

Prueba de eficacia con fines de registro ICA para el producto NEMABAC (*Bacillus subtilis* y *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki) aplicados al suelo para mejorar el desarrollo radical y el control de nematodos fitoparásitos formadores de nódulos radicales (*Meloidogyne spp.*) en el cultivo de tomillo (*Thymus vulgaris*) en la finca Santa María del municipio de la Ceja – Antioquia

Autores: Rafael Ángel Navarro Alzate

Adolfo Posada Duque

Febrero 29 de 2016

RESUMEN

La introducción de sistemas sostenibles con el uso de microorganismos se vuelve una alternativa para ser aplicados al suelo y mejorar el desarrollo de las plantas y adicionalmente hacerlas más resistente al ataque de patógenos radicales. BIOQUIRAMA S.A.S propone el producto NEMABAC compuesto por dos bacterias: *Bacillus subtilis* y *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki como opción para mejorar las condiciones del suelo y a la vez prevenir el daño causado por nematodos formadores de nódulos radicales como *Meloidogyne spp.*, en cultivos de hierbas aromáticas y condimentarias, específicamente tomillo (*Thymus vulgaris*). Las pruebas de eficacia para este producto se realizaron en condiciones de campo en el municipio de la Ceja. Se utilizó un diseño experimental de Bloques al azar, con cuatro repeticiones, cinco tratamientos y acompañado de un muestreo y análisis de suelo previo a la siembra para el conteo de nematodos. Los tratamientos correspondieron a: 1) NEMABAC compuesto por los microorganismos (*B. subtilis* y *B. thuringiensis* var. Kurstaki) aplicado al suelo en dosis alta de 10 mL/L; 2) NEMABAC aplicado al suelo en dosis media de 5 mL/L; 3) NEMABAC aplicado al suelo en dosis baja de 2.5 mL/L; 4) Producto comercial, registrado ante el ICA compuesto por los microorganismos *Paecilomyces lilacinus* y *Paecilomyces fumosoroseus* aplicado al suelo en dosis de 2gr/L y 5) Testigo absoluto sin aplicación de ningún microorganismo. Las variables evaluadas fueron el peso de las raíces y el índice de nudosidad por *Meloidogyne*. Los resultados indicaron que las tres dosis de NEMABAC (alta, media y baja) presentaron el mejor desarrollo radical y la menor presencia de daños ocasionados por *Meloidogyne sp*, lo cual se puede atribuir a la capacidad de estas bacterias de solubilizar algunos minerales que promueven el crecimiento de la planta y la liberación de sustancias antibióticas que previenen la acción de nematodos fitoparásitos.

PALABRAS CLAVE: Rizobacterias, promotores de crecimiento, *Meloidogyne*, *Bacillus*.

INTRODUCCIÓN

La presencia de microorganismos en el suelo tienen la capacidad de presentar antagonismo frente a organismos fitopatógenos, de incrementar la tolerancia a condiciones adversas del suelo como bajos niveles de nutrientes, salinidad o déficit hídrico. Dentro de ellos se encuentran las Rizobacterias que interactúan con el componente suelo – raíz. Estos microorganismos se conocen como microorganismos promotores de crecimiento vegetal (PGPR) y poseen diferentes mecanismos de acción: 1. Antagonismo o supresión de microorganismos fitopatógenos. 2. Proporcionando elementos biodisponibles para la planta (Biofertilizantes), como nitrógeno y fósforo. 3. Producción de fitohormonas (Saharan y Nehra, 2001).

Las comunidades microbianas en los suelos se consideran vitales para asegurar la sostenibilidad de los ecosistemas (Mendes et ál. 2011, Chaparro et ál. 2012), donde son responsables de funciones tales como: las transformaciones de carbono, el ciclaje de nutrientes, el mantenimiento de la estructura del suelo y la regulación de las poblaciones biológicas.

En el rizo - microbioma algunos microorganismos pueden promover el desarrollo de las plantas y mejorar su estado fitosanitario a través de mecanismos directos e indirectos. Se presentan interacciones simbióticas donde los costos y beneficios son compartidos entre plantas y microorganismos (Bulgarelli et al., 2013) y se puede categorizar en dos tipos de interacciones. La primera, interacciones mutualistas obligadas, que tienen un rango restringido de plantas hospedantes compatibles. Ellas generalmente permiten la formación de estructuras específicas dedicadas a la interacción (p.e nódulos durante la simbiosis entre rizobios nodulantes y Fabácea, arbusculos en las simbiosis endomicorrizal). La segunda, cooperaciones (también llamadas simbiosis asociativa) que corresponden a interacciones menos específicas y obligadas (Droque et al. 2012). Estas involucran bacterias del suelo que colonizan la superficie del sistema radical (en algunas ocasiones los tejidos internos de las raíces) y estimulan el crecimiento y sanidad de las plantas, y son referidas como Rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas (PGPR; Barea et al., 2005). La colonización es heterogénea en la raíz y su rol es promover el crecimiento vegetal. Los PGPR interactúan con un gran número de especies vegetales, pueden mejorar la nutrición mediante vías asociativas como la fijación de nitrógeno, solubilizarían fosfatos o producción de fitosideroforos (Richardson et al., 2009). Mejoran el desarrollo radical a través de la producción de fitohormonas o actividades enzimáticas y favorece el establecimiento de simbiosis rizobial o micorrizal. Otros pueden proteger las plantas a través de la inhibición de fitoparásitos basados en antagonismo o competencia y por elicitación de defensas vegetales como la inducción de resistencia sistémica inducida (ISR; Kamilova, 2006). Algunos PGRP pueden ayudar a las plantas superar estrés abiótico causado por contaminación por metales pesados y otros contaminantes.

De igual manera, tal como lo afirma Agrios (2005) los nematodos del genero *Meloidogyne* spp son causantes de daños en las raíces de las plantas, originando nódulos o agallas en las raíces, su distribución es a nivel mundial, pero con mayor frecuencia y abundancia en regiones con clima cálido y tórrido e inviernos cortos y moderados. Estos nematodos se encuentran también en los invernaderos donde se usan suelos no esterilizados. Atacan más de 2.000 especies de plantas incluyendo a la mayoría de las



Nit: 900.207.843.-7

plantas cultivadas reduciendo aproximadamente un 5% de su producción y rendimiento, aunque estudios recientes hablan de un porcentaje de daño mayor, originando pérdidas de plantas y bajas considerables en la producción.

Debido a la alta plasticidad y sobrevivencia de los nematodos en el suelo y en especial del genero *Meloidogyne* spp. Con lo mencionado anteriormente BIOQUIRAMA S.A.S, ha desarrollado la aplicación de agentes de control biológico de plagas, el cual adquiere una importancia relevante como una alternativa en el desarrollo de una agricultura sostenible que preserva los recursos naturales y el ambiente para las futuras generaciones. La aplicación controlada en agroecosistemas con organismos vivos o sus metabolitos secundarios para el control de plagas y enfermedades, implica el mejoramiento de los cultivos, al proteger las plantas del deterioro producido por agentes fitopatógenos Gómez *et al* (2002).

El género *Bacillus* incluye una importante variedad de especies Gram-positivas, no patogénicas, con propiedades antagonistas. Son buenas secretoras de proteínas y metabolitos, son altamente eficientes para el control de plagas y enfermedades. Los mecanismos de acción de *Bacillus* spp., incluyen competencia por espacio y nutrientes, antibiosis e inducción de resistencia. Además, tienen comprobado efecto en la promoción de crecimiento de las plantas. La capacidad de *Bacillus* spp., de formar esporas que sobreviven y permanecen metabólicamente activas bajo condiciones adversas, las hace apropiadas para la formulación de productos viables y estables para el control biológico Chaves, Méndez (2007) y Navarro (2013).

El efecto biocontrolador de los nematodos depende se la sincronización del ciclo de vida con el del nematodo *Bacillus subtilis*, microorganismo cuyo hábitat natural es el suelo, se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza. Entre sus principales características se encuentra su capacidad para formar esporas en diversas condiciones de estrés, crecer en un intervalo amplio de temperaturas (desde 15 hasta 55°C), presentar motilidad, aerotaxis y velocidades de crecimiento altas, sobrevivir en concentraciones salinas (hasta el 7% de NaCl), producir una amplia variedad de antibióticos y enzimas hidrolíticas extracelulares Nakamura *et al.*, (1999). Por otra parte, el extracto no celular de *B. subtilis*, se reporta que también tiene un alto grado de propiedades larvicidas sobre nudos y quistes de Nematodos. Fernando de Araujo y col (2009), reportaron que las endotoxinas producidas por *B. subtilis*, intervienen con el ciclo reproductivo de Nematodos, en el estadio de ovulación y eclosión de juveniles, considerando a *B. subtilis*, como supresor del nematodo formador de agallas en cultivo de tomate.

Para el caso de plantas aromáticas y condimentarias el mercado Colombiano ofrece muy pocos agro insumos destinados a este tipo de cultivos, las aplicaciones para el desarrollo de plantas se basa principalmente en el empleo de fertilizantes de síntesis química los cuales son utilizados indiscriminadamente, lo cual causa desbalance o toxicidades.

METODOLOGÍA

Análisis de suelo y siembra del tomillo (*Thymus vulgaris*)

La ejecución de las pruebas de eficacia para el producto NEMABAC aplicado al suelo para mejorar las condiciones del suelo y a la vez controlar nematodos formadores de nódulos radicales (*Meloidogyne* spp) con el producto biológico NEMABAC (*Bacillus subtilis* y *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki*) en cultivo de tomillo (*T. vulgaris*) se ubicó en dos áreas geográficamente distintas y con una agroecología variable. Para efectos del estudio y de la primera prueba se tomaron 5 camas de 18m de largo por 1.20m de ancho, cada cama se dividió en 4 parcelas para poder generar un total de 20 parcelas de 4.5m². Las distancias de siembra fueron de 25cm x 25cm entre plantas para un total de 16 plantas por metro cuadrado, la procedencia de las plántulas sembradas es de un cultivo elite de la zona del Oriente Antioqueño. Antes de la siembra se tomaron muestras de suelo de cada cama para análisis y conteo en laboratorio por cada 100cc de suelo y lograr diagnosticar poblaciones de nematodos fitopatógenos presentes en el área de estudio y evaluación con el producto NEMABAC y la comparación con su producto homólogo comercial (PC) registrado ante el ICA.

Aplicación de Tratamientos

En la ejecución del trabajo, pruebas de eficacia para el registro del producto NEMABAC y sus tratamientos descritos en el protocolo presentado a la entidad reguladora de insumos agrícolas, Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) se estableció un diseño experimental de bloques al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones. Las aplicaciones de los tratamientos se hicieron con las dosis descritas del producto en el protocolo presentado, NEMABAC aplicados al suelo: a) 1). NEMABAC a 10 mL/L (dosis alta). 2) NEMABAC a 5 mL/L (dosis media). 3) NEMABAC a 2.5 mL /L (dosis baja) 4) Producto comercial, registrado ante el ICA (*Paecilomyces lilacinus* and *Paecilomyces fumosoroseus*) y 5). Testigo absoluto sin ninguna aplicación. El tiempo de evaluación fue de un ciclo productivo o de corte, donde se recolectaron plantas completas con su sistema radicular y muestras de suelo para análisis y conteo de nematodos.

La primera aplicación se realizó antes de la siembra del tomillo y después del análisis de suelo; las aplicaciones se realizaron en drench con una bomba de aspersión y una boquilla de baja descarga y chorro compacto. Cada aplicación se realizó acorde al sorteo realizado para garantizar aleatorización de los tratamientos dentro de cada repetición. La segunda aplicación de los tratamientos se realizó a las 5 semanas de la siembra de igual forma, en drench y a dosis descritas. La última aplicación se realizó a las 13 semanas del cultivo y se esperó hasta cosecha en la semana 16, para realizar diagnóstico de suelo y raíz con presencia o ausencia de *Meloidogyne* spp. Además de las evaluaciones finales se observó durante todo el ciclo vegetativo una uniformidad constante del cultivo acompañado de buen estado fitosanitario y sin presentar sintomatología de daños por nematodo, dichos síntomas según Navarro (2015) pueden ser clorosis o amarillamiento de las plantas, enanismos o baja productividad de las mimas. Las aplicaciones de nematicidas fueron acompañadas por un manejo agronómico desde el inicio, con

una fertilización adecuada y manejo de plagas y enfermedades acorde al trabajo para que no afectase los resultados de las parcelas evaluadas.

VARIABLES EVALUADAS

Con el propósito de registrar el producto NEMABAC ante el ICA de la empresa Bioquirama S.A.S se realizaron una serie de evaluaciones mediante pruebas de eficacia in vivo. Se realizó la medición de la biomasa del sistema radical de las plantas y para el caso de los nematodos se utilizó una escala de medición de estos nematodos endoparásitos sedentarios del género *Meloidogyne spp* se establecieron valores de cero (0) a cinco (5) teniendo como referencia un porcentaje de infestación. De acuerdo con esta escala: (0) corresponde a plantas sin síntomas, (1) entre el 1% al 10% de infestación; (2) entre el 11% y 25% de infestación (3) entre el 26% y el 50% de infestación; (4) entre el 51% y el 75% de infestación y (5) entre el 76% y 100% de infestación.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La homogeneidad de varianzas y la normalidad de los datos fueron comprobadas en el paquete estadístico Rwizard 1.3. Para las raíces se realizó un diseño completamente al azar y se realizó un análisis de varianza para determinar diferencias entre los tratamientos. Para las variables de nudosidad en raíces de las plantas, parcial o total en la escala propuesta por Sañudo *et al.* (2003) y Sharma *et al.* (2006). Para hallar las diferencias significativas se realizó la prueba de χ^2 Pearson (Prueba de diferencias entre teoría y observación) el cual sirvió para comprobar diferencias y homogeneidad de los datos y su varianza junto con la independencia. En la totalidad del ensayo se halló las diferencias significativas con una probabilidad de: $p = 0.007$.

RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los resultados correspondientes a la evaluación de los tratamientos: 1). NEMABAC a 10 mL/L (dosis alta). 2) NEMABAC a 5 mL/L (dosis media). 3) NEMABAC a 2.5 mL/L (dosis baja) 4) Producto comercial, registrado ante el ICA (*Paecilomyces lilacinus* and *Paecilomyces fumosoroseus*) y 5). Testigo absoluto sin ninguna aplicación de nematicida.

De acuerdo con el análisis que se presenta en la figura 1 se observa que en todos los tratamientos donde se empleó el NEMABAC se obtuvo el mayor peso de las raíces, mientras que el producto de comparación y el testigo absoluto mostraron los datos más bajos de peso del sistema radical de las plantas de tomillo.

Tabla 1. Evaluación final de Monitoreo directo en campo y análisis de Laboratorio en Bioquirama S.A.S. sobre el desarrollo radical y el control de nematodos formadores de nódulos radicales *Meloidogyne* spp. En plantas aromáticas y condimentarias, especie trabajada tomillo (*T. vulgaris*) en la finca Santa María del municipio de la Ceja- Antioquia

Bloque	Tratamiento	Peso raíz	Calificación
1	1	13.1	0
1	2	8.9	0
1	3	18	0
1	4	7.1	1
1	5	3.7	0
2	1	10.7	0
2	2	11.6	0
2	3	10.5	0
2	4	6.7	1
2	5	4.7	3
3	1	10.4	0
3	2	11.9	0
3	3	8.6	1
3	4	5.8	1
3	5	4.3	3
4	1	8.7	0
4	2	8.6	1
4	3	10.9	0
4	4	3.8	1
4	5	9.7	0

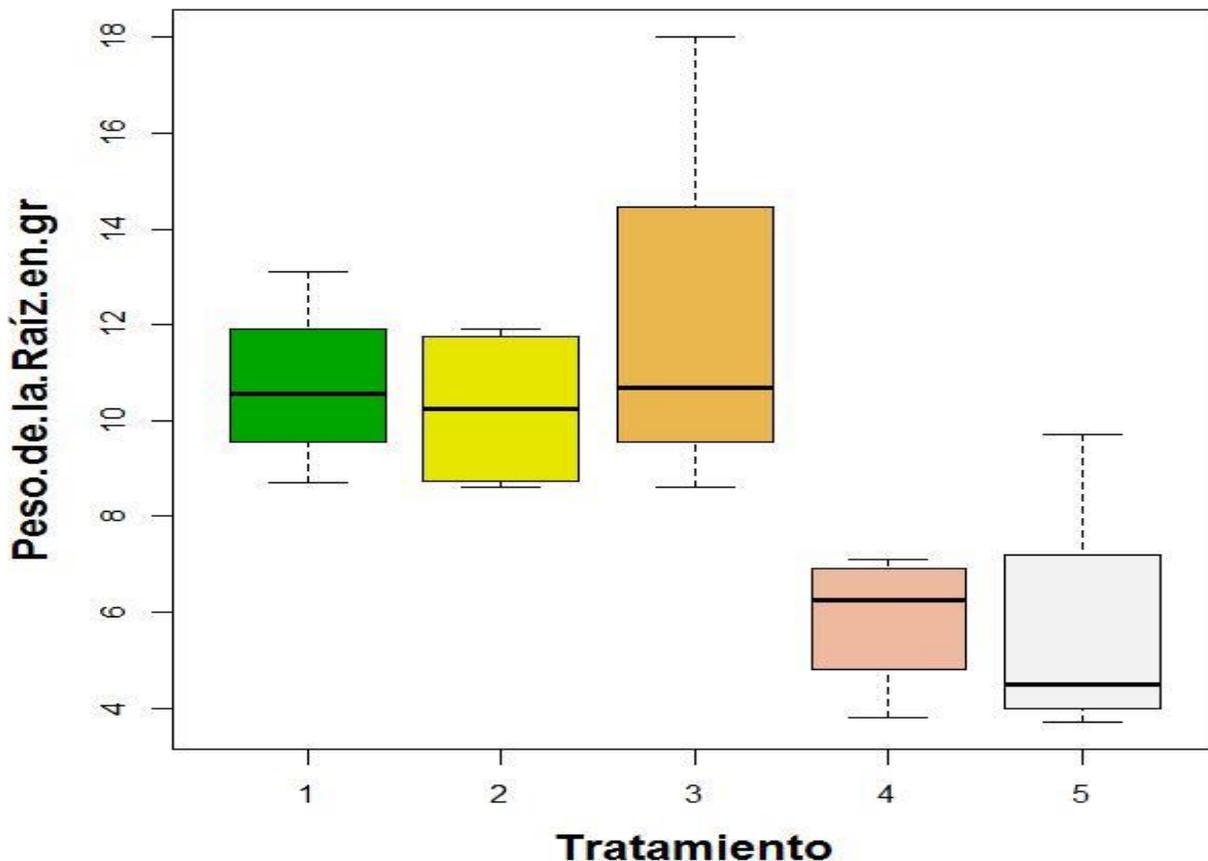


Figura 1. Efecto de tres dosis de NEMABAC, un producto de comparación y un testigo absoluto [T1: NEMABAC a 10 mL/L (dosis alta) T2: NEMABAC a 5 mL/L (dosis media). T3: NEMABAC a 2.5 mL /L (dosis baja), T4: Producto comercial, registrado ante el ICA (*Paecilomyces lilacinus* and *Paecilomyces fumosoroseus*) y T6). Testigo absoluto sin ninguna aplicación de nematicida

El valor o umbral para determinar una parcela como positiva frente a los síntomas y signos de la presencia de nematodos de nódulos radicales en plantas de tomillo fue con una escala de 0 sin presencia de la plaga y de 5 como límite (presencia), donde se halla o no a los nematodos ocasionando daños significativos con su respectiva sintomatología. Con base en lo anterior, podemos decir que hay diferencias observadas durante la calificación y que son notorias dentro de los tratamientos y las repeticiones, más no generan un daño significativo o económico para el cultivo, pues las poblaciones halladas están por debajo de la tolerancia del cultivo. Sin embargo, se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y las repeticiones evaluados para el control de nematodos agalladores o de los nódulos radicales, los cuales son el género *Meloidogyne* spp. Este primer hallazgo genera una conclusión frente a las dosis aplicadas en cada tratamiento, las cuales influyen directamente en el control de dichos fitoparásitos Ver tabla 2.

El análisis estadístico realizado mediante la prueba de χ^2 de Pearson logro determinar los tratamientos evaluados y las diferencias significativas entre cada uno y sus dosis respectivas, además de este tipo de análisis se realizó el conteo de nematodos por cada 100 gramos de suelo y o gramo de raíz, hallando una población baja con tendencia a cero en algunas de las parcelas evaluadas. Entre los tratamientos evaluados se hallaron diferencias estadísticamente significativas con una probabilidad de $p = 0.007$. Con lo cual se puede decir y evidenciar que los tratamientos 1, 2 y 3 presentaron una correlación próxima a la escala de evaluación 0, de la variable dependiente (calificación). Mientras que los tratamientos 4 y 5 presentaron una correlación y tendencia hacia los valores 1 y 3 de la escala variable (calificación) respectivamente. Por ende, se concluye que los mejores tratamientos son el 1, 2 y 3 con un índice entre 0 – 2 hacia el valor 0 de la escala propuesta por la investigación y prueba de eficacia. El control ejercido por las bacterias *Bacillus subtilis* y *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* sobre los nematodos *Meloidogyne* spp fue de gran efectividad para evitar daños en las raíces y controlar las pocas poblaciones halladas. El control efectuado por las bacterias y sus metabolitos secundarios fue de alta eficacia como se habla en literatura revisada y trabajos realizados por Navarro y Garcés (2015).



Tabla 2. Análisis estadístico mediante la prueba de χ^2 de Pearson para Tomillo en la finca Santa María del municipio de la Ceja – Antioquia. Los datos y gráfica presentada muestran diferencias significativas entre tratamientos y parcelas.

DISCUSIÓN

El resultado obtenido en el presente trabajo muestra que las bacterias controladoras de nematodos como *Bacillus subtilis* y *Bacillus thuringiensis* var. Kurstaki, aplicados en los distintos tratamientos y dosis en presiembra y siembra incrementaron significativamente el crecimiento de las plantas, además de ejercer una protección y control frente a los nematodos formadores de nódulos y agallas en las raíces, en el caso de este trabajo se comprobó la eficiencia y eficacia del control ejercido por las dos bacterias benéficas y su despliegue de metabolitos secundarios. Este resultado era una de las hipótesis del trabajo, el cual arroja un resultado positivo y alentador para el producto NEMABAC, en la prevención y control de nematodos formadores de nódulos radicales (*Meloidogyne* spp) en plantas de tomillo (*T. vulgaris*). Las aplicaciones del producto en procesos pregerminativos, presiembra y siembra son eficaces para lograr establecer las unidades formadoras de colonias de las bacterias (UFC) y lograr con ello un alto rendimiento del control frente a esta plaga de la mesofauna en los agroecosistemas. La poca presencia y daño de los nematodos después de la inoculación y durante la siembra es un resultado positivo para el manejo de estos gusanos microscópicos no segmentados en cultivos de tomillo, sin embargo esta herramienta de origen biológico se debe apoyar en un manejo agronómico o técnico ideal, un monitoreo constante y manejos culturales dentro y fuera de los viveros para alcanzar la máxima expresión y producción de las plantas.

CONCLUSIONES

La evaluación realizada durante la ejecución de las pruebas de eficacia para el producto NEMABAC arroja un resultado altamente positivo frente al mejoramiento de la calidad de las raíces, lo cual les confiere mayor capacidad de exploración de nutrientes del suelo y promover el desarrollo; así mismo fue positivo el control y manejo de poblaciones de nematodos fitoparásitos del género *Meloidogyne* spp en cultivos de tomillo (*T. vulgaris*). Dentro de dicha evaluación se encontró que los mejores tratamientos y resultados estaban con las tres dosis evaluadas (10, 5 y 2.5 mL/L) con una tendencia en la escala de evaluación a 0 lo cual indica que las dosis propuestas para el producto generan control sobre este tipo de plaga de la mesofauna y rizosfera.

BIBLIOGRAFÍA

Agrios, N. G. (2005). Plant Pathology, *Fifth Edition*, 838, 839-842.

Barea, J. M., Pozo, M. J., Azcón, R., and Azcón-Aguilar, C. (2005). Microbial co-operation in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 56, 1761–1778. doi: 10.1093/jxb/eri197

Castro, R.D; Díaz, G .J.J; Osorio, D. E.; Martínez, T.M.D.; Urrea, P.A; Muñoz, D. K. y Serna, B. R. (2011). Importancia de la calidad en el material de siembra en *plantas aromáticas y medicinales*, 11,19-32-37.

Bulgarelli, D., Schlaeppli, K., Spaepen, S., Ver Loren van Themaat, E., and Schulze-Lefert, P. (2013). Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 64, 807–838. doi: 10.1146/annurevplant-050312-120106

Chaves, G. C.; Marcillo, M. E. y Salazar, G. C.(2010).Susceptibilidad de genotipos de *Solanum spp.* al nematodo causante del nudo radical *Meloidogyne spp.* (chitwood), recuperado de http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/21157/22321

Chaparro J., Sheflin A., Manter D., Vivanco J. 2012. Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. *Biol Fertil Soils* 48:489-499

Droge, B., Combes-Meynet, E., Moënné-Locco, Y., Wisniewski-Dyé, F., and Prigent-Combaret, C. (2013). “Control of the cooperation between plant growth-promoting rhizobacteria and crops by rhizosphere signals,” in Vol. 1 and 2, *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere*, ed. F. J. de Bruijn (NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.), 281–294. doi: 10.1002/9781118297674.ch27.

Kamilova, F., Kravchenko, L. V., Shaposhnikov, A. I., Azarova, T., Makarova, N., and Lugtenberg, B. (2006). Organic acids, sugars and L-tryptophane in exudates of vegetables growing on stonewool and their effects on activities of rhizosphere bacteria. *Mol. Plant Microbe Interact.* 9, 250–256. doi: 10.1094/MPMI-19- 0250

Mendes R., Kruijt M., De Bruijn I., Dekkers E., Van Der Voort M., Schneider J., Piceno Y., Desantis T., Andersen G., Bakker. P., Raaijmakers j. 2011. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science* 332:1097-1100.

Piedra, N. R. (2008). *Manejo biológico de nematodos fitoparásitos con hongos y bacterias*. Costa Rica: Tecnología en Marcha.

Richardson, A. E., Baréa, J. M., McNeill, A. M., and Prigent-Combaret, C. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil* 321, 305–339. doi: 10.1007/s11104-009-9895-2

Saharan BS., Nehra V. (2001). Plant growth promoting rhizobacteria: A critical review. *Life Sciences and Medicine Research*. Volume 2011: LSMR-21.

ANEXOS



Fotografía 1. Camas de tomillo (*T. vulgaris*) con pruebas de eficacia del producto NEMABAC en la finca Santa María del Municipio de la Ceja Antioquia.



Fotografía 2. Aplicaciones y seguimiento de los tratamientos de NEMABAC en cultivo de tomillo de la Finca Santa María, para el control de nematodos formadores de nódulos radicales *Meloidogyne* spp.



Fotografía 3. Toma de muestras en el cultivo de tomillo (Plantas completas) para análisis de nematodos en raíz y suelo *Meloidogyne* spp.