

El experimento se desarrolló en condiciones semicontroladas (aisladores biológicos) y se utilizaron macetas de 500 g de capacidad, donde se colocó sustrato, que consistió en una mezcla de suelo y abono orgánico de origen animal (3:1), previamente esterilizado (dos horas a 121°C) en autoclave.

Como cultivo se usó garbanzo (*C. arietinum*, cv Nacional 29), que es hospedante de *M. incognita* (6), cuyas semillas procedían del Departamento de Genética del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y tenían 98% de germinación.

Como inóculo de nematodos se empleó una suspensión de huevos y juveniles de segundo estadio (J₂) de *M. incognita* raza 2, obtenida a partir de una población mantenida en los aisladores biológicos del CENSA, utilizando tomate como hospedante (*Solanum lycopersicum* L. cv. Campbell-28). Esta población, perteneciente a la colección de la institución, fue previamente identificada a través de técnicas morfológicas, fisiológicas y moleculares (19). Para obtener la suspensión de nematodos se utilizó la técnica de Hussey y Barker (20) y la suspensión se aplicó a razón de 0,9 J₂ por gramo de suelo⁻¹(sustrato) en cada maceta.

Como agente de control biológico se utilizó la cepa Ta.90 de *T. asperellum*, identificada por métodos tradicionales y moleculares (21) y seleccionada para este estudio por lograr, después de 24 horas de

aplicación, altos niveles de mortalidad de J_2 de *M. incognita* en comparación con otras cepas de esta especie (16).

Para obtener el inóculo fungoso, se sembraron discos de 5 mm (\varnothing) de la cepa en el centro de placas de 90 mm de diámetro que contenían medio de cultivo Agar extracto de malta (AM, Biocen) y se incubaron en 30°C durante 72 h. A cada placa se le adicionaron 20ml de agua estéril y se colectaron los conidios. Se determinó la concentración de esporas y se ajustó a 10^7 UFC ml⁻¹.

A las 24 horas de haberse inoculado el sustrato con nematodos, se aplicaron 50 ml del hongo en cada maceta que lo requería. A los siete días de inocular *T. asperellum*, se sembró una semilla de garbanzo (*C. arietinum*) por maceta y quedó establecido el experimento.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con cinco macetas (réplicas) por cada tratamiento:

Tratamiento 1: Plantas de garbanzo inoculadas con nematodos

Tratamiento 2: Plantas de garbanzo con nematodos más 50 ml de *T. asperellum* (10^7 UFC ml⁻¹)

Las plantas se mantuvieron en los aisladores durante 35 días, tiempo que garantiza la reproducción del nematodo (22); recibieron riego días alternos y se revisó semanalmente su estado sanitario.

Trascurrido este tiempo, se extrajeron las plantas y se tomaron muestras de suelo; se llevaron al Laboratorio de Nematología del CENSA donde se evaluaron las variables:

- Huevos producidos por hembra: se tomaron al azar; de cada una de las cinco plantas, cinco hembras con sus ootecas. 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 marca (ZEISS®) con 200 aumentos y se contó el número de huevos.

- Juveniles de segundo estadio (J_2) en suelo: en los tratamientos se tomaron cinco muestras de suelo de 5 g cada una, que se procesaron por el método de embudos Baermann. A las 72 horas se desmontaron los tubos de ensayos y se sometieron a temperatura de 52°C por dos minutos. A cada tubo de ensayo se le añadió, una gota de solución TAF (23). Se contaron las muestras utilizando el microscopio estereoscopio Zeiss® con 160 aumentos.

Se analizaron tres réplicas de cada tratamiento en el Laboratorio de Micología Vegetal del CENSA.

De las variantes correspondientes se tomaron 5 g de suelo, se homogeneizaron y se secaron al ambiente. Posteriormente, se adicionó un gramo en una probeta estéril y se enrazó hasta 10 ml con agua destilada estéril. De esta suspensión se hicieron diluciones seriadas hasta 10^{-2} . Se tomaron 10 μ l de la suspensión de las últimas diluciones, se depositaron en placas ($\varnothing=70$ mm) contentivas de PDA y se dispersaron con una espátula de Drigalski; luego, las placas se incubaron en oscuridad (30°C; 72 h). Se contaron las colonias por placa y se determinó la concentración de conidios.

Para determinar la colonización de ootecas se tomaron seis ootecas por tratamiento, se desinfectaron con hipoclorito de sodio (1%); posteriormente, se lavaron con agua destilada estéril tres veces y se sembraron tres en cada placa. Las placas inoculadas se incubaron durante cuatro días a $28\pm 2^\circ\text{C}$.

En el tratamiento con *T. asperellum* se cuantificó el número de ootecas parasitadas, las cuales se rompieron de forma mecánica y se colectaron 50 huevos con una espátula. Los huevos se pasaron a placas de 30 mm de diámetro con agua estéril, se agitaron suavemente para lavarlos y se colocaron sobre portaobjetos estériles en cámaras húmedas hasta 72 h. Pasado este tiempo, se observaron al microscopio (ZEISS®) con 200 aumentos para determinar el parasitismo de huevos. Este valor se expresó en porcentaje.

Estas variables se emplearon para simular la dinámica de las poblaciones de *M. incognita* y *T. asperellum*, según el modelo de Anderson y May (17); se declararon al nematodo como hospedante y al hongo como parásito:

$$\frac{dH}{dt} = rH - \alpha Y$$

$$\frac{dX}{dt} = a(X + Y) - bX - vWX + \gamma Y$$

$$\frac{dY}{dt} = vWX - (\alpha + b + \gamma)Y$$

$$\frac{dW}{dt} = \lambda Y - (\mu + vH)W$$

Las variables se definen como:

X: densidad de hospedantes sanos

Y: densidad de hospedantes parasitados

H=X+Y

W: densidad del parásito.

Los parámetros del modelo se calcularon de la siguiente forma:

a: Tasa de multiplicación del hospedante: En el tratamiento 1 se calculó:

$$a = \frac{\text{Población promedio de } J_2}{\text{Nivel de inóculo inicial}} = \frac{\bar{J}_2}{900}$$

b: Tasa de mortalidad del hospedante: En el tratamiento 2 se calculó:

$$b = \frac{\text{Población promedio de } J_2}{\text{Nivel de inóculo inicial}} = \frac{\bar{J}_2}{900}$$

r Tasa de crecimiento del hospedante

$$r = a - b$$

α : Mortalidad del hospedante inducida por parasitismo: en el tratamiento 2 se calculó el porcentaje de parasitismo de J_2 .

v Tasa de variación de infectado a infectivo

$$v = 0$$

γ Tasa de recuperación

$$\gamma = 0$$

λ : Número de descendientes del hospedante producido por contacto con el hospedante: en el tratamiento 2 se calculó UFC en suelo para un nivel poblacional J_2 ; por regla de 3 se calcularon las UFC en suelo para un único J_2 .

μ : Tasa de mortalidad del parásito: en el tratamiento 2 se calculó UFC final/UFC inicial.

Para la simulación del modelo se empleó el método numérico Runge-Kutta de orden 4 (24) y se graficó la dinámica simulada empleando el software MatLab (25).

Posteriormente, se elaboró un modelo general a partir de la descripción de las interacciones que se establecen entre el ciclo de vida de *M. incognita* y *T. asperellum*, precisando los estadios en que actúa el hongo y los parámetros biológicos que modifican esa interacción. A partir de esta descripción se realizó el esquema del modelo biológico y el sistema de ecuaciones diferenciales correspondientes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de los parámetros del modelo Anderson y May, estimados experimentalmente, se muestran en la Tabla 1.

A partir de estos valores fue posible simular una dinámica de interacción nematodo-hongo-agente

TABLA 1. Valores estimados experimentalmente para simular el modelo Anderson y May./ *Estimated experimental values to simulate the Anderson and May model*

a	Tasa de multiplicación de J_2 de <i>M. incognita</i>	0,0195
b	Tasa de mortalidad de J_2 de <i>M. incognita</i>	0,35
r	a-b	-0,3305
α	Porcentaje de parasitismo provocado por la acción de <i>T. asperellum</i>	0,9433
	Tasa de variación de infectado a infectivo	0
γ	Tasa de recuperación	0
λ	Crecimiento del hongo producido por contacto con <i>M. incognita</i>	354,17
μ	Pérdida de UFC en el tratamiento sin inoculación (mortalidad)	0,011

de control biológico (Fig. 1). Se pudo demostrar que la población del nematodo tiende a decrecer por la acción de *T. asperellum* cepa Ta.90, con valores por debajo del nivel de inóculo.

Si el ciclo biológico del nematodo es de aproximadamente 25 días a temperatura entre 25 y 28°C (21) es posible inferir que, de una generación a otra, la población se reducirá 35% por la acción del hongo (la población a los 35 días fue como promedio 1760 J_2 y el modelo predice que a los 60 días será de 1115 J_2 en tratamiento garbanzo + *M. incognita* + *T. asperellum*); esta disminución poblacional se logra en presencia de *T. asperellum* en niveles superiores a 10^4 UFC en el sustrato.

Es importante conocer que, a los 60 días, ocurre una disminución importante de la población de *M. incognita* producida por la acción del hongo antagonista; este dato permitirá realizar trabajos futuros en la selección de control efectivo del nematodo al comparar la acción con la de otros hongos como *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare y Gams y *Purpureocillium lilacinum* (Thom) (26).

A partir de la modelación matemática se pudo conocer, de forma más precisa, la relación hospedante-parásito (27) que se establece en el sistema garbanzo-*M. incognita*-*T. asperellum*, lo que contribuyó al conocimiento de la dinámica poblacional de la plaga y su agente de control. Constituye una importante herramienta para identificar los niveles de inóculo en futuros estudios de control biológico en campo, donde se pueden optimizar inóculo, tratamientos y esfuerzos, lo que se traduce en ahorro de tiempo y financiamiento.

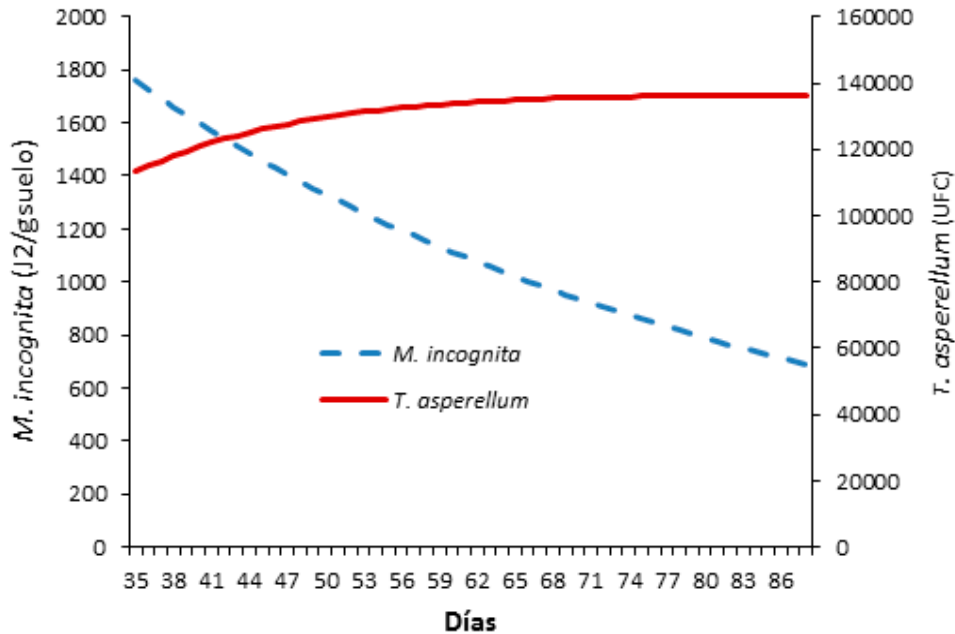


FIGURA 1. Interacción *M. incognita* - *T. asperellum* en garbanzo, simulada según modelo Anderson - May./ *Simulated M. incognita - T. asperellum interaction in chickpea according to the Anderson and May model.*

Los resultados del estudio concuerdan con lo planteado por otros autores (16, 28), que informaron que *Trichoderma* spp. posee la habilidad de parasitar diferentes estadios del ciclo de vida de *Meloidogyne*, al interactuar con J_2 , hembras y huevos e interfiriendo en el proceso de reproducción.

Aun cuando el modelo de Anderson y May permitió simular una dinámica, de la cual se puede obtener información de la acción del hongo, no se precisa qué ocurre con los distintos estadios de la plaga. Por lo que se hizo necesario plantear un modelo de estructura poblacional (29) que lleve explícito los parámetros que se tendrían que calcular de manera experimental para describir el ciclo de vida de la plaga en interacción con el control biológico.

Atendiendo a ello, se construyó el esquema de interacción de los diferentes estadios de *M. incognita* con *T. asperellum*. El hongo parasita huevos y J_2 del nematodo (9), aunque algunos individuos logran completar el ciclo parasitando la raíz. A su vez, *T. asperellum* también entra en interacción con la planta y en ocasiones favorece su crecimiento (9) (Fig. 2).

En la Figura las variables indican:

H. Número de huevos de *M. incognita*

J. Cantidad de J_2

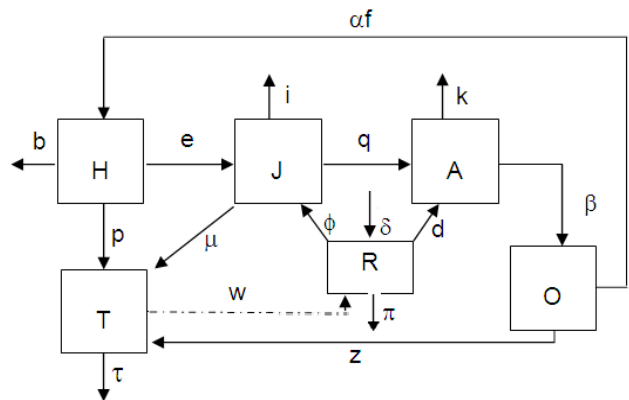


FIGURA 2. Relación teórica estructural de *M. incognita* con *T. asperellum*./ *Theoretical structural relationship between M. incognita and T. asperellum.*

A. Adultos de *M. incognita*

R. Raíz del cultivo

O. ootecas

T. UFC en suelo (*T. asperellum*)

Atendiendo a que la tasa de crecimiento es la velocidad de cambio en el número total de individuo (29), este modelo de cambios poblacionales se describió mediante un sistema de seis ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dH}{dt} = \alpha fAO - (e + b)H - pHT$$

$$\frac{dJ}{dt} = eH - (i + q)J - \mu J T + \phi RT$$

$$\frac{dA}{dt} = qJ + dRT - kA$$

$$\frac{dO}{dt} = \beta AR - zOT$$

$$\frac{dR}{dt} = \delta R(1 - \pi R) - \phi J R - dAR + wRT$$

$$\frac{dT}{dt} = pHT + \mu J T + zOT - \tau T$$

Los parámetros del modelo quedaron definidos como se indica en la Tabla 2.

TABLA 2. Parámetros del modelo de interacción *M. incognita* - *T. asperellum*./ Parameters of interaction model *M. incognita* - *T. asperellum*

b	Tasa de mortalidad de huevos
e	% eclosión
i	Tasa de mortalidad de J_2
q	% de J_2 que se convertirán en adultos
k	Tasa de mortalidad de hembras
α	Tasa de reproducción
f	% de fertilidad
p	% de parasitismo de huevo
τ	% de mortalidad natural del hongo
μ	% de parasitismo de J_2
w	Contribución de <i>Trichoderma</i> a la raíz
z	% parasitismo de ootecas del nematodo
ϕ	Pérdida de raíz por acción de J_2
d	Pérdida de raíz por acción de hembras
β	Incremento promedio de ootecas del nematodo
δ	Crecimiento natural de la planta
π	Constante de densidad-dependencia planta-ambiente

Cuando se estimen experimentalmente los valores de los parámetros, se podrán describir los cambios en las densidades poblacionales del nematodo que se provocan por variaciones en las constantes biológicas de crecimiento o en los niveles de parasitismo en campo.

Las simulaciones, aun si no pueden pronosticar la dinámica real de un sistema natural, debido a

sus perturbaciones externas y la presencia de sus propios componentes caóticos, contribuyen a la comprensión de algunos detalles de los mecanismos de interacción de los nematodos con agentes de control biológico (17).

Este trabajo constituye un primer estudio de aplicación práctica de la modelación matemática a la descripción de procesos de interacción plaga-control biológico en Cuba. La dinámica de un sistema simple, que incluyó al nematodo como hospedante, al hongo como parásito y a las constantes biológicas, permitió caracterizar las densidades que provoca un sistema en equilibrio. Es una herramienta analítica para la investigación de los requisitos biológicos de los organismos, al precisar el valor de cada uno de los parámetros que intervienen en el equilibrio de las poblaciones.

REFERENCIAS

- Shagardsky T, Chiang M, López Y. Evaluación de cultivares de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en Cuba. *Agronomía Mesoamericana*. 2001;12(1):95-98.
- Yadav S, Redden R, Chen W, Sharma B. Chickpea breeding and managment. CABI Publishing. CABI. ISBN 1845932145, 9781845932145. 2007. 638p.
- Cárdenas RM, de la Fe CF, Echevarría A, Ortiz R, Lamz A. Selección participativa de cultivares de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en feria de diversidad de San Antonio de los Baños, Artemisa, Cuba. *Cultivos Tropicales*. 2016;37(2):134-140.
- Sikora RA, Greco N, Velosa JF. Nematodes parasites of food legumes. CAB International Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture, 2nd Edition (eds M. Luc, R.A. Sikora, J. Bridge). 2005; p 259-466.
- Abad PA. Root-knot nematodes: New insights into parasitism success. *Jour. Nematol.* 2014;46(2):130.
- Ortega J, Shagardsky T. Variedades de garbanzo (*Cicer arietinum* L.), frente a *Meloidogyne incognita*. *Rev Ciencias de la Agricultura*. 2007;31(3):45-56.
- Fernández-Larrea O. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Rev Manejo Integrado de Plagas*. 2001;62:96-100.
- 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.
- Sharon E, Chet I, Spiegel Y. *Trichoderma* as a biological control agent. In: Davies K, Spiegel Y, editors. *Biological control of plant parasitic nematodes:*

- Building Coherence between Microbial Ecology and Molecular Mechanisms Progress in Biological Control 11, DOI 10.1007/978-1-4020-9648-8_8, Springer Science-Business Media B.V. K. Davies and Y. Spiegel (eds.). Pp. 183-201. 2011.
10. Spiegel Y, Sharon E, Chet I. Mechanisms and improved biocontrol of the root-knot nematodes by *Trichoderma* spp. Acta Hort. (ISHS). 2005;698:225-228.
 11. Fernández E, Gandarilla H, Cuadra R. Integrated nematode management in urban agriculture. Jour Nematol. 2014;46(2):162.
 12. Rodríguez MG, Fernández E, Hidalgo-Díaz L, Cuadra R, Draguiche JM, et al. Cuba: Two decades working on integrated nematode management in agricultural cropping systems. Jour Nematol. 2014;46(2):227.
 13. Santana Y, del Busto A, Cruz R, Irisley A, Palomino L. Efecto de enmiendas orgánicas y *Trichoderma* spp. en el manejo de *Meloidogyne* spp. Rev Brasileña de Agroecología. 2010;5(2):224-233.
 14. Del Busto A, Morejón LL, León LE, Cruz R, García M, Santana Y. Evaluación de alternativas ecológicas para el control de nematodos *Meloidogyne* spp. en casas de cultivos protegidos. Centro Agrícola. 2010;37(2):81-87.
 15. González I, Infante D, Martínez B, Arias Y, González N, Miranda I, Peteira B. Inducción de quitinasas y glucanasas en cepas de *Trichoderma* spp. promisorias como agentes para el control biológico. Biotecnología Aplicada. 2012;29:7-11.
 16. Hernández-Ochandía D. Potencialidades de cepas nativas de *Trichoderma asperellum* Samuels para el manejo de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. Rev Protección Veg. 2014;29(2):153.
 17. Ciancio A. Modelling nematodes regulation by bacterial endoparasites. Chapter 15 En: Ciancio A., Mukerji K.G. (Eds). Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes. Springer Editorial. 2008. Pp. 321-337.
 18. Miranda I, Gómez L, Benitez H, Castillo Y, Hernández-Ochandía D, Rodríguez MG. A mathematic model for the interaction between *Meloidogyne* spp. and *Pausteria penetrans*. Rev Protección Veg. 2014;29(2):145-149.
 19. 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 de Doctor en Ciencias Agrícolas]. Universidad Agraria de la Habana - Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Cuba. 2007. 100pp.
 20. Hussey RS, Barker KB. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Dis Report. 1973;57:1025-1028.
 21. Infante D, Martínez B, González N, Reyes Y. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Rev Protección Veg. 2009;24(1):14-21.
 22. Hernández-Ochandía D, Arias Y, Gómez L, Peteira B, Miranda I, Rodríguez MG. Elementos del ciclo de vida de población cubana de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en *Solanum lycopersicum* L. Rev Protección Veg. 2012;27(3):188-193.
 23. Coyne DL, Nicol JM, Claudius-Cole B. Nematología práctica: Una guía de campo y laboratorio. International Institute of Tropical Agriculture. ISBN 978-978-8444-51-0. 2014. 82p.
 24. Peña JSC. Métodos numéricos para ecuaciones diferenciales. 2009. 92p.
 25. Part-Enander E, Sjoberg A, Melin B, Isaksson P. The MATLAB Handbook, Addison-Wesley, New York. 1996.
 26. Solano TF, Castillo ML, Medina JV, Del Pozo EM. Efectividad de hongos nematófagos sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood en tomate en condiciones de campo, Loja, Ecuador. Rev Protección Veg. 2014;29(3):192-196.
 27. Gámez M, Carreño R, Andújar S, Barranco P, Cabello T. Modelos matemáticos de depredador-presa en cultivos hortícolas en invernadero en el Sudeste de la Península Ibérica. Bol San Veg Plagas. 2000;26:665-672.
 28. Sharon E, Chet I, Viterbo A. Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix. Eur J Plant Pathology. 2007;118:247-258.
 29. Batista WB. Dinámica de las Poblaciones. Cátedra de Ecología. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. 22pp. 2013.

Recibido: 26-12-2015.

Aceptado: 1-7-2016.