

RESEARCH/INVESTIGACIÓN

EFFECTO DEL FLUENSULFONE SOBRE LA MOVILIDAD *IN VITRO*, Y LA REPRODUCCIÓN Y AGALLAMIENTO DE *NACOBBUS ABERRANS* EN MICROPARCELAS

Anselmo J. Cabrera-Hidalgo¹, Ernestina Valadez Moctezuma² y Nahum Marbán Mendoza^{1*}

¹Laboratorio de nematodos fitopatógenos, Posgrado en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Edo. de México, C.P. 56230 Tel: +52 595 952 15 00 Ext. 5356; ²Laboratorio de Biología Molecular, Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Edo. México, C.P. 56230 Tel: +52 595 952 15 00 Ext. 6438. Corresponding autor: nmarbanm@yahoo.com.mx

ABSTRACT

Cabrera Hidalgo, A. J., E. Valadez Moctezuma, and N. Marbán Mendoza. 2015. Effect of fluensulfone on the mobility *in vitro*, and reproduction and root galling of *Nacobbus aberrans* in microplots. *Nematropica* 45:59-71.

The effect of fluensulfone on juveniles (J2) of *N. aberrans* *in vitro* and greenhouse conditions in tomato and cucumber crops was evaluated. Within assays *in vitro*, nine concentrations of fluensulfone and one of oxamyl were assessed, and the percentage of immobile nematodes at 24 hr after exposure were determined. In greenhouse bioassay, fluensulfone dosages of 1 and 2 L.ha⁻¹, oxamyl at 4 L.ha⁻¹, and one of dichloropropene + chloropicrin (DC+CP) (300 L.ha⁻¹) were evaluated under microplots of both tomato and cucumber. All treatments were distributed under a completely randomized design with three replications. At 60 d after transplanting (DAT), nematode population density, reproduction rate, invasion, galling, and five agronomic variables (growth, yield, etc.) were assessed. The fluensulfone had a significant effect ($P = 0.0001$) on the mobility of juveniles of *N. aberrans*. At 24 hr, 100% of the nematodes were immobilized at a concentration of 288 ppm, with a LC50 of 109.2 ppm. Nematode population density, reproduction rate, and root galling of *N. aberrans* were significantly reduced by fluensulfone applications in tomato and cucumber, with values similar to those observed in those treated plants with DC + CP. Less root galling was obtained with the applications of DC + CP and fluensulfone (2 L.ha⁻¹), with a control of 98 and 91%, respectively compared to the untreated plants. The pre-transplant nematicide application had a significant effect on growth and development of tomato and cucumber plants ($P = 0.0001$). Tomato fruit yield (total weight fruits/plant) increased by 38 and 48.8% with DC + CP and fluensulfone (2 L.ha⁻¹) treatments as compared to untreated microplots. In cucumber, fruit yield increased favorably with oxamyl applications and fluensulfone (1 L.ha⁻¹). A discussion is included considering fluensulfone use in tomato and cucumber crops affected by *N. aberrans* as a good alternative to methyl bromide and other non-fumigant nematicides.

Key words: chemical control, Dichloropropene + chloropicrin, fluensulfone, fluoroalkenyl.

RESUMEN

Cabrera Hidalgo, A. J., E. Valadez Moctezuma, y N. Marbán Mendoza. 2015. Efecto del fluensulfone sobre la movilidad *in vitro*, y la reproducción y agallamiento de *Nacobbus aberrans* en microparcelas. *Nematropica* 45:59-71.

Se evaluó el efecto del fluensulfone sobre juveniles (J2) de *N. aberrans* en condiciones *in vitro* e invernadero en los cultivos de tomate y pepino. En el ensayo *in vitro*, se evaluaron nueve concentraciones de fluensulfone y una de oxamil, y se determinó el porcentaje de nematodos inmóviles a las 24 horas después de la exposición en los productos. En el bioensayo en invernadero se evaluaron dos dosis de fluensulfone (1 y 2 L.ha⁻¹), una de oxamil (4 L.ha⁻¹) y una de dicloropropeno más cloropicrina (DC + CP) (300 L.ha⁻¹) en microparcelas de tomate y pepino. Todos los tratamientos se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar con tres repeticiones. A los 60 días después del trasplante (ddt), se evaluaron la densidad poblacional del nematodo, tasa de reproducción, invasión, agallamiento y cinco variables agronómicas. El fluensulfone tuvo un efecto significativo ($P = 0.0001$) sobre la movilidad de juveniles de *N. aberrans*. A las 24 horas, el 100% de los nematodos se inmovilizaron a una concentración de 288 ppm, con una CL50 de 109.2 ppm. La densidad poblacional del nematodo, la tasa de reproducción, así como el agallamiento inducido por *N. aberrans* en las raíces de tomate y pepino se

redujeron significativamente por las aplicaciones de fluensulfone, con valores similares a los observados en las plantas tratadas con DC + CP. El menor agallamiento se obtuvo con las aplicaciones de DC + CP y fluensulfone (2 L.ha⁻¹), reduciendo la severidad en un 98 y 91%, respectivamente. La aplicación pre-trasplante de los nematicidas tuvo un efecto significativo sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas de tomate y pepino ($P = 0.0001$). En tomate, la producción de frutos se incrementó en un 38 y 48.8% en las microparcels tratadas con DC + CP y fluensulfone (2 L.ha⁻¹) con respecto al control. En pepino, el rendimiento de frutos se incrementó favorablemente con las aplicaciones de oxamil y fluensulfone (1 L.ha⁻¹). Se discute las ventajas del fluensulfone como nematicida no fumigante alternativo al bromuro de metilo.

Palavras-chave: Dicloropropeno+cloropicrina, control químico, fluensulfone, fluoroalqueno.

INTRODUCCIÓN

Nacobbus aberrans representa una amenaza en la agricultura mexicana e internacional, debido a que posee una alta capacidad reproductiva, una amplia gama de hospedantes, potencial de pérdidas en rendimiento y amplia distribución geográfica, al menos 40 países han establecido medidas cuarentenarias para prevenir su ingreso. Estos factores han hecho que *N. aberrans* este considerado como uno de los diez nematodos más importantes en fitopatología (Jones *et al.*, 2013) y lo convierten en un patógeno importante y de difícil manejo.

Bajo condiciones de invernadero, *N. aberrans* afecta severamente el sistema radical de plantas de remolacha (*Beta vulgaris* L.), reduciendo del 27-75% el peso de la planta (Inserra *et al.*, 1984). Pérdidas de rendimiento reportadas en cultivos de importancia alimenticia e industrial promedian un 65% en papa, en la región Andina de América Latina; y 55 y 36% en tomate y frijol en México, respectivamente (Cristóbal-Alejo *et al.*, 2000; Manzanilla-López *et al.*, 2002). Santa Cruz y Marbán (1986), reportaron pérdidas en rendimiento en el cultivo de amaranto del 10-14%.

El manejo de *N. aberrans* es un aspecto de importancia creciente para contrarrestar los efectos negativos que provoca en los sistemas de producción de hortalizas susceptibles. Actualmente, dentro del grupo de los nematicidas no fumigantes, particularmente los carbamatos y organofosforados, que se desarrollaron en los años 50's, solo el oxamil conserva su registro. Casi todos salieron del mercado por restricciones ambientales y toxicológicas (Marbán-Mendoza y Manzanilla-López, 2012).

Las estrictas demandas sobre inocuidad alimentaria por parte de los consumidores y las restricciones en el uso de nematicidas, conducen a la búsqueda e identificación de alternativas de control compatibles con el ambiente y la sanidad del agroecosistema. Entre estas alternativas se tiene al fluensulfone, un nematicida de nueva generación del grupo de los fluoroalquenos, que posee actividad nematicida irreversible comparada con los productos

actualmente disponibles en el mercado (Oka *et al.*, 2011). Afecta diferentes estados de desarrollo de los nematodos en varias rutas, y su perfil toxicológico y ecotoxicológico es mucho mejor que la de los nematicidas organofosforados y carbamatos comúnmente usados (Karmon *et al.*, 2013). Por ejemplo, la DL50 aguda del fluensulfone por vía de administración oral a ratas es mayor a 500 mg.kg⁻¹, mientras que para los nematicidas más populares como el aldicarb, fenamifos, oxamyl, cadusafos, y fostiazato son de 0.5-1.5, 2-19, 5.4, 37.1 y 73 mg.kg⁻¹, respectivamente. Además, no es tóxico a abejas ni a lombrices de tierra (Oka *et al.*, 2011).

Actualmente se desconoce la respuesta de *N. aberrans* al fluensulfone, por lo que los objetivos de este estudio fueron evaluar su rango de acción y el efecto que tiene sobre la movilidad del nematodo en condiciones *in vitro*. Adicionalmente, se comparó la eficacia en el control de nematodos del fluensulfone contra uno de los nematicidas fumigantes de transición en la sustitución del bromuro de metilo, en microparcels bajo invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Nematodos

Una población local de *Nacobbus aberrans* (Thorne) Thorne & Allen originaria de Chapingo, México se crió e incrementó *in vivo* en raíces de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) cv. Río grande en macetas de plástico de 20 L en condiciones de invernadero (28 ± 3°C, 13 horas de luz y 40% de humedad relativa en promedio). Esta población fue originalmente aislada de plantas de Chile (*Capsicum annum* L.) en campos agrícolas de Texcoco (19°29'24.63" LN y 98°52'38.74" LO a 2261 msnm).

La identificación de la especie se hizo usando la técnica de PCR mediante la secuenciación de la región 18S del DNAr (Holterman *et al.* 2006).

Para obtener los J2 de *N. aberrans* para las pruebas *in vitro* se extrajeron masas de huevos de las raíces del tomate de 45 días de edad, se desinfestaron con NaClO al 1% durante 1 min y se enjuagaron

cuidadosamente con agua destilada. Las masas se dispersaron sobre una malla metálica (30 μm) y los J2 eclosionados se recolectaron en una caja Petri colocada en la parte inferior de la malla (Vrain, 1977). Solamente, los J2 que se recuperaron después de las primeras 24 horas fueron usados para las pruebas *in vitro*.

Nematicidas

Se evaluó un formulado a base de dicloropropeno más cloropicrina (DC + CP) (Agrocelhone NE[®] a 803 + 440 g i.a. L⁻¹) como nematicida fumigante, y el fluensulfone (FSF) (NIMITZ[®] a 480g.L⁻¹) y oxamil (Vydate L[®] a 235g i.a.L⁻¹) como nematicidas no fumigantes.

Respuesta de la concentración letal del fluensulfone

Juveniles de segundo estadio de *N. aberrans* fueron expuestos a nueve concentraciones de FSF (288, 240, 192, 144, 120, 96, 72, 48 y 24 ppm) y la movilidad fue determinada visualmente a las 24 horas después de la exposición, haciendo observaciones periódicas, en la primera hora se observaron cada 10 minutos y posteriormente a intervalos de 2 horas. Las pruebas se hicieron en discos de cristal de un mL de capacidad (siracusas); en cada disco se depositaron 500 μL de la solución nematicida y posteriormente se añadieron de 30-40 nematodos en 500 μL de agua destilada. Las concentraciones se prepararon a 2 \times para obtener la dilución final deseada en los siracusas. Cada tratamiento se repitió cinco veces y se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar. Una concentración de oxamil a 50 ppm y un tratamiento control con solo agua destilada fueron añadidos con fines comparativos.

Después de 24 h de exposición en la solución nematicida, los nematodos se lavaron cuidadosamente dos veces en un tamiz de 25 μm de poro con agua destilada y después se transfirieron a un disco Siracusa con agua destilada aireada por 24 horas. Los J2 fueron considerados inmóviles si no respondían a un estímulo cuando se tocaban con una aguja y después de observarlos durante 30-60 segundos usando un microscopio de disección de 40 \times (Olympus SZ40, USA). Si los nematodos recuperaban su movilidad después de resuspenderlos en agua destilada aireada, el efecto del producto químico fue considerado como nematástico, de lo contrario como nematicida. Los ensayos se repitieron tres veces

Variable evaluada

Se registró la proporción de nematodos inmóviles a las 24 horas después de la exposición en

los productos químicos. En cada periodo de tiempo se observaron los nematodos bajo un microscopio compuesto para examinar su condición fisiológica.

Efecto de la actividad nematicida del fluensulfone en invernadero

Un segundo ensayo fue conducido en condiciones de invernadero con FSF, DC + CP y oxamil para comparar el efecto de los productos sobre *N. aberrans* en plantas de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) cv. Río grande y pepino (*Cucumis sativus* L.) cv. Turbo.

Inoculación de las microparcels

Para incrementar y uniformizar las poblaciones de *N. aberrans* se colocaron 10 plantas de tomate cv. Río grande de 30 días de edad en microparcels de 120 \times 30 \times 15 cm (largo-ancho-alto) que contenían suelo franco arenoso (pH 7.09, arena:arcilla:limo, 64:10:26) previamente desinfectado con DC+CP. Las plantas fueron inmediatamente inoculadas con aproximadamente 2000 juveniles de *N. aberrans*. Las plantas se regaron diariamente mediante goteo y se fertilizaron vía edáfica con una fórmula granulada de liberación controlada (N-P-K, 17-17-17) cada ocho días.

Cuando se detectó la presencia de agallamiento en las raíces de las plantas de tomate (60 días después de la inoculación), se arrancaron y el suelo de cada microparcels se mezcló para homogeneizar el nivel de inóculo.

Tratamientos y especificaciones de la aplicación de los productos

Se evaluaron dos dosis de FSF (1 y 2 L.ha⁻¹), una de DC + CP (300 L.ha⁻¹) y una dosis comercial de oxamil (4 L.ha⁻¹) sobre juveniles de *N. aberrans* en plantas de tomate y pepino. Un control sin aplicación fue añadido con fines comparativos.

Los nematicidas se aplicaron una sola vez, diez días antes del trasplante, a través del sistema de riego. Las microparcels se humedecieron a capacidad de campo y posteriormente se aplicaron los productos. Para incorporar los nematicidas y disminuir los riesgos de fitotoxicidad se dio un riego a capacidad de campo, seis días después de la aplicación. Las microparcels tratadas con DC + CP se cubrieron con plástico después de la aplicación, el cual se retiró un día antes del trasplante.

Diez días después de la aplicación de los productos se colocaron 10 plantas de tomate y pepino de 30 días de edad en cada microparcels, bajo un arreglo topológico de tres bolillo, como ensayos independientes. Las plantas se regaron

diariamente mediante goteo y se fertilizaron vía edáfica con una fórmula granulada de liberación controlada (N-P-K, 17-17-17) cada ocho días. Microparcels sin aplicación de nematicidas fueron usadas como tratamiento control. Los tratamientos se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar con tres repeticiones.

Variables evaluadas

Se evaluaron la densidad poblacional del nematodo en suelo (inicial y final), tasa de reproducción, número de juveniles en un gramo de raíz agallada, número de agallas por planta, índice de agallamiento, altura de planta o longitud de guía principal, peso fresco de la parte aérea (PFF) y raíz (PFR) y rendimiento de frutos (g.planta⁻¹). La producción de tomate se evaluó hasta el segundo corte, aproximadamente 90 ddt. La población inicial (Pi) se evaluó antes de aplicar los tratamientos y la evaluación final (Pf) a los 60 ddt, tomando cinco submuestras de suelo de aproximadamente 200 g cada una, por microparcelsa en zig-zag (muestra compuesta de aproximadamente 1 kg de suelo); la muestra se homogeneizó y se tomaron 100 cm³ de suelo para extraer los nematodos mediante el método de tamizado de Cobb (Cobb, 1918). La tasa de reproducción (R) se determinó mediante la ecuación $R = Pf/Pi$. El número de juveniles (J2) en las raíces agalladas se cuantificaron a partir de raíces clarificadas y teñidas según la técnica modificada de Byrd *et al.* (1983). El número de agallas por planta (NAP) se determinó mediante conteo directo de las agallas visibles en el sistema radical. El índice de agallamiento (IA) se usó para estimar el efecto de los productos sobre la infectividad de *N. aberrans*, basados en una escala de seis puntos, donde 0 = no agallas o raíces sanas y 5 = agallamiento severo (Taylor y Sasser, 1978).

Análisis estadístico

Se comprobó la homogeneidad de varianza entre tratamientos mediante la prueba de Chi Cuadrado descrita por Bartlett (1937), y la distribución normal de las observaciones de cada tratamiento se determinó por la prueba de Shapiro Wilk (Shapiro y Wilk, 1965) con niveles de significancia de $P < 0.05$. Los datos del ensayo *in vitro* fueron analizados para obtener la concentración letal (CL50) mediante el análisis Probit con mortalidad corregida (mortalidad natural de los juveniles no asociada a los efectos de las dosis), utilizando el programa XLSTAT 2015 (Addinsoft SARL) sobre la base del siguiente modelo:

$$\text{Pr}(\text{respuesta}) = C + (1 - C)F(X'\beta) = C + (1 - C)$$

$$\varphi(\beta_0 + \beta_1 * \log_{10}(\text{dosis}))$$

donde β es el vector de parámetros estimados (intercepto y log dosis); F es la función de distribución acumulativa (normal); X es el vector de variables explicativas; Pr es la probabilidad de una respuesta; C es la tasa de respuesta natural (proporción de individuos que responden a la dosis cero).

Los valores obtenidos de las variables del ensayo en invernadero se sometieron a un análisis de varianza y comparación múltiple de medias (Tukey, $\alpha = 0.05$). Todos los análisis se hicieron con el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS) Versión 9.3.

RESULTADOS

Respuesta de la concentración letal del fluensulfone

El FSF tuvo un efecto significativo ($P = 0.0001$) sobre la movilidad de *N. aberrans*. A las 24 h horas de haber estado en contacto con el nematicida, se inmovilizaron del 5.5 al 100% de los nematodos a concentraciones de 24 a 288 ppm, respectivamente. A concentraciones bajas (24-96 ppm), el FSF inmovilizó menos del 50% de los juveniles del nematodo, sin embargo a partir de 120 ppm la efectividad del producto fue mejor, inmovilizando el 100% de ellos a concentraciones de 288 ppm. Los nematodos que se colocaron en oxamil a 50 ppm perdieron la movilidad en más del 85% y menos del 3% de los J2 mantenidos en agua destilada (control).

Ninguno de los nematodos que se inmovilizaron con FSF durante 24 horas y que se transfirieron a agua destilada aireada reaccionó al estímulo mecánico, por lo que se consideraron como muertos; mientras que el 75% de los tratados con oxamil recuperaron su actividad motriz después de transferirlos a agua destilada aireada.

El análisis Probit permitió determinar que la concentración de FSF a la cual se muere el 50% de los juveniles de *N. aberrans* corresponde a 109.2 ppm bajo las condiciones de este ensayo (Cuadro 1, Figura 1).

Efecto de la actividad nematicida del fluensulfone en invernadero

Densidad población inicial y final. Las poblaciones de *N. aberrans* en las microparcelsa de tomate y pepino, antes de aplicar los tratamientos, no mostraron diferencias significativas ($P = 0.8283$ y 0.9578) con promedios de 33.6 ± 4.8 y 29.7 ± 5.7 J2/100 cm³ de suelo, respectivamente. Las aplicaciones de FSF y DC + CP redujeron significativamente las poblaciones del nematodo a

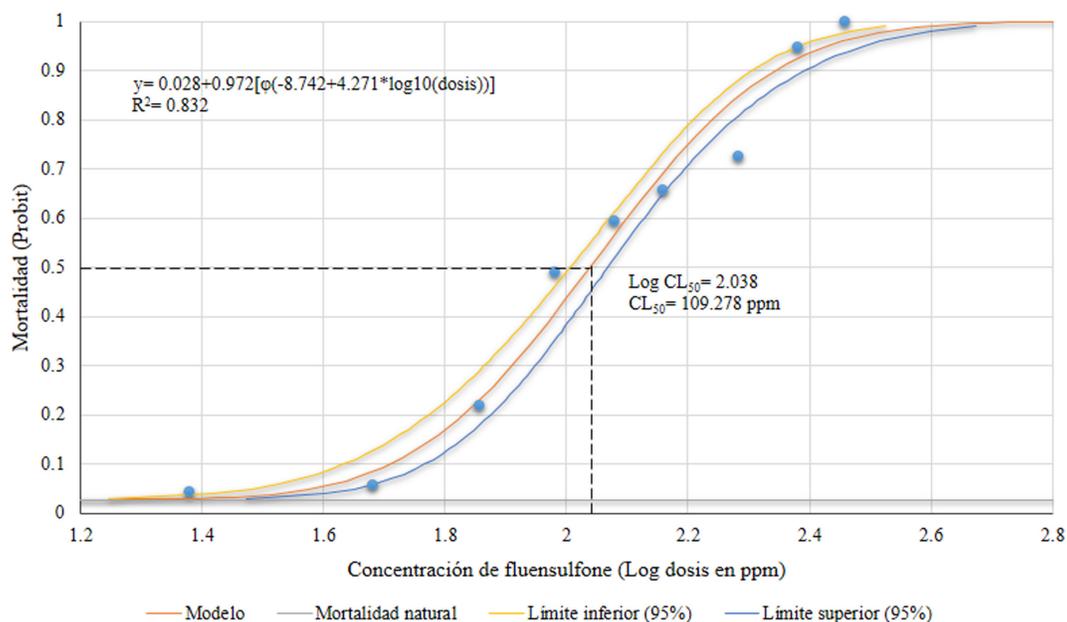


Figura 1. Mortalidad de juveniles (J2) de *N. aberrans* a las 24 h de exposición en fluensulfone en condiciones *in vitro*. Eje X= Concentración de FSF en ppm, en escala logarítmica. Eje Y= Mortalidad de juveniles de *N. aberrans* en escala Probit.

Cuadro 1. Análisis y ecuación Probit de las dosis de fluensulfone sobre juveniles de segundo estadio de *N. aberrans*.

Fuente	Valor	Error estándar	X ²	Pr > X ²	Límite inferior (95%)	Límite superior (95%)	
β_0	-8.742	0.665	172.958	<0.0001	-10.045	-7.439	
β_1	4.271	0.312	187.056	<0.0001	3.659	4.883	
Tiempo (h)	Ecuación Probit				β_0	β_1	CL50
24	0.028+0.972[φ(-8.742+4.271*log10(dosis))]				**	**	109.278

Calculado con el programa XLSTAT y corroborado con SAS PROC PROBIT. **= Altamente significativos con Pr < 0.0001. X²= Chi cuadrada.

los 60 ddt ($P = 0.0001$). Comparando la densidad poblacional del nematodo en el suelo después de la cosecha con la de antes del trasplante, se presentó un incremento significativo en las microparcels control en comparación con las tratadas con DC + CP, FSF y oxamil.

El número promedio de juveniles de *N. aberrans*, en las microparcels de tomate tratadas con DC + CP y oxamil, fue de 24.67 y 249.33 J2 a los 60 ddt, respectivamente; mientras que en el tratamiento control la cantidad de juveniles fue de 376.33 J2 en 100 cm³ de suelo ($P = 0.0001$) (Figura 2). El FSF (2 L.ha⁻¹) redujo en un 83% la población final (63 J2) de *N. aberrans* con respecto al control.

En el cultivo de pepino, la población del nematodo fue significativamente reducida con las aplicaciones de los productos ($P = 0.0001$), encontrando la mayor cantidad de J2 en las parcelas control con más de 450

juveniles. Con la aplicación de FSF (2 L.ha⁻¹) y DC + CP, la densidad poblacional de *N. aberrans* se redujo en un 88 y 95% respectivamente, con relación a las plantas sin tratar (Figura 3).

Tasa de reproducción

La tasa de reproducción de *N. aberrans* fue significativamente suprimida ($P = 0.0001$) con las aplicaciones de DC + CP y FSF; siendo el DC + CP el más eficiente, con tasas menores a 1 en ambos cultivos, afectando la reproducción del nematodo en más del 95% comparado con las plantas control (Cuadro 2).

La disminución en la tasa de reproducción de *N. aberrans* con las aplicaciones de FSF en dosis de 2 L.ha⁻¹ fue superior al 82% en comparación al tratamiento control. En ambos cultivos la mayor

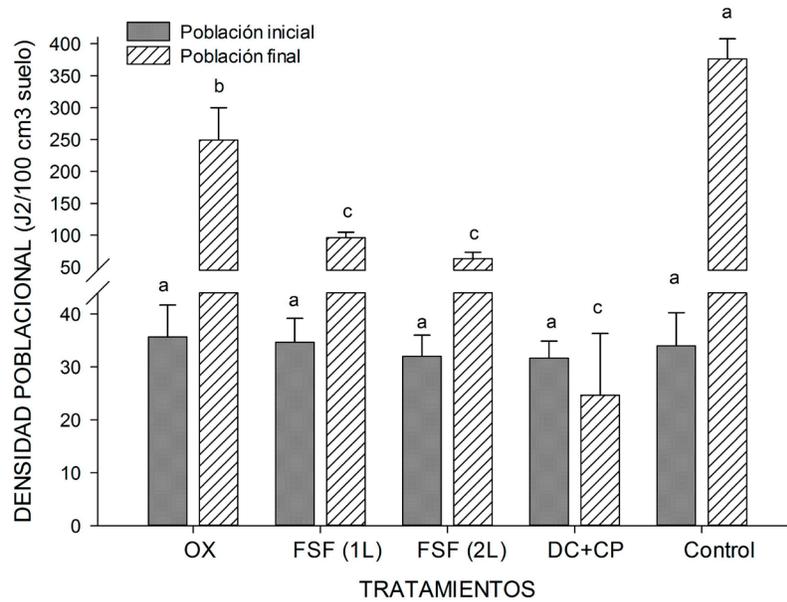


Figura 2. Efecto de nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (Oxamil y Fluensulfone) sobre los niveles poblacionales de *N. aberrans* en tomate. Chapingo, México. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Las letras en las barras representan el nivel de significancia ($\alpha = 0.05$).

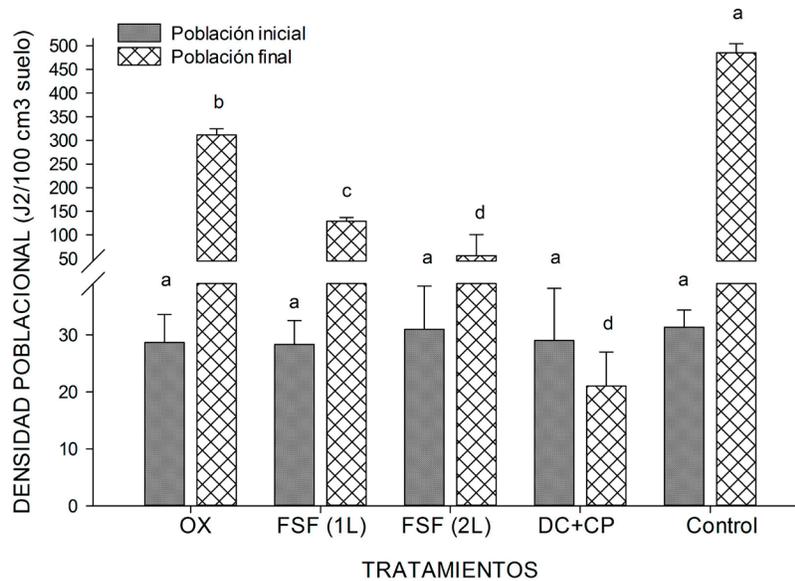


Figura 3. Efecto de nematicidas fumigantes (DC + CP) y no fumigantes (Oxamil y Fluensulfone) sobre los niveles poblacionales de *N. aberrans* en pepino. Chapingo, México. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Las letras en las barras representan el nivel de significancia ($\alpha = 0.05$).

reproducción se presentó en las plantas sin tratar con tasas de reproducción de 11.31 y 15.62 para tomate y pepino, respectivamente, siendo estadísticamente diferentes al resto de los tratamientos ($P = 0.0001$).

Número de juveniles (J2) en raíces agalladas

La invasión de juveniles de *N. aberrans* en plantas de tomate mostró diferencias significativas entre tratamientos ($P = 0.0001$). La menor invasión se presentó en las plantas de las microparcels tratadas con DC + CP y FSF (2 L.ha⁻¹) con 9 y 12 especímenes por gramo de raíz, reduciendo la entrada de los juveniles en un 72 y 63%, respectivamente, con respecto al control. El FSF (1 L.ha⁻¹) y oxamil disminuyeron la invasión del nematodo en un 57 y 23%, respectivamente, en comparación con las plantas sin tratar (Cuadro 2).

La mayor cantidad de nematodos en raíces de tomate se encontró en las plantas control con 33 juveniles en un gramo de raíz, y la menor cantidad con el DC + CP (9 J2).

En las raíces de pepino tratadas con DC+CP y FSF (2 L.ha⁻¹) se presentó la menor invasión del nematodo con 9 y 11 J2 en promedio, respectivamente; mientras que la mayor invasión ocurrió en las plantas control con un promedio de 29.27 nematodos por gramo de raíz. En las raíces de las plantas tratadas con oxamil se encontraron en promedio 23 juveniles, siendo estadísticamente diferente al resto de los tratamientos. La invasión de *N. aberrans* en las plantas de pepino se redujo en más del 60% con las aplicaciones de DC + CP y fluensulfone (2 L.ha⁻¹) a los 60 ddt (Cuadro 2).

El número de J2 de *N. aberrans* encontrados en el interior de las raíces de las plantas de tomate a los 60 ddt estuvo correlacionado positivamente con el número de agallas, con un coeficiente de correlación (r) de 0.8268; al igual que en las plantas de pepino con un coeficiente de correlación de 0.8041.

Número de agallas por planta

Las plantas de tomate y pepino fueron susceptibles a *N. aberrans* desarrollando un gran número de agallas en las plantas control (más de 100 agallas por sistema radical). En las plantas de tomate y pepino, los tratamientos con DC + CP y FSF (2 L.ha⁻¹) proporcionaron una buena reducción en el número de agallas (más del 88%), en comparación con las plantas control. Las plantas de tomate tratadas con FSF (1 L.ha⁻¹) y oxamil desarrollaron en promedio 31 y 62 agallas, respectivamente; mientras que en pepino la protección conferida por la aplicación de FSF (1 L.ha⁻¹) y oxamil fue superior al 67% con 31.27 y 32.93 agallas, respectivamente, en comparación con las plantas sin tratar (Cuadro 3).

Índice de agallamiento

El mayor índice de agallamiento se presentó en las plantas control. La aplicación de los productos protegió significativamente las raíces de las plantas de tomate y pepino ($P = 0.0001$), encontrando la mayor protección en las microparcels tratadas con DC + CP y el FSF (2 L.ha⁻¹), reduciendo el índice de agallamiento en un 80 y 40% para tomate y pepino, respectivamente, en comparación con las plantas sin tratar (Cuadro 3).

Variables vegetativas en plantas de tomate y pepino

La aplicación pre-trasplante de los productos tuvo un efecto significativo sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas de tomate y pepino ($P = 0.0001$), ya que todos los tratamientos incrementaron significativamente la altura, peso fresco de la parte aérea (PFF) y raíz (PFR) de las plantas de tomate; siendo el DC + CP y FSF (2 L.ha⁻¹) los mejores

Cuadro 2. Efecto de nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (Oxamil y Fluensulfone) sobre la tasa de reproducción e invasión de juveniles de *Nacobbus aberrans* en tomate y pepino. Chapingo, México.

Tratamientos	Tasa de reproducción		J2 en un gramo de raíz	
	Tomate ^z	Pepino	Tomate	Pepino
Oxamil (4 L.ha ⁻¹)	6.96 b	11.05 b	25.67 b	22.60 b
Fluensulfone (1 L.ha ⁻¹)	2.83 c	4.63 c	14.40 c	14.20 c
Fluensulfone (2 L.ha ⁻¹)	1.98 c	2.14 c	12.20 c	11.67 cd
DC + CP (300 L.ha ⁻¹)	0.76 c	0.74 c	9.33 c	9.33 d
Control	11.31 a	15.62 a	33.22 a	29.27 a
DMS	2.885	4.146	5.295	4.268

^zMedias con la misma letra en la misma columna, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de medias Tukey ($\alpha = 0.05$). DMS = Diferencia mínima significativa.

Cuadro 3. Número de agallas e índice de agallamiento inducido por *Nacobbus aberrans* en plantas de tomate (cv. Río Grande) y pepino (cv. Turbo) tratadas con nematicidas fumigantes (DC + CP) y no fumigantes (Oxamil y Fluensulfone). Chapingo, México.

Tratamientos	Tomate		Pepino	
	NAP ^z	IA	NAP	IA
Oxamil (4 L.ha ⁻¹)	62.60 b	4.0	32.93 b	4.0
Fluensulfone (1 L.ha ⁻¹)	31.93 c	4.0	31.27 b	4.0
Fluensulfone (2 L.ha ⁻¹)	12.27 d	3.0	12 c	3.0
DC + CP (300 L.ha ⁻¹)	1.87 d	1.0	2.93 d	1.0
Control	144.87 a	5.0	100.73 a	5.0
DMS	11.903		8.119	

^zMedias con la misma letra en la misma columna, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de medias Tukey ($\alpha = 0.05$). DMS = Diferencia mínima significativa.

Cuadro 4. Efecto de nematicidas fumigantes (DC + CP) y no fumigantes (Oxamil y Fluensulfone) sobre variables agronómicas de plantas de tomate (*Solanum lycopersicon* L.) cv. Río grande cultivado en invernadero. Chapingo, México.

Tratamientos	AP ^z	PFP	PFR	PRO
Oxamil (4 L.ha ⁻¹)	62.13 bc	206.40 b	50.40 b	300.6 b
Fluensulfone (1 L.ha ⁻¹)	64.87 b	233.33 b	50.13 b	303.40 b
Fluensulfone (2 L.ha ⁻¹)	79.33 a	293.93 a	57.40 a	343.53 a
DC + CP (300 L.ha ⁻¹)	82.27 a	286.40 a	55.00 ab	318.67 ab
Control	58.40 c	142.07 c	41.27 c	230.87 c
DMS	5.9536	29.891	5.669	35.346

^zMedias con la misma letra en la misma columna, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de medias Tukey ($\alpha = 0.05$). DMS = Diferencia mínima significativa. AP = Altura de planta, PFP = Peso fresco de la parte aérea, PFR = Peso fresco del sistema radical, PRO = Rendimiento (g.planta⁻¹), OX = Oxamil, FSF= Fluensulfone, DC + CP = Dicloropropeno más cloropicrina.

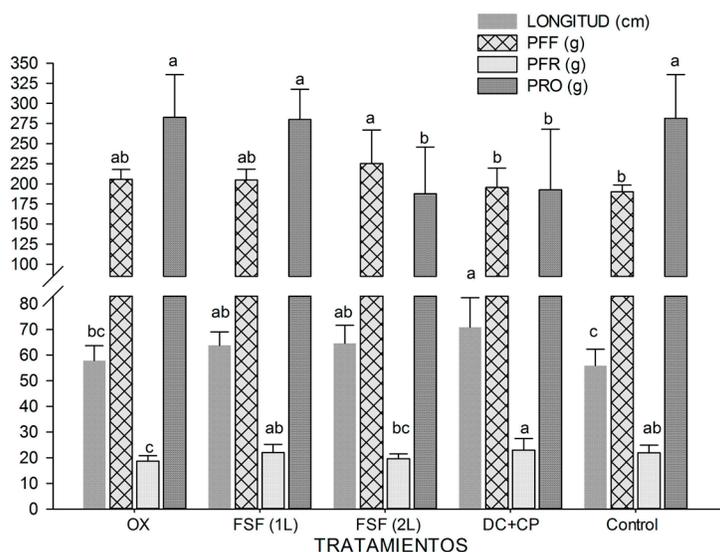


Figura 4. Respuesta de variables agronómicas a la aplicación de nematicidas fumigantes (DC + CP) y no fumigantes (Oxamil y Fluensulfone) en plantas de pepino a los 60 ddt. Chapingo, México. Longitud = Longitud de guía principal, PFF = Peso fresco de la parte aérea (PFF), PFR = Peso fresco del sistema radical, PRO = Rendimiento de frutos por planta. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Las letras en las barras representan el nivel de significancia ($\alpha = 0.05$).

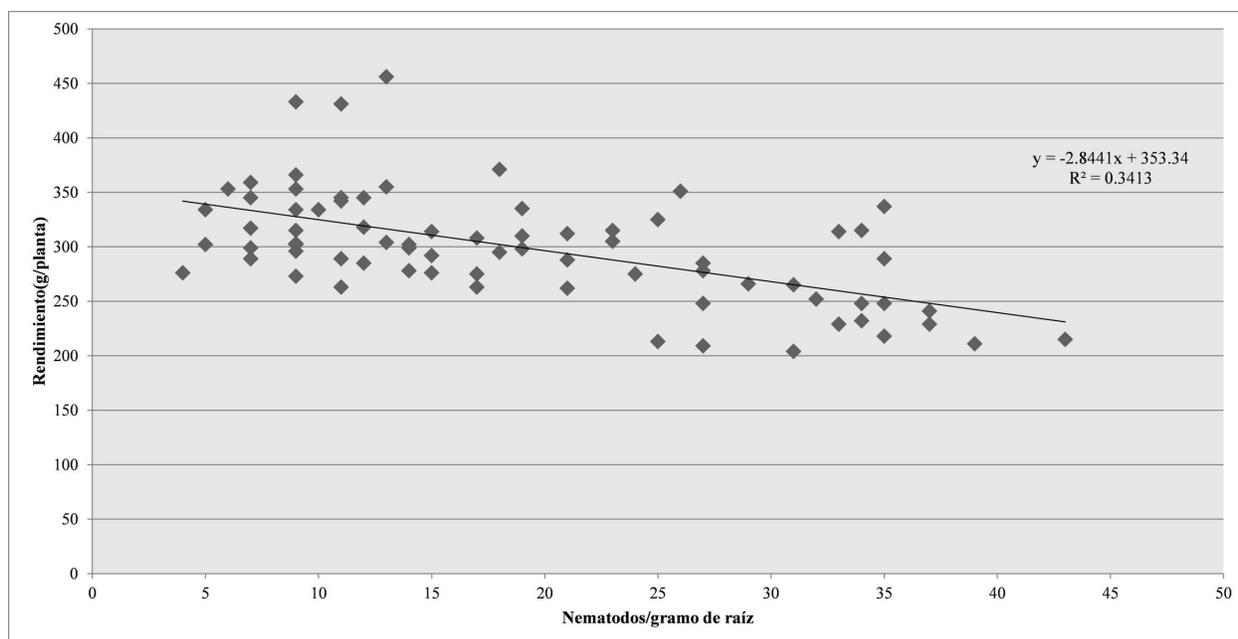


Figura 5. Relación entre juveniles de *Nacobbus aberrans* en raíces de tomate a los 60 ddt y el rendimiento de frutos. Coeficiente de correlación = -0.5842.

tratamientos. La altura de las plantas se incrementó en un 40.87%, el PFF en más del 100% y el PFR en un 33.27%, con la aplicación de DC + CP; mientras que el fluensulfone en dosis de 2 L.ha⁻¹ lo hizo en un 35.84, 106.9 y 39% respectivamente, en comparación con las plantas control (58.4cm, 142.07 g y 41.27g, respectivamente). La respuesta de estas variables a las aplicaciones de FSF (1 L.ha⁻¹) y oxamil fue relativamente menor al de los tratamientos anteriores (Cuadro 4).

En las plantas de pepino, todos los tratamientos incrementaron significativamente la longitud de la guía principal ($P < 0.0001$) a los 60 ddt. El mayor crecimiento y desarrollo de las plantas se presentó en las microparcels tratadas con DC + CP y FSF (1 y 2 L.ha⁻¹) con 70.87, 63.87 y 64.67 cm, respectivamente, incrementando la longitud de la guía principal en un 26.71, 14.2 y 15.63% con respecto al tratamiento control (Figura 4).

El peso fresco promedio de la parte aérea de las plantas de pepino solo fue significativamente favorecida con la aplicación de FSF en dosis de 2 L.ha⁻¹ (225.1 g.planta⁻¹), incrementando la materia verde en un 18.4% con respecto al control; mientras que en el resto de los tratamientos el PFF no fue estadísticamente diferente ($P = 0.0015$) al de las plantas control (190 g.planta⁻¹). La ganancia de biomasa verde con las aplicaciones de FSF (1 L.ha⁻¹) y oxamil fue menor al 8.5%. En cuanto al peso de la raíz, el DC+CP y FSF (1 L.ha⁻¹) proporcionaron un ligero incremento en la biomasa de este órgano con ganancias menores al 5%, con relación al control

(Figura 4).

El rendimiento promedio de frutos por planta en los cultivos de tomate y pepino mostró diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$). En tomate, la aplicación de DC+CP y FSF (2 L.ha⁻¹) incrementó la producción de frutos en un 38 y 48.8% (Cuadro 3), correlacionándose de manera negativa con el número de juveniles de *N. aberrans* dentro de las raíces, con un coeficiente de correlación (r) de -0.5842 (Figura 5). En pepino, los rendimientos más altos se presentaron en las plantas control, ya que la aplicación de DC + CP y FSF (2 L.ha⁻¹) causó fitotoxicidad en las plantas tratadas, reduciendo la producción de frutos en un 30%.

DISCUSIÓN

De acuerdo con varios autores (Bunt, 1975; Insunza *et al.*, 2001), los nematodos pueden recuperar su movilidad al transferirlos en agua después de haber permanecido en una solución nematicida por algunas horas, o incluso días o semanas, manifestando una serie de respuestas fisiológicas que dependen del producto aplicado y su concentración (Oka *et al.*, 2009).

Con base en los resultados de la presente investigación, el fluensulfone a las concentraciones evaluadas indujo reacciones fisiológicas en los juveniles de *N. aberrans*. El movimiento del nematodo se redujo en los primeros 10 minutos provocándoles una parálisis total, además la longitud del cuerpo no fue afectado y adoptaron una forma de varilla recta después del periodo de exposición.

Las reacciones fisiológicas de *N. aberrans* al exponerlos al fluensulfone fueron diferentes a las reportadas por Kearns *et al.* (2014) al tratar *C. elegans* con aldicarb a concentraciones de 500 μM a 1 mM, cuyos especímenes mostraron un evidente bombeo faringeal, hiper-contracción en los músculos de la pared corporal y acortamiento en la longitud del cuerpo; por lo en base al estado contráctil y la longitud del cuerpo provocado por aldicarb, posiblemente el fluensulfone presente un modo de acción diferente a la inhibición de la acetilcolinesterasa como los carbamatos y organofosforados.

Una CL50 de 109.2 ppm para juveniles de *N. aberrans* fue obtenida en base a 24 horas de exposición y comparado con los resultados obtenidos por Oka *et al.* (2009) este nematodo es menos sensitivo al fluensulfone, ya que en juveniles de *M. incognita* esta molécula inmovilizó más del 80% de los nematodos a concentraciones de 2-8 ppm después de 48 horas de exposición. Faske y Starr (2006) al evaluar concentraciones letales de abamectina sobre *Rotylenchulus reniformis* también encontraron grandes diferencias en la DL50 al compararla con *M. incognita*; siendo la DL50 de *R. reniformis* 82% superior a la de *M. incognita* después de 24 horas de exposición.

La parálisis o mortalidad de *N. aberrans* debidas al fluensulfone fueron irreversibles, ya que al someterlos al proceso de recuperación en agua destilada aireada por 24 horas o más, nula recuperación motriz fue obtenida, además se observó una apariencia granulosa en el intestino, sugiriendo la desintegración de las estructuras internas del nematodo, por lo que fueron considerados como muertos (Kearns *et al.*, 2014).

En el caso de los juveniles tratados con oxamil a 50 ppm, adoptaron una forma rígida, y otros permanecieron enrollados y con movimientos lentos, similar a la respuesta de especímenes de *M. incognita* tratados con oxamil a 4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (McGarvey *et al.*, 1984). Al transferirlos a agua destilada aireada, el 75% de los nematodos inmóviles recuperaron el movimiento, posiblemente porque este producto actúa como nematóstico a concentraciones muy bajas y períodos de exposición cortos (Marbán-Mendoza, 1985), es decir, solamente paralizan los nematodos sin provocarles la muerte directa afectando diferentes aspectos de su comportamiento (orientación, movilidad, eclosión, etc.), por lo que los nematodos pueden recuperarse después de remover el producto (Marbán y Viglierchio, 1980; McGarvey *et al.*, 1984; Opperman y Chang, 1990).

En relación al bioensayo en invernadero, las poblaciones de *N. aberrans* se redujeron significativamente con las aplicaciones de dicloropropeno + cloropicrina y fluensulfone

(2 L.ha⁻¹). Sin embargo, el dicloropropeno + cloropicrina, biocida fumigante, tiene la desventaja de aplicarse en altos volúmenes (300-520 L.ha⁻¹), se usa en pre-siembra o pre-plantación, requiere equipo especializado de aplicación y el período de espera es relativamente largo (10-28 días) (Marbán-Mendoza y Manzanilla-López, 2012). En contraparte, el fluensulfone no es fitotóxico (si se consideran las medidas de aplicación recomendadas por los fabricantes), el tiempo de espera es corto (8-10 días) y a las dosis utilizadas en la presente investigación actuó como un verdadero nematicida, lo cual abre la posibilidad de implementarlo en programas de manejo integrado de nematodos, ya que es un producto ecológicamente más amigable que los organofosforados y carbamatos comúnmente usados para el control de fitonematodos.

La reproducción del nematodo es afectada por diversos factores, tales como temperatura, disponibilidad de alimento, prácticas agrícolas, entre otros (Norton, 1978), por lo que los nematodos de las plantas control, al no tener algún factor crítico limitante, presentaron las máximas tasas de multiplicación. Lo contrario ocurrió en las poblaciones tratadas con los productos químicos, que redujeron significativamente la reproducción de las hembras al exponerse a las dosis letales y subletales de los productos. Los nematodos que sobrevivieron al nematicida pudieron llegar a reproducirse, pero es posible que el fluensulfone haya inhibido la eclosión de los huevos, como lo reportó Oka *et al.* (2009) en *M. javanica*.

El dicloropropeno + cloropicrina y fluensulfone (2 L.ha⁻¹) disminuyeron en más del 60% la invasión del nematodo al sistema radical de las plantas de tomate y pepino, como resultado del efecto nematicida de estos productos, que al causar la muerte de los individuos disminuyó la población de juveniles y por consiguiente la tasa de infección. Estos resultados coinciden con lo observado por Oka *et al.* (2011) en juveniles de *M. javanica* en raíces de tomate cv Daniela. En contraste, se encontró una mayor cantidad de juveniles en las raíces de las plantas tratadas con oxamil, posiblemente por su efecto nematóstico (Bunt, 1975; Opperman y Chang, 1990).

Debido a la supresión de la invasión y desarrollo del nematodo en las raíces de las plantas tratadas con fluensulfone y dicloropropeno + cloropicrina, el agallamiento inducido por *N. aberrans* se redujo hasta en un 98%; mientras que las plantas tratadas con oxamil presentaron mayor severidad del daño. Se encontró una correlación positiva entre la invasión de juveniles y el número de agallas en ambos cultivos, por lo que a mayor invasión mayor severidad en el sistema radical y viceversa.

El menor daño ocasionado por *N. aberrans* en tomate y pepino como resultado de la aplicación de fluensulfone puede deberse a la actividad nematicida irreversible del producto. Aunque el modo de acción del fluensulfone no está claramente definido, se sugiere que actúa de manera diferente a los organofosforados (Oka *et al.*, 2011), la mayoría de los cuales actúan como nematísticos, y de acuerdo con Kearn *et al.* (2014) el fluensulfone afecta la reproducción, desarrollo, alimentación y movilidad de *Caenorhabditis elegans*, y sugieren que la inhibición del desarrollo ocurre por la interferencia en el proceso de muda y que la reducción en la eclosión de los huevos se debe a la inhibición de la función mitocondrial; sin embargo tales mecanismos de acción lo deducen mediante resultados comparativos observados en embriones de *C. elegans* tratados con azida de sodio 10 mM (Hajeri *et al.*, 2010).

El alto número de juveniles en el suelo de las parcelas tratadas con oxamil al final del ensayo, confirma de manera indirecta que este producto a la dosis evaluada tiene poco o nulo efecto sobre la eclosión de los huevos (Greco *et al.*, 2000), y que el agallamiento observado en las plantas de tomate y pepino, es producto de una infección tardía, por lo que no ocurrió un efecto negativo significativo en el rendimiento de los cultivos.

Las aplicaciones de dicloropropeno + cloropicrina, oxamil y fluensulfone incrementaron la biomasa verde en las plantas de tomate y pepino, como un efecto directo de la reducción del nivel de daño ocasionado por *N. aberrans* en las plantas tratadas. No obstante, el fluensulfone tuvo el mejor efecto en el desarrollo de la raíz y del dosel vegetativo, aún en presencia del nematodo; sin embargo, es importante mencionar que en etapas tempranas de desarrollo del cultivo, la dosis alta de fluensulfone y dicloropropeno + cloropicrina, provocaron ligeros síntomas de fitotoxicidad, manifestando etiolación y escaso desarrollo foliar, los cuales desaparecieron 20 días después del trasplante. Estas observaciones indican que se requiere realizar más investigación a nivel de invernadero y campo para evitar daños significativos en los cultivos, ya que el fluensulfone se biodegrada lentamente, y su movimiento y actividad nematicida son afectados, al igual que el de la mayoría de los nematicidas, por el contenido de arcilla y materia orgánica en el suelo (Smelt y Leistra, 1992; Oka *et al.*, 2013).

El rendimiento de las plantas de tomate fue significativamente favorecido por las aplicaciones de los nematicidas, incrementándose en más del 30%. Mientras que las plantas de pepino tratadas con fluensulfone (dosis alta) y dicloropropeno + cloropicrina presentaron los rendimientos más bajos, como resultado del efecto fitotóxico generado

por estos productos en los primeros 20 días de crecimiento, el cual a diferencia del tomate, no logró recuperarse, ya que su ciclo biológico es más corto y la biomasa acumulada en los tejidos vegetales no fue suficiente para una mejor producción de frutos, aunado a un escaso desarrollo radical en estas plantas.

La fitotoxicidad generada por el fluensulfone pudo ser debido a su lenta biodegradación, lo cual a su vez favoreció su efectividad biológica, permitiendo un periodo más prolongado de exposición a los nematodos. En estudios realizados en campo abierto con plantas de pepino y melón, no se han observado síntomas de fitotoxicidad aún con dosis mayores (datos no mostrados), ya que en condiciones de campo el producto está expuesto a diversos factores que afectan su eficiencia y persistencia, y que no permiten que se acumule a concentraciones tóxicas para la planta (humedad del suelo, materia orgánica, contenido de arcillas, lixiviación, biodegradación, etc.).

A pesar de que hubo una respuesta favorable a las aplicaciones de fluensulfone en las plantas de tomate y pepino, el agallamiento no fue suprimido totalmente y un incremento de las poblaciones al final del estudio fue observado, indicándonos que una sola aplicación de este producto no es suficiente para el manejo de *N. aberrans* y otros fitonematodos, por lo que un manejo integrado de nematodos (MIN) que incluya otras estrategias de combate deben ser implementadas, siendo el fluensulfone uno de los componentes del MIN y un buen candidato como alternativa al uso del bromuro de metilo para el manejo de fitonematodos en sistemas de producción agrícola.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo otorgado para la realización de esta investigación a través de la beca No. 206249 y a la Universidad Autónoma Chapingo por las facilidades otorgadas.

LITERATURA CITADA

- Bartlett, M. S. 1937. Properties of sufficiency and statistical tests. *Proceedings of the Royal Society, London. Series A* 160:268-282.
- Bunt, J. A. 1975. Effect and mode of action of some systemic nematicides. *Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen* 75:1-128.
- Byrd, Jr., D. W., T. Kirkpatrick, and K. R. Barker. 1983. An improved technique for cleaning and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology* 15:142-143.
- Cobb, N. A. 1918. Estimating the nema population

- of the soil, with special reference to the sugarbeet and root-gall nemas, *Heterodera schachtii* Schmidt and *Heterodera radicola* (Greef) Muller, and with a description of *Tylencholaimus aequalis* n. sp. USDA, Agriculture Technology Circular 1:1-47.
- Cristóbal-Alejo, J., I. V. Cid del Prado, R. H. Manzanilla-López, N. Marbán-Mendoza, G. Mora-Aguilera, and P. Sánchez-García. 2000. Area under the progress curve of root-knot disease in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) caused by *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 30:120.
- Faske, T. R., and J. L. Starr. 2006. Sensitivity of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* to abamectin. *Journal of Nematology* 38:240-244.
- Greco, N., A. Brandonisio, and A. Dangelico. 2000. Control of the potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, with soil solarization and nematicidas. *Nematología Mediterranea* 28:93-99.
- Hajeri, V. A., B. A. Little, M. L. Ladage, and P. A. Padilla. 2010. NPP-16/Nup50 function and CDK⁻¹ inactivation are associated with anoxia-induced prophase arrest in *Caenorhabditis elegans*. *Molecular Biology of the Cell* 21:712-724.
- Holterman, M., A. Van der Wurff, S. Van den Elsen, H. Van Megen, T. Bongers, O. Holovachov, J. Bakker, and J. Helder. 2006. Phylum-wide analysis of SSU rDNA reveals deep phylogenetic relationships among nematodes and accelerated evolution toward crown clades. *Molecular Biology and Evolution* 23:1792-1800.
- Inserra, R. N., M. Di Vito, and H. Ferris. 1984. Influence of *Nacobbus aberrans* densities on growth of sugarbeet and kochia in pots. *Journal of Nematology* 16:393-395.
- Insunza, V., E. Aballay, and J. Macaya. 2001. *In vitro* nematocidal activity of aqueous plant extracts on Chilean populations of *Xiphinema americanum* sensu lato. *Nematropica* 31:47-54.
- Jones, J. T., A. Haegeman, E. G. J. Danchin, H. S. Gaur, J. Kelder, M. G. K. Jones, T. Kikuchi, R. H. Manzanilla-López, J. E. Palomares-Rius, W. M. L. Wesemael, and R. N. Perry. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* 14:946-961.
- Karmon, D., A. Azmon, R. Hefez, and Y. Oka. 2013. MCW-2, a new nematicide developed by Makhteshim-Agan. *Phytoparasitica* 41:460.
- Kearn, J., E. Ludlow, J. Dillon, V. O'Connor, and L. Holden-Dye. 2014. Fluensulfone is a nematicide with a mode of action distinct from anticholinesterases and macrocyclic lactones. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 109:44-57.
- McGarvey, B. D., J. W. Potter, and M. Chiba. 1984. Nematostatic activity of oxamyl and N, N-dimethyl-1-cyanoformamide (DMCF) on *Meloidogyne incognita* juveniles. *Journal of Nematology* 16:328-332.
- Manzanilla-López, R. H., M. A. Costilla, M. Doucet, J. Franco, R. N. Inserra, P. S. Lehman, I. V. Cid Del Prado, R. M. Souza, and K. Evans. 2002. The genus *Nacobbus* Thorne and Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): Systematics, distribution, biology and management. *Nematropica* 32:149-227.
- Marban-Mendoza, N., and D.R. Viglierchio. 1980. Behavioral effects of carbofuran and phenamiphos on *Pratylenchus vulnus*. III. Penetration and development. *Journal of Nematology* 12:119-129.
- Marbán-Mendoza, N., and R. H. Manzanilla-López. 2012. Chemical and non-chemical tactics to control plant-parasitic nematodes. Pp. 729-759 in R. H. Manzanilla-López and N. Marbán-Mendoza (eds.). *Practical Plant Nematology*. Guadalajara, México. Mundi-Prensa, Colegio de Postgraduados.
- Marbán-Mendoza, N. 1985. Quimioterapia en nematodos. Pp. 259-286 in N. Marbán y J. I. Thomason (eds). *Fitonematología avanzada I*. Montecillo, México. COLPOS.
- Norton, D. C. 1978. *Ecology of plant-parasitic nematodes*. John Wiley and Sons, Inc. United States of America.
- Oka, Y., S. Shuker, and N. Tkachi. 2009. Nematicidal efficacy of MCW-2, a new nematicide of the fluoroalkenyl group, against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Pest Management Science* 65:1082-1089.
- Oka, Y., S. Shuker, and N. Tkachi. 2011. Systemic nematocidal activity of fluensulfone against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on pepper. *Pest Management Science* 68:268-275.
- Oka, Y., S. Shuker, and N. Tkachi. 2013. Influence of soil environments on nematocidal activity of fluensulfone against *Meloidogyne javanica*. *Pest Management Science* 69:1225-1234.
- Opperman, C. H., and S. Chang. 1990. Plant parasitic nematode acetyl-cholinesterase inhibition by carbamate and organophosphate nematicidas. *Journal of Nematology* 22:481-488.
- Santa Cruz, V. H., y M. N. Marbán. 1986. Respuesta del cultivo de alegría *Amaranthus hypochondriacus* a niveles iniciales de infestación del nematodo *Nacobbus aberrans*. Pp. 193-203 en: S. A. Trinidad, F. Gómez y G. Suárez

- (eds.). El amaranto *Amaranthus* spp. (Alegria) su cultivo y aprovechamiento. Chapingo, México.
- Shapiro, S. S., and M. B. Wilk. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52:591-611.
- Smelt, J. H., and M. Leistra. 1992. Availability, movement and transportation of soil applied nematicidas. Pp. 266-280 in F. J. Gommers and P. W. T. Maas (eds.). *Nematology: From molecule to ecosystem*. Invergowrie, Dundee, UK. European Society of Nematologists.
- Taylor, A., and J. Sasser. 1978. Experimental and agronomic use of nematicides. North Carolina State University, USA.
- Vrain, T. C. 1977. A technique for the collection of larvae of *Meloidogyne* spp. and a comparison of eggs and larvae as inocula. *Journal of Nematology* 9:249-251.

Received:

16/I/2015

Accepted for publication:

6/III/2015

Recibido:

Aceptado para publicación: