

## Actividad nematocida de productos orgánicos comerciales, contra *Ditylenchus dipsaci* (Tylenchida: Anguinidae) bajo condiciones de laboratorio\*

### Nematicidal activity of commercial organic products, against *Ditylenchus dipsaci* (Tylenchida: Anguinidae) under laboratory conditions

Agustín Hernández-Juárez<sup>1§</sup>, Melchor Cepeda-Siller<sup>1</sup>, Gabriel Gallegos-Morales<sup>1</sup>, Julio C. Chacón-Hernández<sup>1</sup>, Salvador Ordaz-Silva<sup>2</sup> y Aideé González-Ruiz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Departamento de Parasitología. Calzada Antonio Narro Núm. 1923. Buenavista, Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México. C. P. 25315. Tel: (844)411-03-26. <sup>2</sup>Universidad Autónoma de Baja California- Facultad de Ingeniería y Negocios. Carretera Ensenada-San Quintín, km 180.2. Ejido Padre Kino, San Quintín, Baja California, México. C. P. 22930. Tel: (666) 165-39-39. (melchoresraza2010@hotmail.com; gabgalmor@yahoo.com.mx; july2019@hotmail.com; ordaz\_silva@hotmail.com; daryna\_85@hotmail.com). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: chinoahj14@hotmail.com.

#### Resumen

El nematodo del tallo y bulbo *Ditylenchus dipsaci* Kühn, 1857 (Tylenchida: Anguinidae), se ha convertido en un grave problema en el cultivo de ajo *Allium sativum* L. 1753 (Liliales: Liliaceae); cuya forma de control es la aplicación de nematocidas químicos al suelo infestado; sin embargo, el costo, la residualidad y fitotoxicidad de estos nematocidas, limitan su aplicación. Se evaluó en cinco tratamientos con cuatro repeticiones, los productos orgánicos a base de quitosán y otro a base de diversos componentes orgánicos sobre el nematodo *D. dipsaci*, bajo condiciones de laboratorio.

Se colectaron muestras de suelo en el cultivo de ajo, Var. Tacuascaro; establecido en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y se extrajeron los nematodos por el método de embudo de Baerman. Después de 24 h de haber colocado el embudo, se contabilizó la población inicial de nematodos e inmediatamente se regresaron al embudo. A continuación se colocaron los tratamientos a evaluar directamente en el embudo y 24 h después se contabilizó la población final (vivos).

La mortalidad se evaluó mediante la diferencia entre población inicial-población final y se analizó mediante un ANOVA. La evaluación demostró la actividad de los

#### Abstract

The bulb and stem nematode *Ditylenchus dipsaci* Kühn, 1857 (Tylenchida: Anguinidae), has become a serious problem in the cultivation of garlic *Allium sativum* L. 1753 (Liliales: Liliaceae); whose form of control is the application of chemical nematicides to the infested soil; however, cost, and the phytotoxicity of these residual nematicides, are limiting its application. It was evaluated in five treatments with four replications, organic based products chitosan and the other based on various organic components of the nematode *D. dipsaci*, under laboratory conditions. Soil samples were collected in the cultivation of garlic, var. Tacuascaro; established at the Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro and, the nematodes were extracted by the Baermann funnel method. After 24 h of planting the funnel, the initial nematode population was recorded and immediately returned to the funnel. Then, the treatments were evaluate directly on the funnel and 24 h after the final population (live) were counted. Mortality was assessed by the difference between initial-population and final-population and analysed by ANOVA. The evaluation showed activity treatments to control *D. dipsaci* with mortality rates ranging between 86.8 and 97.5%, with higher mortality in the product based on chitosan at a dose of 4 L/ha with

\* Recibido: enero de 2015  
Aceptado: febrero de 2015

tratamientos para el control de *D. dipsaci* con una mortalidad que fluctuó entre 86.8 y 97.5%, con mayor mortandad en el producto a base de quitosán a una dosis de 4 L/ha con 97.5% y a base de varios componentes orgánicos a una dosis de 20 L/ha con 97.3%; lo que nos indica que estos productos son alternativas útiles para el control de *D. dipsaci* en cualquier tipo de agricultura, y pueden sustituir a los fumigantes tóxicos, por sus características de tipo orgánico-biológico.

**Palabras clave:** *Allium sativum*, *Ditylenchus dipsaci*, nematocidas, nematodo del tallo, nematodo del bulbo.

El cultivo de ajo *Allium sativum* (Liliales: Liliaceae) es una hortaliza de gran importancia económica en México, con una producción de 59 014 84 toneladas durante el año 2013, producidas principalmente en los estados de Zacatecas, Guanajuato, Sonora, Baja California, y Aguascalientes (SAGARPA-SIAP, 2014). En este cultivo los problemas con plagas son escasos, pero deben atenderse oportunamente para evitar reducciones en la calidad y cantidad de ajo cosechado, dentro de las plagas asociadas a este cultivo destaca el nematodo de los bulbos *Ditylenchus dipsaci* (Tylenchida: Anguinidae), especie más común y de mayor importancia económica en la agricultura por los daños y pérdidas que ocasiona (Cepeda, 1996; Doucet y De Doucet, 1997).

El nematodo *D. dipsaci* es uno de los parásitos de plantas más devastadores y ampliamente distribuido, principalmente en las zonas templadas; motivo por el cual es de gran importancia económica a nivel mundial y se encuentra en la lista de organismos cuarentenados de muchos países (APPS, 2011; SENASICA, 2013), en el caso de México la mayor incidencia de este nematodo se encuentra en las principales regiones productoras de ajo y cebolla de los estados de Guanajuato, Aguascalientes, Puebla y Veracruz (SENASICA, 2013).

Los hábitos ecto y endoparásitos migratorios de este nematodo aumentan su rango de plantas hospederas, atacando partes aéreas, bulbos y tubérculos de plantas (Greco *et al.*, 1991) en 450-500 hospederos conocidos, encontrándose especies de importancia como el ajo, cebolla, zanahoria, frijol, avena, cebada, centeno, maíz, trigo, papa, fresa, betabel, gladiolas, y pinos donde se encuentra *Dendroctonus* sp., entre otros (Cepeda, 1996; Bohm y Apablaza, 2005; SENASICA, 2013).

97.5% and based on various organic compounds at a dose of 20 L/ha with 97.3%; which indicates that these products are useful alternatives for controlling *D. dipsaci* in any type of agriculture, and can replace toxic fumigants, by their organic-biological nature.

**Keywords:** *Allium sativum*, *Ditylenchus dipsaci*, bulb nematode, nematocides, stem nematode.

The cultivation of garlic *Allium sativum* (Liliales: Liliaceae), a vegetable of great economic importance in Mexico, with a production of 5 901 484 tons in 2013, produced mainly in the States of Zacatecas, Guanajuato, Sonora, Baja California, and Aguascalientes (SAGARPA-SIAP, 2014). In this crop pest problems are rare, but must be addressed promptly to prevent reductions in quality and quantity of garlic harvested within the pests associated with this crop highlights the nematode *Ditylenchus dipsaci* (Tylenchida: Anguinidae), species more common and economically important in agriculture for the damages and losses caused (Cepeda, 1996; Doucet and De Doucet, 1997).

The nematode *D. dipsaci* is one of the plant parasites most devastating and widely distributed, especially in temperate areas; so, it is of great economic importance worldwide and is on the list of quarantined agencies in many countries (APPS, 2011; SENASICA, 2013), in the case of Mexico the highest incidence of this nematode is in the main producing regions of garlic and onion in the States of Guanajuato, Aguascalientes, Puebla and Veracruz (SENASICA, 2013).

The ecto and endoparasites migratory habits and of this nematode increase its range of host plants, attacking aerial parts, bulbs and tubers of plants (Greco *et al.*, 1991) 450-500 known hosts, finding important species such as garlic, onion, carrots, beans, oats, barley, rye, corn, wheat, potatoes, strawberries, beets, gladiolas, and pines, where *Dendroctonus* sp., is found, among others (Cepeda, 1996; Bohm and Apablaza, 2005; SENASICA, 2013).

This organism feeds on the parenchymal tissue in the stems and bulbs, injecting tissue enzymes that dissolve the middle lamella of the parenchymal tissues causing deformation of the bulb, distortion of stems, petioles, leaves and seeds and strain in leaf tissues that form small and large cavities

Este organismo se alimenta en los tejidos parenquimatosos en tallos y bulbos, inyectando en los tejidos enzimas que disuelven la lámina media del parénquima, provocando deformación en tejidos del bulbo, distorsión de tallos, pecíolos, hojas y semillas y deformación en tejidos foliares que forman pequeñas y grandes cavidades llenas de nematodos, ocasionando raquitismo por grandes pérdidas de almidones y de otros compuestos (Potter y Olthof, 1993; Cepeda, 1996; Perry y Wright, 1998). Los daños ocasionados por el nematodo en el cultivo y el aumento del área de diseminación han convertido a este patógeno en un grave problema en zonas donde se ha cultivado ajo y principalmente en el uso de semilla (dientes/bulbillos) infestada, que sin duda desempeña una función importante en la diseminación del nematodo. A ello agregamos la capacidad de este organismo de entrar en anhidrobiosis, lo cual le permite sobrevivir bajo condiciones adversas de humedad y permanecer viable por muchos años en semillas infestadas y residuos de plantas (Guerrero, 2011; SENASICA, 2013).

Las poblaciones de *D. dipsaci* son de gran importancia para iniciar medidas preventivas. Se considera que 20 nematodos por 100 gramos de suelo, pueden producir daños considerables a las plantas. Todas las variedades de ajo que se cultivan en México son susceptibles a este patógeno, por lo cual, la forma de controlarlo es el uso de semilla libre del problema, o bien tratamiento de semilla y aplicaciones de nematocidas al suelo infestado (Guerrero, 2011).

La acción de control más socorrida es la aplicación de nematocidas químicos; sin embargo, el costo, la residualidad y fitotoxicidad de los nematocidas para el cultivo, limitan su aplicación, por lo que es imprescindible buscar alternativas para combatir nematodos fitopatógenos, que afectan considerablemente la producción. Ante esto, el control biológico con microorganismos y a partir de extractos vegetales se presentan como una alternativa muy prometedora, por lo cual se han formulado nematocidas de uso comercial a partir de microorganismos, vegetales y otros componentes que tienen la capacidad de regular poblaciones de nematodos.

Un ejemplo de ello son: el Nematrol PLUS; nematocida orgánico compuesto de quitosán (Poli-D-glucosamina) y se comparó con BIOXER 1 000; desinfectante orgánico de suelos, a base de diversos componentes orgánicos como fermentos de *Larrea tridentata*, fermentos de manzana, fermento de *Lactobacillus*, algas marinas, extractos acuosos de neem y crisantemo. Por lo anterior, el objetivo de esta

filled with nematodes, causing rickets with large starches losses among other compounds (Potter and Olthof, 1993; Cepeda, 1996; Perry and Wright, 1998). Damage caused by the nematode in growing and increasing the area of spread this pathogen have become a serious problem in areas where garlic is grown mainly in the use of infested seed (teeth/bulbils), it definitely plays an important role in the spread of the nematode. As well as the ability of this organism to enter anhydrobiosis, allowing it to survive under adverse conditions of moisture and remain viable for many years in infested seeds and plant residues (Guerrero, 2011; SENASICA, 2013).

The populations of *D. dipsaci* are of great importance to initiate preventive measures. Estimated 20 nematodes per 100 grams of soil can cause considerable damage to plants. All the garlic varieties cultivated in Mexico are susceptible to this pathogen, therefore, in order to control it, is by using problem-free seed or seed treatment and nematocide applications to the infested soil (Guerrero, 2011).

The action of more used to control it, is the application of chemical nematocides; however, cost, residual and phytotoxicity of nematocides for cultivation, limit its application, so it is imperative to seek alternatives to combat pathogenic nematodes, which significantly affect production. At this biocontrol microorganisms from plant extracts and are presented as a promising alternative, which are formulated commercial nematocides from microorganisms, plants and other components having the ability to regulate nematode populations.

An example of this are the Nematrol PLUS; organic nematocide composed of chitosan (Poly-D-glucosamine) and compared with BIOXER 1000; organic soil disinfectant, based on various organic components such as enzymes of *Larrea tridentata*, ferments of apple, ferment of *Lactobacillus*, seaweed, aqueous extracts of neem and chrysanthemum. Therefore, the objective of this research was to evaluate the nematocidal activity of two organic products on the nematode *D. dipsaci*, under laboratory conditions.

The investigation began in February-March 2014 at the Agricultural Experimental field "El Bajío" at the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) in a crop of garlic, var. Tacuascaro, already established; where sampling conducted as directed toward garlic plants, plants in patches of nematode attack symptoms (size reduction, starting at the base yellowing plant tissue and detachment very

investigación fue evaluar la actividad nematicida de dos productos orgánicos sobre el nematodo *D. dipsaci*, bajo condiciones de laboratorio.

La investigación inició en febrero-marzo de 2014 en el campo Agrícola Experimental “El Bajío” en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en un cultivo de ajo, Var. Tacuascaro, ya establecido; donde se llevó a cabo un muestreo en forma dirigida hacia plantas de ajo, en manchones de plantas con síntomas por ataque de nematodos (reducción de tamaño, amarillamiento iniciando en la base de la planta y desprendimiento del tejido del bulbo y sistema radical muy reducido). Se colectaron sistemáticamente 25 submuestras de suelo en un perfil de 0-30 cm, las cuales se mezclaron para obtener una mezcla homogénea (4 kg) y se trasladó al laboratorio de Nematología, para obtener los nematodos mediante el método de embudo de Baerman (Cepeda, 1995). Después de 24 h de ser colocado el embudo de Baerman se procedió a realizar un conteo de la población inicial de nematodos e inmediatamente se regresaron al embudo de Baerman. A continuación se colocaron los tratamientos a evaluar directamente en el embudo. Se establecieron en total cinco tratamientos completamente al azar con cuatro repeticiones, quedando de la siguiente manera:

**Cuadro 1. Tratamientos a evaluar para control del nematodo del tallo y bulbo *Ditylenchus dipsaci*.**

**Table 1. Treatment for evaluation to control the stem and bulb nematode *Ditylenchus dipsaci*.**

Tratamientos	Dosis (L/ha)*	Concentración (mL)**	Producto comercial
1	2	1.0	Quitosan <sup>&amp;</sup>
2	3	1.5	Quitosan <sup>&amp;</sup>
3	4	2.0	Quitosan <sup>&amp;</sup>
4	20	10.0	Componentes orgánicos <sup>°</sup>
5	0	0	Agua destilada

\*400 L agua, recomendación de campo; \*\* 200 mL agua, base tratamiento en laboratorio; <sup>&</sup>Nematrol PLUS; <sup>°</sup>BIOXER1 000.

La evaluación de la mortalidad se llevó a cabo a las siguientes 24 h de la aplicación de los tratamientos, para lo cual se realizó el conteo de la población final (contabilizando los vivos) y se obtuvo la mortalidad mediante la diferencia entre población inicial-población final y se analizó mediante un ANVA con separación de medias de Tukey ( $\alpha=0.05$ ), usando el software estadístico SAS 9.0 (SAS, Institute, 2002).

En el Cuadro 2, se presenta la población al inicio de la investigación y la población final encontrada 24 después de la aplicación de los tratamientos para el control de *D. dipsaci* obtenidos de suelo de un cultivo de ajo con síntomas de daño. En éste se puede observar una reducción significativa de la población del nematodo, por efecto de la aplicación de

small bulb and root system). 25 sub-samples of soil collected systematically in a profile of 0-30 cm, which were mixed to obtain a homogeneous mixture (4 kg) and transferred to laboratory Nematology for nematodes by the method of Baermann funnel (Cepeda, 1995). After 24 h of being placed, Baermann funnel proceeded to perform a count of the initial nematode population and immediately returned to the Baermann funnel. Then treatments evaluated directly in the funnel were placed. Five treatments completely randomized design with four replications were established in total, being as follows:

Mortality assessment was carried out 24 h following the application of treatments, for which the final count was performed (counting the living) and was obtained by the difference between the initial-population and final-population and, analysed using an ANOVA with Tukey's mean separation ( $\alpha=0.05$ ) using the software SAS 9.0 (SAS Institute, 2002).

In the Table 2, the population is presented at the beginning of the investigation and the final population found 24 after application of treatments to control *D. dipsaci*, obtained in soil from a crop of garlic with damaging symptoms. In this we can see a significant reduction in the nematode population,

due to the application of the treatments, while in the control treatment, the population remained quite similar, with a reduction in the range of 1.0-3.75% mortality.

The Table 3 shows the mortality of *D. dipsaci*, in which the nematicidal activity of the commercial products is seen at different doses; it is observed that chitosan-based products and organic components have an efficient control of the nematode population.

Within the test treatments (1-4), for controlling *D. dipsaci*, no significant differences were found, with a control fluctuating between 86.8 and 97.5%, and for the control, we found a significantly lower mortality, with a median survival of 97.6% (Table 3). Of these treatments, a better control was observed

los tratamientos, mientras que en el tratamiento testigo, se mantuvo la población muy similar, con una reducción en un rango de 1.0-3.75% de mortalidad.

with the chitosan at a dose of 2 mL (4 L ha<sup>-1</sup>) to 97.5% and, the product based on organic compounds at a dose of 10 mL (20 L ha<sup>-1</sup>) with an averaging 97.3% (gl=7.19; F= 162.06; p<0.0001).

**Cuadro 2. Población inicial y población final del nematodo del bulbo *Ditylenchus dipsaci* en cada tratamiento y repetición bajo condiciones de laboratorio.**

**Table 2. Initial-population and final-population of the bulb nematode *Ditylenchus dipsaci* in each treatment and replication under laboratory conditions.**

Rep.	Tratamientos (mL)									
	1		2		3		4		5	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
1	231	53	145	24	752	12	615	16	200	198
2	854	48	166	21	365	13	628	14	240	231
3	813	39	345	18	624	14	642	21	250	243
4	245	47	736	26	682	16	660	18	280	274

Rep.= repeticiones.

El Cuadro 3, muestra la mortalidad de *D. dipsaci*, en el cual se aprecia la actividad nematocida de los productos comerciales a diferentes dosis; donde se aprecia que los productos a base de quitosán y componentes orgánicos, tienen un control eficiente de la población de nematodos.

Entre los tratamientos de prueba (1-4), para el control de *D. dipsaci* no se encontraron diferencias significativas, con un control que fluctuó entre 86.8 y 97.5%, y para el testigo se encontró una mortalidad significativamente menor, con una supervivencia promedio de 97.6% (Cuadro 3). De estos tratamientos se observó un mayor control con el quitosán a una dosis de 2 mL (4 L ha<sup>-1</sup>) con 97.5% y el producto a base de componentes orgánicos a una dosis de 10 mL (20 L ha<sup>-1</sup>) con un control promedio de 97.3% (gl= 7,19; F= 162.06; p<0.0001).

En la literatura no se menciona el efecto de este producto a base de quitosán para el control de *D. dipsaci* (SENASICA, 2013); además de que este producto no está indicado para el manejo de este organismo, lo que brinda una nueva opción para el control de este nematodo con una alta efectividad, de igual forma que el producto a base de componentes orgánicos, aunque este si está registrado para prevenir los daños causados por este nematodo, lo que se corrobora este estudio.

**Cuadro 3. Mortalidad de *Ditylenchus dipsaci* a la aplicación de quitosán y componentes orgánicos, bajo condiciones de laboratorio.**

**Table 3. Mortality of *Ditylenchus dipsaci* to the application of chitosan and organic compounds under laboratory conditions.**

Tratamiento (mL)	Repeticiones (%)				Media
	1	2	3	4	
1	77	94.4	95	80.8	86.8 a
2	83.4	87.3	94.8	96.5	90.5 a
3	98.4	96.4	97.7	97.6	97.5 a
4	97.4	97.7	96.7	97.3	97.3 a
5	1.0	3.7	2.8	2.1	2.4 b

Medias con la misma letra, no son significativamente diferentes (Tukey  $\alpha=0.05$ ).

In the literature is not mentioned the effect of this product based on chitosan for controlling *D. dipsaci* (SENASICA, 2013); besides that this product is not indicated for the management of this organism, which provides a new option to control this nematode quite effectively, just as the product based on organic components; although, this is registered for preventing damage caused by this nematode, which in this study is corroborated.

## Conclusiones

El nematodo *D. dipsaci* puede llegar a ser un problema grave en el cultivo de ajo y es de gran importancia realizar un análisis de suelo para esta especie, así como llevar a cabo un control total antes de la plantación y utilizar productos alternativos a los fumigantes convencionales del suelo, como son productos a base quitosán y componentes orgánicos, que pueden ser probados en cualquier tipo de agricultura, por sus características de tipo orgánico-biológico, además de no ser contaminantes para el medio ambiente.

## Literatura citada

- APPS (Australasian Plant Pathology Society). 2011. *Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) Filipjev, 1936. <http://www.appsnet.org/publications/potm/pdf/Mar11.pdf>.
- Bohm, S. L. y Apablaza, C. R. 2005. Presencia del nematodo del bulbo y del tallo (*Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) Filipjev, 1936) en semillas de haba (*Vicia faba* L.) comercializadas en Valdivia. *Agro sur*. 33(2):87-93.
- Cepeda, S. M. 1996. Nematología agrícola. Ed. Trillas, S. A. de C. V. México, D. F. 305 p.
- Cepeda, S. M. 1995. Prácticas de nematología agrícola. Ed. Trillas, S. A. de C. V. México, D. F. 109 p.
- Doucet, M. E. and De Doucet, M. M. A. 1997. Nematodes and agriculture in continental Argentina. An Overview. *Fundamental and applied nematology*. 20(6):521-539.
- Greco, N.; Vovlas, N. and Inserra, R. N. 1991. The stem and bulb nematode *Ditylenchus dipsaci*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services. Division of Plant Industry. *Nematology Circular*. 187-4.

## Conclusions

The nematode *D. dipsaci* can become a serious problem in the cultivation of garlic and is of great importance to perform a soil test for this species, as well as performing a total control before planting and use alternative products of conventional soil fumigants, such as chitosan based products and organic components, which can be tested in any type of agriculture, by their organic-biological nature.

*End of the English version*



- Guerrero, R. J. C. 2011. Control de nematodo de los bulbos de ajo. <http://www.hortalizas.com/proteccion-de-cultivos/control-de-nematodo-de-los-bulbos-de-ajo/>.
- Perry, R. N. and Wright, D. J. 1998. The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes. Wallingford, UK. CABI. 438 p.
- Potter, J. and Olthof, T. 1993. Nematodes pest of vegetable crops. *In: plant parasitic nematodes in temperate agriculture*. Evans, K.; Trudgill, D. and Webster, J. (Eds.). CAB International. Wallingford, Inglaterra. 593-607 pp.
- Statistical Analysis System (SAS) Institute. 2002. SAS user's guide. Statistics. Version 9. SAS Inst., Cary, NC. USA. Quality, and elemental removal. *J. Environ. Qual.* 19:749-756.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2013. <http://www.siap.gob.mx>.
- SENASICA (Servicio Nacional de Sanidad Vegetal, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria). 2013. Nematodo del tallo y bulbos (*Ditylenchus dipsaci* (Kuhn, 1857)). Dirección General de Sanidad Vegetal-Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. México, D. F. Ficha técnica Núm. 18. 24 p.