

COMUNICACIÓN CORTA

Efecto de la biodesinfección con residuos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre población de *Meloidogyne* spp. en suelo¹

**Mayra G. Rodríguez^I, Lucila Gómez^I, Dainé Hernández-Ochandía^I, R. Enrique^I,
Ileana Miranda^I, Oriela Pino^I, I. Castro-Lizazo^{II}, L. Carolina Rosales^{III}, Luisa Díaz-Viruliche^{II}**

^ILab. Nematología Agrícola. Dirección de Protección de Plantas. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Apartado 10. San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. Correo electrónico: mriguez@censa.edu.cu; ^{II}Universidad Agraria de La Habana (UNAH), CP 10700, Mayabeque, Cuba. ^{III}Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas-Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA-CENIAP), Maracay, Venezuela

RESUMEN: Se evaluó el efecto de residuos del proceso industrial de obtención de plaguicidas del nim (*Azadirachta indica* A. Juss), provenientes de la Fábrica «Rosa E. Simeón», Güines (Mayabeque, Cuba) sobre una población de *Meloidogyne* spp. El experimento se desarrolló en condiciones semicontroladas, utilizando suelo no estéril, con nivel inicial de *Meloidogyne* spp. de 0,5 juveniles de segundo estadio (J_2)-huevos.g de suelo⁻¹. Se establecieron ocho tratamientos, cuatro de los cuales se inocularon adicionalmente con 5 J_2 -huevos.g de suelo⁻¹ de *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood y se empleó como hospedante tomate (*Solanum lycopersicom* L. var. Campbell 28). Se aplicaron tres dosis de residuos 138,47 g.maceta⁻¹, 60,28 g.maceta⁻¹ y 40,19 g.maceta⁻¹ (lo que equivale a aplicar 4, 3 y 2 kg.m⁻² respectivamente). A los 50 días se determinó el Índice de Agallamiento (IA) (0 a 5 grados), longitud del tallo y masa fresca de raíces. Las mayores poblaciones de nematodos se produjeron en el tratamiento testigo (sin nim) (IA =5), exhibiendo diferencias significativas con aquellos donde se aplicaron los residuos, destacándose el tratamiento con 138,47 g.maceta⁻¹ (equivalente a 4 kg.m⁻²) que mostró un IA de 2,4. Los resultados mostraron la potencialidad que posee este desecho para el manejo de nematodos y la necesidad de estudiar su efecto sobre las plantas y las propiedades físico, químicas y biota del suelo.

Palabras clave: nim, desechos, biodesinfección.

Effect of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) Waste on *Meloidogyne* spp. population in soil

ABSTRACT: The effect of the waste from the industrial production of neem-based pesticides (*Azadirachta indica* A. Juss) originated in «Rosa Elena Simeón» factory in Güines (Mayabeque, Cuba) on *Meloidogyne* spp. population was evaluated, The experiment was carried out under semi-controlled conditions, using non sterilized soil with an initial level of *Meloidogyne* spp. of 0,5 juveniles-eggs.g of soil⁻¹. Eight treatments were set up; four of them were additionally inoculated with 5 juveniles-eggs.g of soil⁻¹ of *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood. Tomato (*Solanum lycopersicom* L. var. Campbell 28) was used as host. Three doses of the waste (138,47g.pot⁻¹, 60,288 g.pot⁻¹ and 40,19 g.pot⁻¹; -equivalent to 4, 3 and 2 kg.m⁻² respectively) were applied. After fifty days, root knot galling index (GI) (0 to 5 grades), stem length and fresh weight of roots were evaluated. The highest populations appeared in the control treatment (without neem) (GI=5), which differed significantly from the treatments with the waste, where the best behavior was observed with 138,47 g.pot⁻¹ (equivalent to 4 kg.m⁻²) with a GI of 2,4. The results showed the potential of this waste for the management of plant parasitic nematodes and the need for studies on the effect upon the plants and the physical-chemical properties and biota of soils.

Key words: neem, waste, biodesinfection.

¹ Investigación desarrollada en el marco del proyecto «Diversidad e impacto de nematodos en agroecosistemas seleccionados de Cuba y Venezuela». Convenio Integral de Cooperación Cuba- Venezuela.

Los nematodos formadores de agallas (*Meloidogyne* spp.) son plagas polífagas e importantes económicamente, poseen distribución mundial y están adaptadas como parásitos obligados de un altísimo número de especies de plantas (1).

La severidad del daño provocado por este género está relacionada con la especie/raza del nematodo presente, especie del hospedante y otros factores, entre ellos, la intensidad productiva del sistema agrícola.

En Cuba, los nematodos formadores de agallas representan una plaga importante en la producción protegida de hortalizas (2), donde deben concentrarse esfuerzos para disminuir el impacto negativo de esta plaga en los rendimientos, fundamentalmente en el tomate (*Solanum lycopersicon* L.).

Las enmiendas aplicadas al suelo, tales como la incorporación de abonos vegetales o animales o de desechos mejoran la fertilidad y estructura del suelo y adicionalmente disminuyen las poblaciones de nematodos y otras plagas edáficas (3, 4). En este aspecto, se incrementó en los últimos años el uso de desechos agroindustriales con el objetivo de mejorar los suelos y disminuir las poblaciones de plagas del suelo (4); lo que representa una alternativa, para cerrar ciclos productivos en diversas industrias a través de la utilización de los llamados desechos, que podría ser utilizada en la producción protegida de hortalizas.

En Cuba, se demostraron las potencialidades de desechos de las industrias bio-farmacéutica y azucarera para el manejo de *Meloidogyne* spp. en laboratorio y casas de cultivo (4, 5, 6), pero resulta necesario continuar evaluando nuevos productos.

En el Complejo Científico- Productivo «Rosa Elena Simeón», perteneciente a la Empresa Municipal Agropecuaria de Güines (Provincia Mayabeque, Cuba), se procesa el nim (*Azadirachta indica* A. Juss) con el objetivo de obtener diversas formulaciones para el combate de plagas. En dicho proceso se genera gran cantidad de residuales sólidos provenientes de las cubiertas de frutos y semillas. Su uso agrícola representaría la solución a los problemas generados por su acumulación en las áreas de la fábrica.

Teniendo en cuenta que esta planta fue informada como fuente de principios nematocidas (7), se ejecutó este estudio preliminar, con el objetivo de determinar el efecto de la aplicación del desecho de nim sobre una población de *Meloidogyne* spp. y algunos indicadores de desarrollo del tomate.

El experimento se realizó en condiciones semi-controladas en los aisladores biológicos del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Se utili-

zaron macetas de 5L de capacidad, con una mezcla de suelo natural y abono orgánico de origen animal (1:1) sin esterilizar, para conservar los microorganismos naturales que debían actuar en la descomposición del desecho.

El nivel inicial de *Meloidogyne* spp., en el suelo se halló a través de la técnica de Embudos Baermann (8) y fue de 0,5 juveniles (J_2)-huevos.g de suelo⁻¹.

En el experimento se empleó el tomate (*Solanum lycopersicom* L. var. Campbell 28) por ser un buen hospedante de especies de este género.

Con el objetivo de tener una alta población en un grupo de macetas, se efectuó una inoculación adicional de nematodos. Para ello se empleó una población de *Meloidogyne incognita* (Kodoid y White) Chitwood raza 2, identificada morfológica, fisiológica y molecularmente por Gómez (9), conservada en los aisladores biológicos. El inóculo se preparó siguiendo la metodología de Hussey y Barker (10) y en cada tratamiento /macetas se inocularon 5 J_2 -huevos. g de suelo⁻¹.

Las dosis de desecho del nim empleadas fueron tres: 138,47 g.maceta⁻¹, 60.28 g.maceta⁻¹ y 40.19 g.maceta⁻¹ (equivalente a aplicar 4, 3 y 2 kg.m²⁻¹ respectivamente).

La introducción del desecho, a manera de biodesinfectante de suelo, se realizó siguiendo la metodología establecida por Díaz-Viruliche (3) para este tipo de estudio, donde los nematodos se inocularon antes de efectuar los tratamientos, luego se aplicó el desecho y se dejaron las macetas tapadas con polietileno durante 21 días. Se empleó un diseño completamente aleatorio con ocho tratamientos (Tabla 1) y cinco réplicas por tratamiento.

A los 21 días, se retiró el polietileno de la superficie de las macetas y se removió el suelo, dos días después se efectuó el trasplante y el experimento se mantuvo 50 días más, al término de los cuales se desmontó y se evaluaron tres parámetros: Índice de Agallamiento (IA) (11), longitud de tallos (con regla graduada y expresado en cm) y masa fresca de raíces (pesado en balanza técnica y expresada en gramos).

Los datos se sometieron a Análisis de Varianza Simple y las medias se compararon a través de Dócima de Rango Múltiple de Duncan, empleado el Paquete Estadístico SAS, Versión 9.0.

El mayor IA se produjo en el tratamiento T2 (Tabla 2), indicativo de la existencia de la mayor población de nematodos. En este tratamiento no se aplicó el desecho y se efectuó una inoculación adicional de nematodos; sin embargo, no se presentaron diferen-

TABLA 1. Descripción de los tratamientos empleados para la evaluación de desecho del nim./ *Description of the treatments used for evaluating the neem waste*

Tratamiento	Especificaciones
1	Suelo natural (con nivel 0,5 J ₂ -huevos. g suelo ⁻¹) y Plantas sin inoculación adicional de nematodos. No se empleó desecho.
2	Plantas en macetas a las que se añadieron nematodos (5 J ₂ -huevos.g de suelo ⁻¹)= Plantas con nematodos. No se empleó desecho.
3	Plantas con nematodos y dosis de 40,19 g.maceta ⁻¹ del desecho.
4	Plantas con nematodos y dosis de 60,28 g.maceta ⁻¹ del desecho.
5	Plantas con nematodos y dosis de 138,47 g.maceta ⁻¹ del desecho.
6	Plantas con suelo natural, que no se añadieron nematodos (plantas sin nivel adicional de nematodos) y dosis de 40,19 g.maceta ⁻¹ del desecho.
7	Plantas sin nematodos nivel adicional de nematodos y dosis de 60,28 g.maceta ⁻¹ del desecho.
8	Plantas sin nematodos nivel adicional de nematodos y dosis de 138,47 g.maceta ⁻¹ del desecho.

cias significativas con los tratamientos que recibieron inoculación adicional de nematodos y las menores dosis del desecho, evidenciando que esas dosis no afectaron negativamente las poblaciones del nematodo.

TABLA 2. Efecto del desecho de nim (*A. indica*) sobre la población de *Meloidogyne* spp. (referida como índice de agallamiento en raíces de tomate) e indicadores de desarrollo de la planta./ *Effect of neem (A. indica) waste on Meloidogyne spp. population (referred as root galling index in tomato) and plant growth indicators*

Tratamiento	Parámetros evaluados en el tomate		
	IA	Long. tallos	Masa Fresca de raíces
T1	2 b	51,4 ab	2,55 b
T2	5 a	25,5 c	0,42 c
T3	4,2 a	51 ab	4,38 a
T4	4 a	51 ab	3,19 ab
T5	2,4 b	55,4 a	3,03 ab
T6	0 c	50,3 ab	2,41 b
T7	0 c	49 ab	2,16 b
T8	0 c	45,4 b	1,88 bc
ESx	0,35	1,61	0,23

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En el tratamiento T5, donde se produjo inoculación adicional de nematodos y se aplicó la mayor dosis del desecho el IA disminuyó, alcanzando valor cercano a 2, difiriendo significativamente de los tratamientos donde se recibió inoculación adicional de nematodos y dosis menores del desecho (T3 y T4).

Por su parte, las tres dosis aplicadas del desecho provocaron disminuciones importantes de la población natural e inicial de nematodos (0,5 juveniles J₂-huevos.g de suelo⁻¹), las que fueron no perceptibles (IA=0) en los tratamientos T6, T7 y T8 al final del experimento, y difirieron significativamente de T1 (suelo natural sin aplicación de desecho), lo que evidenció el efecto tóxico del desecho sobre dicha población inicial, lo que resulta favorable para el manejo del nematodo. (Tabla 2).

El nim, planta perteneciente a la familia Meliaceae, presenta actividades biológicas de amplio uso en la agricultura en el manejo de plagas de insectos (12) y nematodos (13, 14). Productos a base de nim inmovilizaron los juveniles de *M. incognita* indicando su efecto nematostático. De esta planta se obtienen aleloquímicos como nimbidin, kamfaeral y cuercitín, con alto poder para deteriorar a nematodos (15).

La biodesinfección empleando follaje de nim demostró posibilidades en Cuba, al disminuir los IA en condiciones semicontroladas (16). En este caso, donde empleamos un desecho en el cual indudablemente aún quedan concentraciones variables de los principios activos de la planta con efecto nematocida, se obtuvieron disminuciones importantes del IA con la mayor dosis, lo que abre posibilidades para el empleo de este desecho como enmienda al suelo y para el manejo de *Meloidogyne* spp., pero resulta necesario determinar y cuantificar los productos remanentes en él.

Cuando analizamos el efecto de los tratamientos sobre el cultivo, las respuestas fueron diversas. Los menores valores de longitudes de los tallos se produjeron en el tratamiento sin biodesinfección y que se inoculó adicionalmente con nematodos, en correspondencia con el mayor IA, ratificando el efecto negativo que tienen los nematodos sobre el tomate (17).

La mayor longitud de tallos se produjo en T5, donde el suelo, adicionalmente inoculado con nematodos, recibió la dosis mayor de desecho del nim, difiriendo significativamente de los tratamientos T2 y T8. El resto de los tratamientos no siguieron un comportamiento homogéneo con relación a este indicador.

Con relación al efecto de productos de origen botánico sobre los cultivos, señaló Bridge (18) que en la India, el uso de tortas de semillas aceitosas como higuera (*Ricinus communis* L.), nim y maní (*Arachis hypogaea* L.) redujo en campo las poblaciones de *M. incognita* y mejoraron el crecimiento de las plantas. De igual modo, cuando se aplicaron extractos de nim en plantas de tomate infestadas con *Meloidogyne javanica* Neal aumentaron la altura del tallo, peso de la parte aérea y disminuyó el IA (19).

Con relación a la masa fresca de las raíces, el menor valor se produjo en T2 en correspondencia con el mayor IA y el alto deterioro que presentaron raíces por el efecto de los nematodos, donde se había perdido el sistema de raíces secundarios y las plantas solo recibían agua y nutrientes a través de la deteriorada raíz principal.

Por su parte, las raíces donde el IA estuvo entre 2 y 4 (T3, T4, T5) se produjeron los mayores valores de masa fresca por la presencia del agallamiento en el sistema radical de las plantas mientras que los valores de masa exhibidos por los tratamientos sin agallas (IA=0) estuvieron entre 1 y 2 gramos.

El efecto de *Meloidogyne* spp., sobre la masa de las raíces es variable, así por ejemplo, *M. incognita* incrementa la masa fresca de raíces en plantas susceptibles (20) como ocurrió en este ensayo, siendo necesario incorporar otras variables de desarrollo de las plantas en estudios futuros, de manera de poder establecer, por ejemplo, el impacto de la población de nematodos y del desecho sobre el rendimiento.

Se concluye que la mayor dosis utilizada de desecho o residuos de nim fue muy efectiva para suprimir *M. incognita* cuando la población de juveniles en el suelo es alta, pero se deben continuar los estudios para poder instrumentar su uso en la producción protegida de hortalizas. Se debe determinar el impacto que podrá tener en el desarrollo de la planta y parámetros físicos, químicos y biota del suelo, y realizar la caracterización química de los desechos.

REFERENCIAS

1. Moens M, Perry RN, Starr JL. *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important Plant Parasites. Pp 1-17. En Root Knot Nematodes.

CAB International. RN Perry, M Moens, JL Starr (Eds). 2009. ISBN-13: 978-1-84593-492-7.

2. Gómez L, Rodríguez MG, Enrique R, Miranda I, González E. Limitantes de los rendimientos y calidad de las cosechas en la producción protegida de hortalizas en Cuba. *Rev Protección Veg.* 2009;24(2):117-122.
3. Díaz-Viruliche L. Interés fitotécnico de la biofumigación en los suelos cultivados. [Tesis de Doctor]. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Dpto. de Producción Vegetal: Fitotecnia. Madrid, España. 2000. 500pp.
4. Castro-Lizazo I, Díez-Rojo MA, López-Pérez JA, Díaz-Viruliche L, Bello A. Biodesinfección de suelos en producción ecológica. Dossier. Sociedad Española de Agricultura Ecológica. 2011. 56pp.
5. Rodríguez Y, Gómez L, Pérez T, Rodríguez MG, Sánchez L, Soler D. Effect of soil biofumigation using the solid residue of CIKRON-H on nematode populations. *Rev Protección Veg.* 2009;24(1):
6. Castro-Lizazo I. Biodesinfección de suelos en relación con la diversidad en hortalizas y platanera. [Tesis de Doctor] Departamento de Producción Vegetal de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de la Universidad de Almería, España. 2010. 309pp.
7. Coyne DL, Fourie HH, Moens M. Current and Future Management Strategies in Resource-poor Farming. Pp. 444-475. En Root Knot Nematodes. CAB International. RN Perry, M Moens, JL Starr (Eds). 2009. ISBN-13: 978-1-84593-492-7.
8. Viglierchio DR, Schmitt V. On the methodology of nematode extraction from field samples: Baermann funnel modifications. *Jour. Nematology.* 1983;15:438-444.
9. Gómez L. Diagnóstico de nematodos agalleros y prácticas agronómicas para el manejo de *Meloidogyne incognita* en la Producción Protegida de Hortalizas. [Tesis de Doctor en Ciencias Agrícolas]. Universidad Agraria de la Habana, Cuba; 2007. p. 100.
10. Hussey RS, Barker KB. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Report.* 1973;57:1025-1028.

11. Taylor AL, Sasser JN. Biology, Identification and Control of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species). North Carolina State University Graphics, Raleigh, North Carolina. 1978.
12. Farooq M, Jabran K, Cheema ZA, Wahid A, Siddique KHM. The role of allelopathy in agricultural pest Management. *Pest Manag Sci*. 2011;67:493-506.
13. Kumar S, Khanna AS. Effect of neem-based products on the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, and growth of tomato. *Nematol Medit*. 2006;34:141-146.
14. Shervin H, Kamran R, Salar J, Ali E. Comparing neem extract with chemical control on *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne incognita* complex of tomato. *Advances in Environmental Biology*. Code:7IRAN Date: Jul 1, 2011.
15. Paruthi IJ, Kanwar RS. Role of neem pesticides in the management of phytonematodes. En *Plant Nematode Management (A biocontrol Approach)*. P. C. Trivedi (Ed). CBS Publishers and Distributors, New Delhi, India. 1998. Pp. 92-98.
16. Gómez L, Rodríguez MG, Díaz-Viruliche L, González E, Wagner F. Evaluación de materiales orgánicos para la biofumigación en instalaciones de cultivos protegidos para el manejo de *Meloidogyne incognita*. *Rev Protección Veg*. 2006;21(3):178-185.
17. Sikora RA, Fernández E. Nematode of vegetable. En: Luc M, Sikora RA, Bridge J (editors). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. CAB International UK. 2005; pp. 319-392.
18. Bridge J. Nematode Management in Sustainable and subsistence agricultura. *Ann Rev Phytopathol*. 1996; 34: 201-225.
19. Gonçalves Gardiano C, Ferraz S, Antônio Lopes E, Ferreira PA, Xavier Amora D, Freitas LG. Evaluation of plant aqueous extracts, added into the soil, on *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, 2009;30(3):551-556.
20. Manzanilla-López R, Starr JL. Interaction with other pathogens. Pp. 223-245 En *Root Knot Nematodes*. CAB International. RN Perry, M Moens, JL Starr (Eds). 2009. ISBN-13: 978-1-84593-492-7.

Recibido: 24-10-2011.

Aceptado: 20-8-2012.