

**CARACTERIZACIÓN DE LOS DAÑOS PRODUCIDOS POR *NACOBBUS*
ABERRANS EN VARIEDADES COMERCIALES DE TOMATE Y PIMIENTO**

Trabajo Final de Grado
del alumno

LEONARDO MARTIN PLOUGANOU

Este trabajo ha sido presentado como requisito
Para la obtención del título de
Ingeniero Agrónomo

Director: Dra. Ing. Ftal. Marcela Ruscitti Co-Directora: MSc. Ing. Agr. Cecilia Arango

Carrera
Ingeniería Agronómica

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

**CARACTERIZACIÓN DE LOS DAÑOS PRODUCIDOS POR *NACOBBUS*
ABERRANS EN VARIEDADES COMERCIALES DE TOMATE Y PIMIENTO**

Trabajo Final de Grado
del alumno

Leonardo Martín Plouganou

Aprobada por el Tribunal Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador



MSc. Ing. Agr. Cecilia Arango
(Nombre y Apellido)
Co-Director

(Nombre y Apellido)
Evaluador



Dra. Ing. Ftal. Marcela Ruscitti
(Nombre y Apellido)
Director

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires**

22 de febrero de 2018
Pergamino,.....

INTRODUCCION

Las plantas están sujetas a numerosos estreses ambientales que afectan el metabolismo, el crecimiento y el rendimiento. Esto puede inducir diversos efectos sobre las plantas dependiendo de la duración y la severidad, y del genotipo y el estado de desarrollo del cultivo (Ruscitti *et al.*, 2011).

Algunos factores ambientales, como la temperatura del aire, pueden producir un estrés en pocos minutos, el contenido de agua del suelo puede provocarlo en días o semanas y factores como las deficiencias minerales del suelo, lo inducen después de varios meses. El estrés es usualmente definido como un factor externo que ejerce una influencia desfavorable sobre la planta y puede clasificarse en abiótico y biótico. El abiótico se produce por distintos factores ambientales como temperatura, luz, contenido de humedad del suelo (por exceso o por defecto), salinidad, etc. El biótico se produce por acción de malezas, patógenos, insectos, etc. Estas situaciones se producen porque cualquiera de las condiciones ambientales, están en niveles subóptimos, es decir, alejadas de lo normal (Taiz & Zeiger, 2006).

La adaptación de las plantas a situaciones de estrés involucra cambios bioquímicos y fisiológicos que son el resultado de la interacción del ambiente con los genes sobre los que actúa, modificando su expresión. Un estrés biótico o abiótico gradual activa una cascada de eventos que conduce a una reducción en la división y el crecimiento celular, inhibición en la síntesis proteica y la represión y/o activación de la actividad enzimática. La respuesta presente en todos los niveles es la inducción de la expresión de genes específicos, cuyos productos son esenciales para la modulación de la respuesta (Marmioli *et al.*, 1996). Las plantas tienen la capacidad de activar su sistema de defensa ante diversas situaciones de estrés, la Resistencia Sistémica Adquirida puede ser inducida por agentes bióticos (patógenos atenuados) o abióticos (compuestos químicos).

El Cinturón Hortícola de La Plata está localizado en la periferia de la ciudad de La Plata, constituye el área productiva más importante del Cinturón Verde Bonaerense con el 46,15% de la superficie total y el 25,15% de la superficie hortícola total de la Provincia de Buenos Aires. El 100% de la producción hortícola en el Partido de la Plata tiene como destino el consumo en fresco, abasteciendo al área metropolitana comprendida por más de 13 millones de habitantes (INDEC, 2010).

La lechuga es el cultivo que ocupa la mayor superficie cultivada, seguido por el tomate, el pimiento o ají morrón, alcaucil, acelga y espinaca. La variedad de hortalizas cultivadas en este Partido es muy amplia, superando las 30 especies diferentes, incluyendo entre éstas: apio, berenjena, choclo, chaucha, remolacha, zapallito, zapallo, sandía, cebolla, brócoli, hinojo, alcaucil y otras verduras de hoja (Garat *et al.*, 2009).

El pimiento (*Capsicum annuum* L.) conocido en Argentina como “Morrón” (Foto N°1), pertenece a la familia Solanáceas. Es una planta herbácea, perenne, de cultivo generalmente anual y porte variable, entre los 0,5 metros (en determinadas variedades de cultivo al aire libre) y más de 2 m (en híbridos cultivados en invernadero). Tiene un sistema radicular pivotante y profundo que puede llegar hasta 1,2 m y provisto de un número elevado de raíces adventicias superficiales. El patrón de crecimiento es simpodial que se mantiene mientras las condiciones ambientales lo permitan. El fruto es una baya hueca y semicartilaginosa, de color forma y tamaño diversos (Del Pino, 2016).

Foto N° 1: Plantas de *Capsicum annuum* L. en invernadero.

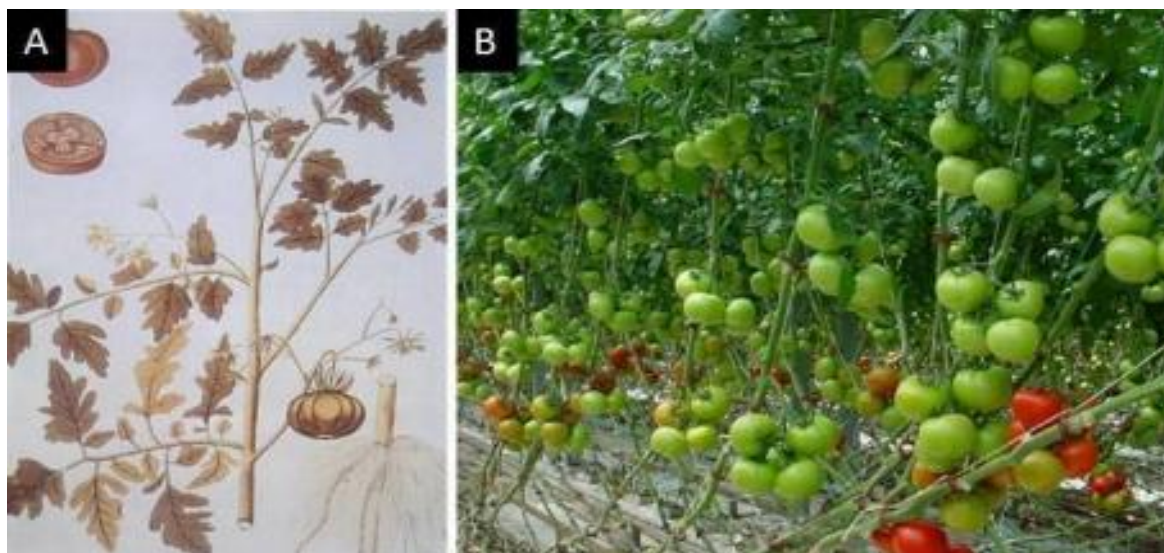


(Fuente:<http://www.ahernseeds.com>)

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) ocupa un lugar importante en el sistema productivo del Cinturón Hortícola Bonaerense (CHB), y su producción se destina al consumo en fresco. Se le invierte mucha tecnología, ya que se produce mayoritariamente en invernáculo y el costo de implantación es alto. Es una hortaliza de más de 2 metros de altura que requiere tutor o amarre y que se cultiva como anual (Foto N°2). La planta es potencialmente perenne y muy sensible a las heladas, lo que determina su ciclo anual, de distinta duración según la variedad (Rodríguez *et al.*, 2001). Puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta, y el crecimiento es limitado en las variedades determinadas e ilimitado en las variedades indeterminadas, pudiendo llegar estas últimas, varios metros en un año (Rick, 1978).

La planta posee un sistema radicular con una raíz principal (corta y débil), raíces secundarias (numerosas y potentes) y raíces adventicias. Su tallo principal posee un grosor que oscila entre 2-4 cm en su base, sobre el que se van desarrollando hojas, tallos secundarios e inflorescencias (Nuez, 1986). En la parte distal se encuentra el meristema apical, donde se inician los nuevos primordios foliares y florales (Freeman *et al.*, 2015). Consta de hojas compuestas e imparipinnadas, con folíolos peciolados, lobulados y con borde dentado. El fruto es una baya carnosa de diferente forma y color según las variedades. Semillas, aplanadas, reniformes de color amarillo, con poder germinativo que mantienen por varios años.

Foto N° 2: Planta de tomate; a) representación de la planta de tomate, b) plantas de tomate en invernadero (Nuez *et al.*, 1995)



La producción en el Cinturón Hortícola de La Plata (CHLP) se realiza principalmente en invernaderos,. Este modo de producción es dependiente de la aplicación de gran cantidad de insumos externos para evitar o disminuir la aparición de situaciones de estrés tanto bióticos como abióticos que puedan disminuir la rentabilidad de los cultivos; tales como: agua para riego, incorporación de nutrientes ya sea mediante fertilizantes inorgánicos o por la aplicación de abonos orgánicos (principalmente cama de pollo) y pesticidas (Pineda & Mierez, 2015).

La exigencia de los mercados de alimentos libres de agroquímicos y la puesta en valor de los procesos microbiológicos del suelo, promueven la necesidad de realizar estudios que posibiliten un manejo integrado y contribuyan a la sustentabilidad de los agroecosistemas. Actualmente diversas investigaciones están enfocadas a encontrar alternativas para la sustitución del bromuro de metilo como fumigante y desinfectante de suelo, tradicionalmente usado en el CHLP, de acuerdo a lo establecido en el protocolo de Montreal en 1987, ratificado por Argentina en 1990, donde se acordó que este producto debía ser retirado del mercado en el año 2015 por tratarse de un gas que destruye la capa de ozono (Adlercreutz *et al.*, 2007). Esto se debe a que no se retiene en su totalidad en el suelo, sino que el 50 al 95% pasa en forma de emisiones gaseosas a la estratósfera, donde se liberan átomos de bromo que reaccionan con el ozono y otras moléculas estables que contienen cloro, dando lugar a una reacción en cadena que contribuye a la disminución de la capa de ozono. Produce cambios en la constitución física, química y biológica de los suelos, afectando en forma negativa la microflora benéfica, la cual permite mantener el equilibrio con los organismos patógenos (Oficina Programa Ozono, 2013).

La suspensión del uso de este fumigante trajo aparejada la reaparición de plagas como los nematodos fitoparásitos (Foto N°3), que generan un importante estrés biótico en los cultivos de la zona. Entre ellos, *Nacobbus aberrans* es responsable de producir importantes pérdidas en la producción hortícola, y cuya presencia se ha demostrado en el Cinturón Hortícola de La Plata (Silvestri *et al.*, 1985; Vovlas *et al.*, 2007; Lax *et al.*, 2011; Radwan *et al.*, 2012; Gortari & Hours., 2016).

Foto N° 3: A) Nemátodo (*N. aberrans*), B) agallas en cultivo de tomate



Poco tiempo después de haber sido detectado *N. aberrans* en Argentina, fue sugerida la importancia de dar lugar a rotaciones con gramíneas en zonas productoras de papa semilla, en Tafí del Valle (Costilla *et al.*, 1980). Por lo general, esas plantas no representan buenos hospedadores para el nematodo debido a que impiden su invasión en las raíces y la consecuente multiplicación. Entre ellas han sido mencionadas: avena, trigo, maíz y cebada (Costilla, 1985). De ese modo, se logra disminuir la densidad de población del patógeno a niveles que no generen daños significativos en la producción.

Este nematodo se destaca por su polifagia, un elevado potencial reproductivo y capacidad de adaptación, por lo cual se encuentra ampliamente distribuido en el país (Doucet & Lax, 2005). En las raíces de las plantas afectadas por este nematodo se observa la presencia de agallas que se extienden a lo largo de la raíz, además de lesiones, poco desarrollo radicular y excesiva ramificación (Manzanilla-López *et al.*, 2002). A nivel celular, se han registrado alteraciones de la apariencia y fisiología de las células que corresponden a respuestas de hiperplasia e hipertrofia (Manzanilla-López *et al.*, 2002). Estas alteraciones provocadas por las agallas derivan en la ruptura del xilema y el floema. Como consecuencia de esa ruptura se reduce el flujo de sustancias a través de los tejidos de conducción y las plantas sufren marchitez, deficiencia en la absorción de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio, baja conductancia estomática y en consecuencia baja asimilación de CO₂, disminución del crecimiento, pérdidas del rendimiento e incluso la muerte de la planta (Inserra *et al.*, 1985).

Parte del ciclo de vida del nematodo (*Nacobbus aberrans*) se desarrolla en el suelo y parte en los tejidos del hospedador (Figura 1). La duración del ciclo varía según la temperatura y la disponibilidad de alimento; en condiciones óptimas (22-24°C) puede oscilar entre 37 - 48 días (Costilla, 1985).

Es una especie anfimítica, con un marcado dimorfismo sexual respecto a la forma del cuerpo. Los machos son filiformes (0.7-1.2 mm de largo), mientras que las hembras maduras son voluminosas y fusiformes (0.7-1.9 mm de longitud).

El ciclo comprende cuatro estadios larvales y los adultos. El primer estadio (L1) se desarrolla en el interior del huevo. Luego de una muda, se forma una larva de segundo estadio (L2) que va a emerger al exterior. Esta larva se desplazará en el suelo en busca de un hospedador adecuado.

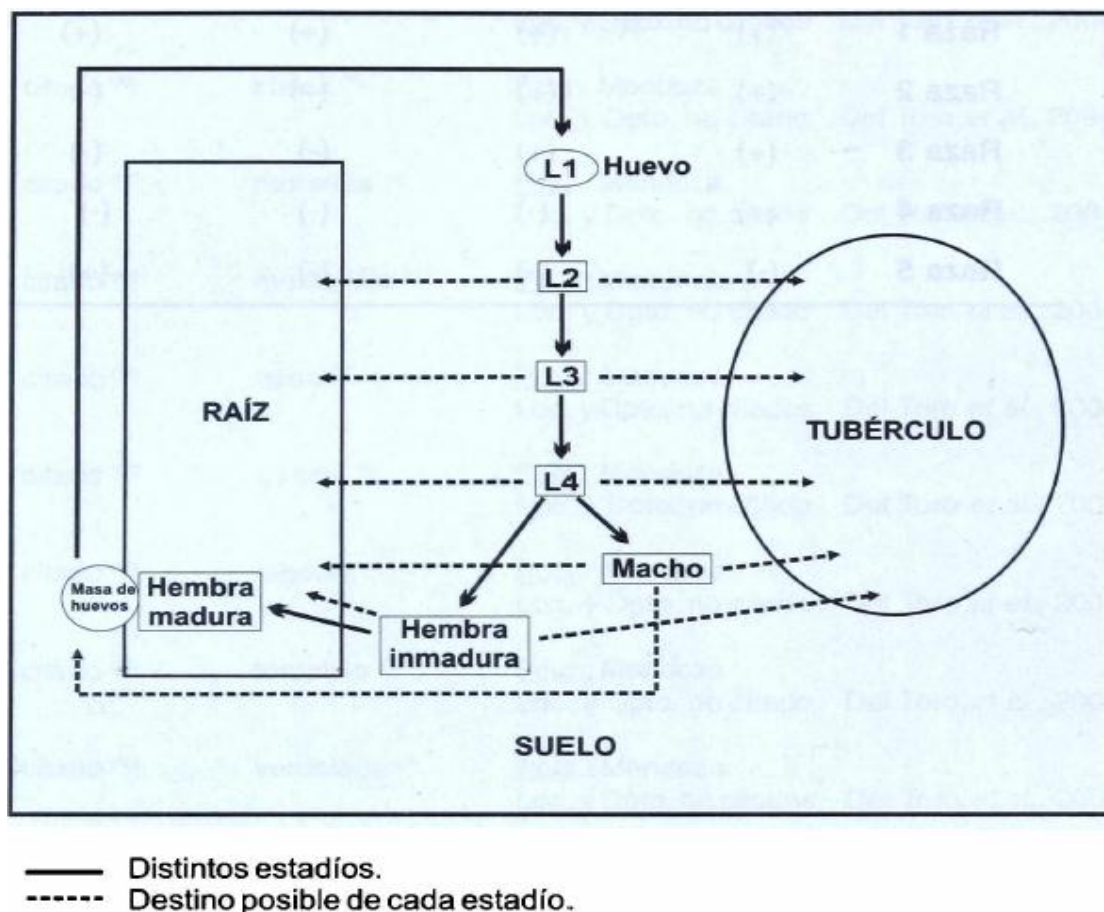
Las larvas se alimentan del citoplasma de células del parénquima cortical perforando las paredes con ayuda de su estilete. A medida que el nematodo se va alimentando, muda pasando por el tercer (L3) y cuarto estadio larval (L4). Posteriormente, darán lugar a un individuo filiforme: hembra inmadura (también llamada hembra joven) o a un macho.

La hembra inmadura penetra en el interior de la raíz y se fija a proximidad del cilindro central en donde induce el desarrollo de su sitio de alimentación (síncito). Esto da lugar a una serie de alteraciones histológicas y fisiológicas particulares en esa zona del sistema radical del hospedador. Con el transcurso del tiempo, el nematodo pierde su aspecto filiforme y se torna voluminoso con apariencia de huso o cigarro (hembra madura). Puede llegar adoptar formas muy variables según sea la rigidez de los tejidos del vegetal entre los que se desarrolla. Una vez fecundada, la hembra genera una masa gelatinosa en la que se depositan entre 40-800 huevos y que, generalmente, queda sobre la superficie de la agalla, en contacto con el suelo. Es frecuente encontrar numerosos machos en el interior de esa matriz mucilaginosa.

Los huevos eclosionarán continuando con el ciclo de vida de la especie o se mantendrán en la matriz mucilaginosa hasta que aparezcan condiciones ambientales favorables.

Se considera que *N. aberrans* tendría dos estrategias principales de desarrollo: i) la L2 se introduce en la raíz de la planta y continúa su ciclo dentro de los tejidos hasta alcanzar la etapa adulta; ii) el desarrollo de la L2 puede ocurrir tanto dentro como fuera del vegetal, con repetidas penetraciones y emigraciones al suelo, hasta convertirse en macho o hembra inmadura (Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Figura 1: Esquema del ciclo de vida de *Nacobbus aberrans* (Costilla *et al.*, 1985).



Las masas de huevos tienen la capacidad de soportar condiciones adversas, tales como las bajas temperaturas (hasta -13°C) y la desecación por períodos prolongados de tiempo (González & Franco, 1997).

Ha sido señalado que las L3 y L4 pueden permanecer viables bajo situaciones de extrema humedad, temperatura y ausencia de hospedadores susceptibles durante aproximadamente un año (Cristóbal *et al.*, 2001).

El nematodo es dispersado a través de agentes que implican movimientos del suelo y vegetales contaminados. Entre estos agentes se destacan la maquinaria agrícola, el agua y el viento. En conjunto, aseguran a la especie la posibilidad de colonizar nuevas áreas y parasitar otros hospedadores (Cristóbal *et al.*, 2001).

En Argentina, la relación entre el nematodo y distintas especies vegetales atacadas fue estudiada en base al análisis de las alteraciones histológicas inducidas en los siguientes hospedadores: *Chenopodium álbum* (Doucet & Ponce de León, 1985; Doucet *et al.*, 1997), *Sisymbrium irio* (Ponce de León & Doucet, 1989), *Capsicum*

annuum (Doucet *et al.*, 1992; Lorenzo *et al.*, 2001), *Lycopersicum esculentum* (Doucet *et al.*, 1997; Lorenzo *et al.*, 2001), *Solanum melongena* var. *ovigerum* (Doucet *et al.*, 1997) y en las variedades de papa andina "colorada" y "ojosa" (Doucet *et al.*, 2005).

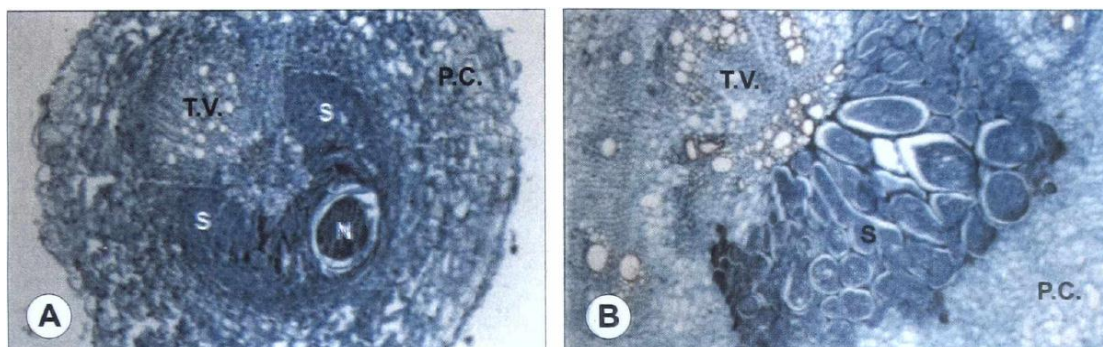
Como consecuencia del ataque del nematodo es posible observar en las raíces agallas de tamaño variable, sobre las que se pueden distinguir masas de huevos. La disección de esas nodulaciones permite detectar en su interior la presencia de una o varias hembras maduras.

Desde el inicio de la infestación, el grupo de células del parénquima cortical ubicado en proximidad de la región anterior del nematodo (ya inmóvil) sufre alteraciones fisiológicas que lo llevan a transformarse en una estructura denominada síncito (Figura 2). Las paredes de esas células se destruyen parcialmente posibilitando que los citoplasmas correspondientes se unan en uno solo; el síncito resultante representa la fuente de alimento para el nematodo que se transformará en hembra madura. La mayoría de las paredes celulares se engrosan, el citoplasma se torna denso, de aspecto granuloso y muy poco vacuolizado y los núcleos son hipertróficos y de contorno ameboidal, con nucléolo muy evidente (Doucet & Ponce de León, 1985; Doucet *et al.*, 1997)

Los síncitos pueden desarrollarse tanto en el cilindro central como en la corteza. En ciertos casos la anatomía de la raíz resulta muy alterada, no pudiendo delimitarse corteza y cilindro vascular. Los tejidos de éste último suelen quedar separados, desplazados y reducidos por el crecimiento del sitio de alimentación. Los elementos conductores del xilema pueden mostrar disposición irregular y características anómalas. Las paredes celulares, especialmente las que limitan con los elementos del xilema, suelen aparecer notablemente engrosadas. Simultáneamente, en función de una reacción de hiperplasia, se multiplican capas celulares que dan lugar a la agalla en la que se encuentra el nematodo. La persistencia del síncito está directamente ligada al ciclo de vida de la hembra. Cuando ésta muere, el síncito deja de ser funcional y queda constituido por un gran número de células muertas; sólo algunas de las células periféricas pueden tener restos de citoplasma y núcleos (Doucet *et al.*, 1997).

Nacobbus aberrans tiene un elevado potencial reproductivo y una notable capacidad de adaptación, características por lo que se encuentra ampliamente distribuido, abarcando diferentes regiones geográficas de nuestro país (Doucet & Lax, 2005).

Figura 2: Alteraciones histológicas inducidas por *Nacobbus aberrans* en raíces de papa andina variedad Ojosa. A: Corte transversal mostrando el síncito; B: Detalle del síncito:



Abreviaturas, N; Hembra madura del nemátodo; P.C: Parénquima cortical; S:Síncito; T.V:Tejido vascular

Foto: Academia nacional de agronomía y veterinaria

Las condiciones derivadas de la patogénesis ocasionan una marchitez generalizada en la planta, que se asocia a un estrés por déficit hídrico, con un incremento sistémico de sustancias asociadas que, como tales, resultan útiles como “marcadores” del estrés osmótico (Prado, 1997).

Entre la sintomatología general se puede distinguir menor área foliar y tamaño, un crecimiento lento e incompleto consecuente a una menor tasa fotosintética, una menor producción de materia seca y en situaciones extremas la muerte de la planta (Prado, 1997).

La acumulación de solutos como glicerol, azúcares, betaínas y prolina en la planta puede ser considerado como un indicador de estrés ya que se produce como una adaptación general al estrés hídrico (Hare *et al.*, 1998), con la finalidad de reducir las pérdidas de agua por ajuste osmótico (Prado, 1997).

La peroxidación de los lípidos de las membranas celulares en las plantas, es una respuesta característica en situaciones de estrés biótico y abiótico, que acelera la senescencia y puede conducir a la muerte celular (Göbel *et al.*, 2003). El malondialdehído (MDA) es un subproducto de la peroxidación de lípidos en las membranas y su concentración varía dependiendo del tipo de estrés al que se sometan las células (Arbona *et al.*, 2003).

Hipótesis

La presencia del nematodo fitoparásito *Nacobbus aberrans* en el suelo afecta el crecimiento y el rendimiento de las plantas de *Capsicum annuum* var. Paco y *Solanum lycopersicum* var. Rodeo cultivadas según las prácticas de manejo tradicionalmente instaladas en el Cinturón Hortícola de La Plata.

Objetivo general

Evaluar el comportamiento del pimiento var. Paco y el tomate var. Rodeo ante la presencia del nematodo fitoparásito *Nacobbus aberrans*, cultivados en condiciones controladas; mediante determinaciones morfológicas, fisiológicas y bioquímicas.

Objetivos particulares

1. Determinar el efecto de la inoculación con *N. aberrans* sobre el crecimiento de las plantas de pimiento y tomate, desde el trasplante hasta la cosecha.
2. Evaluar el estrés producido en las plantas de pimiento y tomate, por la presencia del nematodo en el suelo, mediante parámetros morfológicos, fisiológicos y bioquímicos.
3. Analizar la incidencia de *N. aberrans* en el rendimiento de plantas de pimiento y tomate bajo condiciones controladas.

ACTIVIDADES Y METODOLOGIA:

Implantación de los cultivos.

El trabajo experimental se realizó en condiciones de invernáculo en el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP), entre los meses de agosto y enero, con fotoperíodo natural.

Las semillas de pimiento var. Paco y de tomate var. Rodeo fueron desinfectadas superficialmente con NaClO (10%) durante 5 minutos, enjuagadas con agua estéril y sembradas en speedlings de 72 celdas utilizando como sustrato una mezcla tinalizada de perlita - vermiculita (1:1). La siembra se realizó el día 4 de agosto de 2017, periódicamente las plantas fueron regadas con solución nutritiva de Hoagland (Hoagland & Arnold, 1950).

A los 30 días después de la siembra, las plántulas de tomate se trasplantaron a macetas (una planta por maceta) de 15 L de capacidad y las plántulas de pimiento a macetas de 10L, las cuales contenían una mezcla de tierra y arena (1:1). El día posterior al trasplante se realizaron 3 orificios alrededor de las plantas y se colocó una solución acuosa conteniendo 5000 huevos y juveniles de *Nacobbus aberrans*. La obtención del inóculo del nematodo se realizó mediante la técnica descrita por Coolen (1979) a partir de raíces infectadas solo con *N. aberrans*. Las raíces infectadas se licuaron a máxima velocidad, durante 30 segundos, en una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%. La mezcla obtenida fue tamizada sobre una malla de 35 micrones. Lo recolectado del tamíz fue centrifugado con caolín a 1000g durante 5 minutos. El sobrenadante fue descartado y el pellet fue resuspendido con una solución de sacarosa (484gr. L⁻¹) centrifugando durante 2 minutos a 1000 g. El sobrenadante se depositó sobre un tamiz de 35 micrones y fue lavado con agua corriente para retirar la sacarosa. Finalmente se determinó el número de huevos por observación microscópica.

Las plantas se condujeron a un tallo, en forma vertical tutoradas con hilo, eliminando todos los brotes axilares del tallo principal.

Diseño Experimental.

Tanto el ensayo de pimiento, como el de tomate tuvieron un diseño totalmente aleatorizado, con 2 tratamientos: plantas inoculadas con *Nacobbus aberrans* y plantas no inoculadas. Cada tratamiento estaba formado por 10 repeticiones, siendo una

planta igual a una repetición. Los resultados fueron examinados mediante análisis de varianza (ANOVA), utilizando el programa INFOSTAT y las medias se compararon usando LSD ($P < 0,05$).

Parámetros evaluados.

A los 80 y 120 días posteriores al trasplante se realizaron determinaciones fisiológicas y bioquímicas a partir de muestras de tejido foliar.

A lo largo del ciclo de los cultivos, se realizó la cosecha planta por planta para la determinación del rendimiento.

A los 150 días se dio por finalizado el ensayo, realizándose en éste caso determinaciones tanto en tejido foliar como en tejido radicular. Las plantas fueron descalzadas y las raíces fueron lavadas para su muestreo.

Los parámetros evaluados fueron:

- Diámetro de tallo.

Se utilizó un calibre digital en la parte media de las plantas.

- Altura de planta.

Se determinó mediante una cinta métrica.

- Índice de verdor.

Se determinó con un medidor portátil SPAD Minolta®. Para evaluar de manera indirecta cambios en la actividad fisiológica de las plantas sometidas a estrés, se determinó el índice de verdor. La coloración de las hojas se relaciona directamente con la cantidad de nitrógeno en el tejido.

- Conductancia estomática.

Se determinó en la primer hoja completamente expandida, con un porómetro Decagon SC-1, expresando el intercambio gaseoso en $\text{mmol/m}^2.\text{s}$

- Contenido de clorofila y carotenos.

El mismo se determinó a partir de un disco de hoja de 1 cm de diámetro. Se utilizó N, N-Dimetilformamida como solvente de extracción, determinando la absorbancia de la

solución a las longitudes de onda 647, 664 y 480 nm, en un espectrofotómetro Shimadzu UV 160 A. El cálculo del contenido de pigmentos se realizó de acuerdo a Wellburn (1994) con las siguientes ecuaciones:

$$\text{Clorofila a } (\mu\text{g cm}^{-2}) = 12 \times \text{Ab } 663.8 - 3.11 \times \text{Ab } 646.8$$

$$\text{Clorofila b } (\mu\text{g cm}^{-2}) = 20.78 \times \text{Ab } 646, - 4.88 \times \text{Ab } 663.8$$

$$\text{Clorofila total a+b } (\mu\text{g cm}^{-2}) = 17.67 \times \text{Ab } 646.8 + 7.12 \times \text{Ab } 663.8$$

- Contenido de proteínas solubles:

A partir de 200 mg de hoja o de raíz mediante el método de Bradford (1976).

El contenido de proteínas solubles se determinó a partir de 200 mg de tejido fresco. Los tejidos se homogeneizaron en un mortero con 1 ml del buffer de extracción (TRIS 0,605 gr, EDTA 0,029 gr, PVPP 1 gr, MeSH 100 microlitros a pH 7,5) a 4°C. El homogeneizado resultante se centrifugó a 10.000 g durante 10 minutos a 4°C. Se tomaron 100 µl del sobrenadante y se le agregó 5 ml del reactivo Azul Brillante de Coomassie, se agitó en vortex y se leyó la absorbancia a 595 nm. El cálculo de la concentración de proteínas se efectuó empleando una curva patrón preparada con distintas concentraciones de albúmina de suero bovino (BSA, SiFMA Chemical Co).

- Conductividad relativa de las membranas celulares de hojas y raíces.

A partir de 4 discos de hoja y peso equivalente de raíz, según el método de Lutts et al. (1996), se determinó la estabilidad de las membranas celulares o el daño producido a las mismas ante la situación de estrés.

- Contenido de prolina (Osmoregulador, indicador de estrés)

A partir de 100 mg de hoja o de raíz, según el método de Bates *et al.* (1973)

Se homogeneizaron 100 mg de material fresco de hoja y de raíz con 2 ml de una solución al 3 % de ácido sulfosalicílico. El homogeneizado se centrifugó a 12000 g durante 15 minutos.

Se tomó 1 ml del sobrenadante y se lo hizo reaccionar con 1 ml del reactivo Ninhydrina y 1 ml de ácido acético glacial dejándose incubar en baño maría a 100°C durante una hora. Luego se interrumpió enfriando el tubo rápidamente.

A la mezcla se le agregó 2 ml de tolueno y se agitó 20 segundos en vórtex. Se dejaron separar las fases y se tomó 1 ml de la fase superior, para leer la absorbancia a 520 nm usando tolueno como blanco.

Se calculó el contenido de prolina por unidad de peso fresco según:

$$\mu\text{mols prolina.g}^{-1} \text{ PF} = [(\mu\text{g prolina/ml} \times \text{ml tolueno})/115.5 \mu\text{g}/\mu\text{moles}]/[(\text{g PF})/5]$$

- Contenido de malonildialdehído (MDA)

Se evaluó según el método de Heath & Packer (1968), como un indicador de la peroxidación de los lípidos de las membranas celulares.

Se tomaron 200 mg de tejido fresco de hoja y raíz, y se maceraron con 1,5 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 0,1%, luego se centrifugaron a 10000g por 10 minutos. A 0,5 mL de sobrenadante se le agregó 1mL de TCA-BHT-TBA (TCA 20%, ácido tiobarbitúrico (TBA) 5% y butilhidroxitolueno (BHT) 0,1%). Luego los tubos se calentaron durante 30 minutos a baño maría a 95°C, se enfriaron rápidamente para detener la reacción y luego se centrifugaron a 3000 g durante 10 minutos. Finalmente, se separó el sobrenadante y se leyó la absorbancia a 532 y 600 nm en espectrofotómetro.

La concentración de MDA se calculó usando un coeficiente de extinción de $155\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$:

$$\text{Equivalentes de MDA (n.mol.ml}^{-1}) = [(A_{532} - A_{600}) / 155000] \times 10^6$$

- Determinación del rendimiento

Rendimiento total: se registró el número y peso de los frutos cosechados por planta durante todo el periodo de ensayo, computando el rendimiento total.

- Determinaciones para evaluar nematodos:

Número de huevos. Se realizó la extracción de los huevos presentes en cada sistema radicular mediante la técnica de Coolen (1979), descripta anteriormente.

RESULTADOS

Pimiento

Las mediciones de altura y calibre de tallo no mostraron diferencias significativas en ninguno de los momentos de medición, sin embargo las plantas controles presentaron un mayor crecimiento, tanto aéreo como radicular (Foto 4), reflejado esto en las diferencias significativas de la masa seca aérea y radicular. (Tabla 1),

Foto 4: Sistema radical de plantas de pimiento no inoculada (derecha) e inoculada con *N. aberrans* (izquierda).



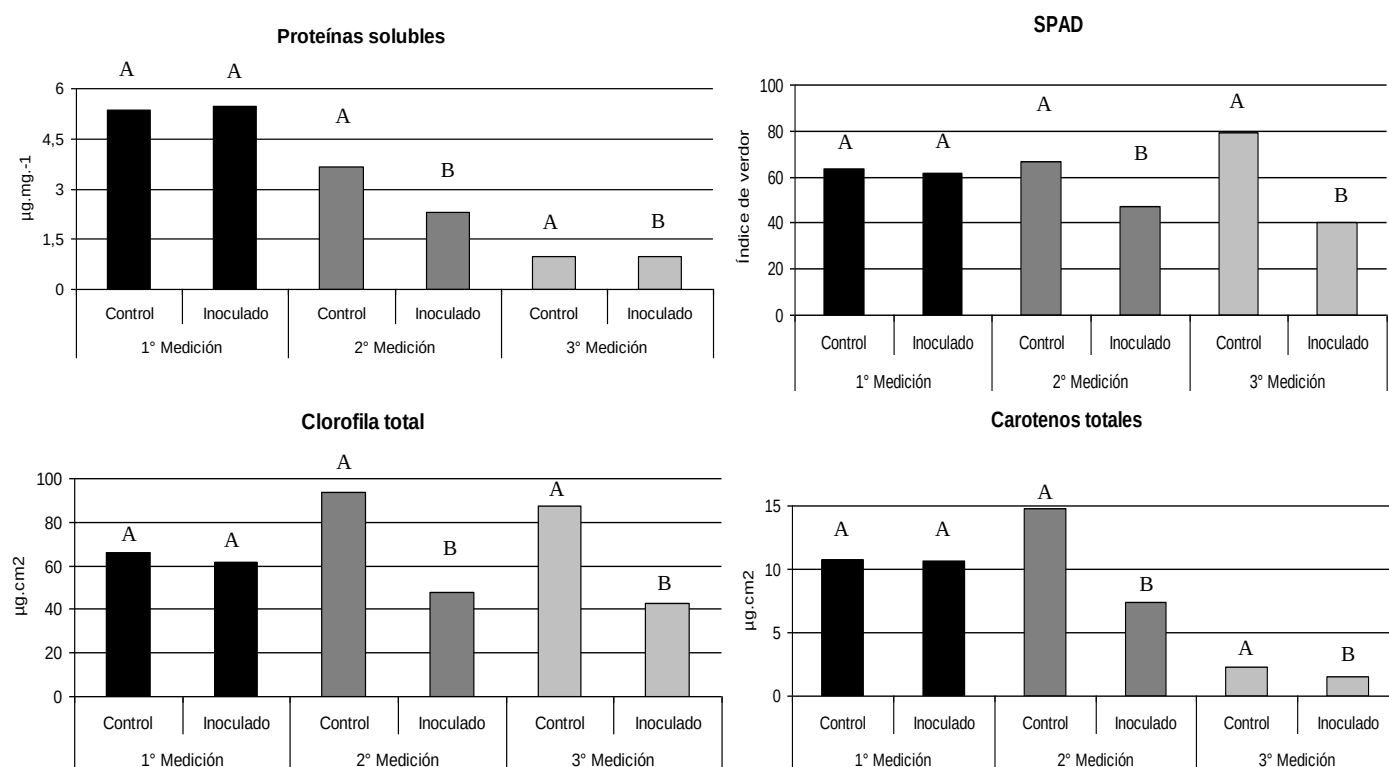
Tabla 1. Altura, diámetro, peso seco aéreo y radicular de plantas de pimiento inoculadas y no inoculadas con *N. aberrans*.

	Altura final (cm)	Diámetro final (cm)	Masa seca aérea (g)	Masa seca radicular (g)
Control	41 A	1,01 A	27 A	22,80 A
Inoculado	46,43 A	1,10 A	21,83 B	17,40 B

Medias seguidas por la misma letra, no difieren significativamente según LDS Fisher (95%).

El índice de verdor, el contenido de proteínas solubles, clorofila y carotenos de los tejidos foliares, no presentaron diferencias en la primera determinación, realizada a los 80 días. Con el avance del ensayo, las plantas del tratamiento testigo presentaron contenidos significativamente mayores en estos parámetros analizados. (Figura 3). En el tejido radicular, no se observaron diferencias significativas en el contenido de proteínas solubles.

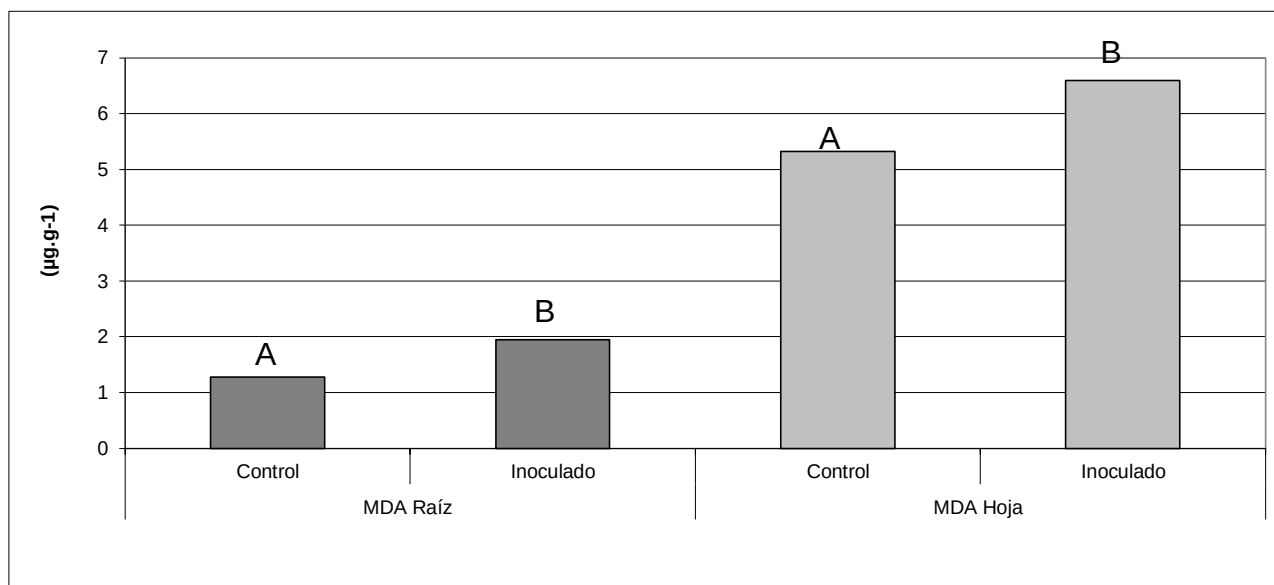
Figura 3. Contenido de proteínas solubles en hoja, Índice de verdor (SPAD) y concentración de clorofila y carotenos en hoja de plantas de pimiento inoculadas y no inoculadas con *N. aberrans*.



Medias seguidas por la misma letra, no difieren significativamente según LDS Fisher (95%).

Al analizar los parámetros fisiológicos vinculados al estrés, no fueron visualizadas diferencias significativas en los primeros estadíos del cultivo (datos no mostrados), donde todavía no se había manifestado la situación de estrés. A los 150 posteriores al trasplante el estrés causado por los nemátodos provocó diferencias significativas en las determinaciones realizadas. El contenido de malonildialdehído fue mayor en los tejidos foliares que en los radicales, siendo que en el caso de la prolina se presentó mayor contenido de este osmolito en los tejidos radicales. El MDA en las hojas alcanzó valores entre 5,61 y 6,54 ($\mu\text{g.g}^{-1}$) en las plantas testigo, y entre 6,41 y 9,16 ($\mu\text{g.g}^{-1}$) en las plantas inoculadas, siendo sus valores promedio de 5,32 y 6,59 $\mu\text{g.g}^{-1}$ respectivamente. El contenido de MDA en tejidos radicales tuvo un valor medio de 1,28 $\mu\text{g.g}^{-1}$ en el tratamiento testigo y 1,94 $\mu\text{g.g}^{-1}$ en el tratamiento inoculado. (Figura 4)

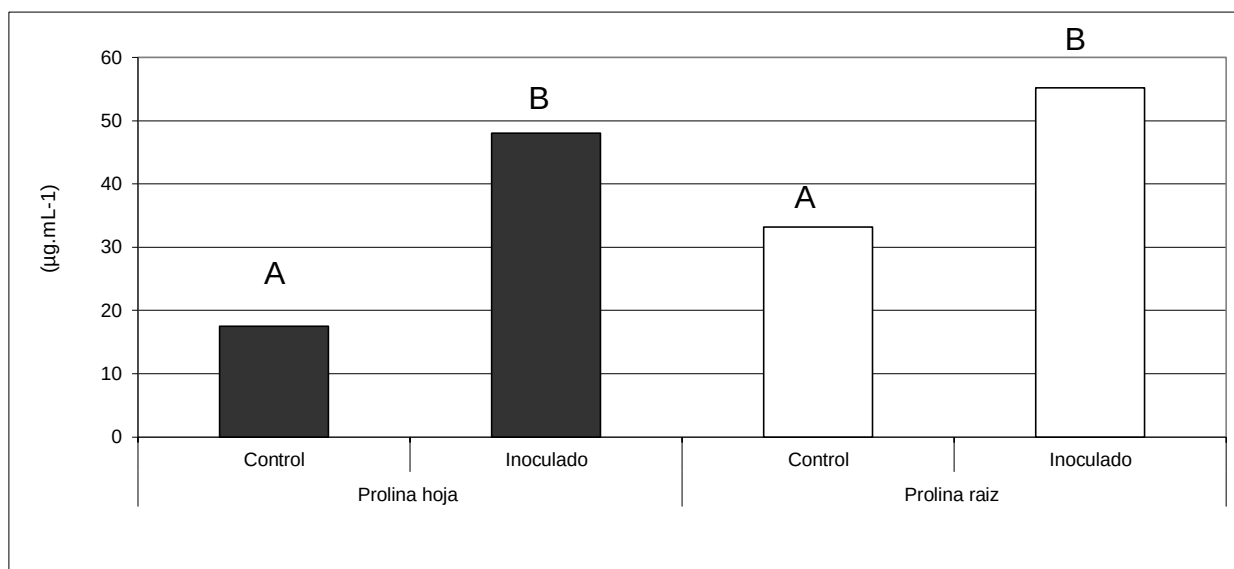
Figura 4: contenido de MDA de hoja y raíz, en plantas de pimiento inoculadas y no inoculadas con *N. aberrans* .



Medias seguidas por la misma letra, no difieren significativamente según LDS Fisher (95%).

La concentración de prolina en hojas y raíces se mantuvo estable en el tratamiento testigo a lo largo del ciclo del cultivo, siendo que en el tratamiento inoculado los valores se triplicaron a los 150 días después del trasplante con respecto a la primera medición. (Figura 5).

Figura 5: Acumulación de prolina en hoja y raíz, en plantas de pimiento inoculadas y no inoculadas con *N. aberrans*.



Medias seguidas por la misma letra, no difieren significativamente según LDS Fisher (95%).

A partir de los 100 días del trasplante, las mediciones de conductancia estomática de las hojas realizadas con el porómetro en horas del día, comenzaron a manifestar diferencias entre los tratamientos. Al finalizar el ensayo, la diferencia medida entre tratamientos fue de 45,4 mMol. M². s⁻¹. (Tabla N°2).

La conductividad relativa, al igual que la conductancia estomática presentó diferencias después de los 100 días del trasplante. Obteniendo una menor conductividad relativa en plantas controles (29,51%), en relación a las plantas inoculadas (41,82%)

Tabla N°2: Porcentaje de conductividad relativa y conductancia estomática en hoja de plantas de pimiento inoculadas y no inoculadas con *N.aberrans*.

	Conductancia estomática en hoja (Mmol.m2.s)	Conductividad relativa en hoja (%)
Control	59,83 A	29,51 A
Inoculado	14,43 B	41,82 B

Medias seguidas por la misma letra, no difieren significativamente según LDS Fisher (95%).

Tomate

Las mediciones de altura no mostraron diferencias significativas en ninguno de los momentos de medición, sin embargo las plantas controles presentaron un mayor calibre de tallo, y una mayor masa seca, tanto aérea como radicular (Foto N°5) comparado con las plantas inoculadas con *N. Aberrans*. (Tabla 3).

Foto N°5: Sistema radical de plantas de tomate no inoculada (izquierda) e inoculada con *N.aberrans* (derecha).



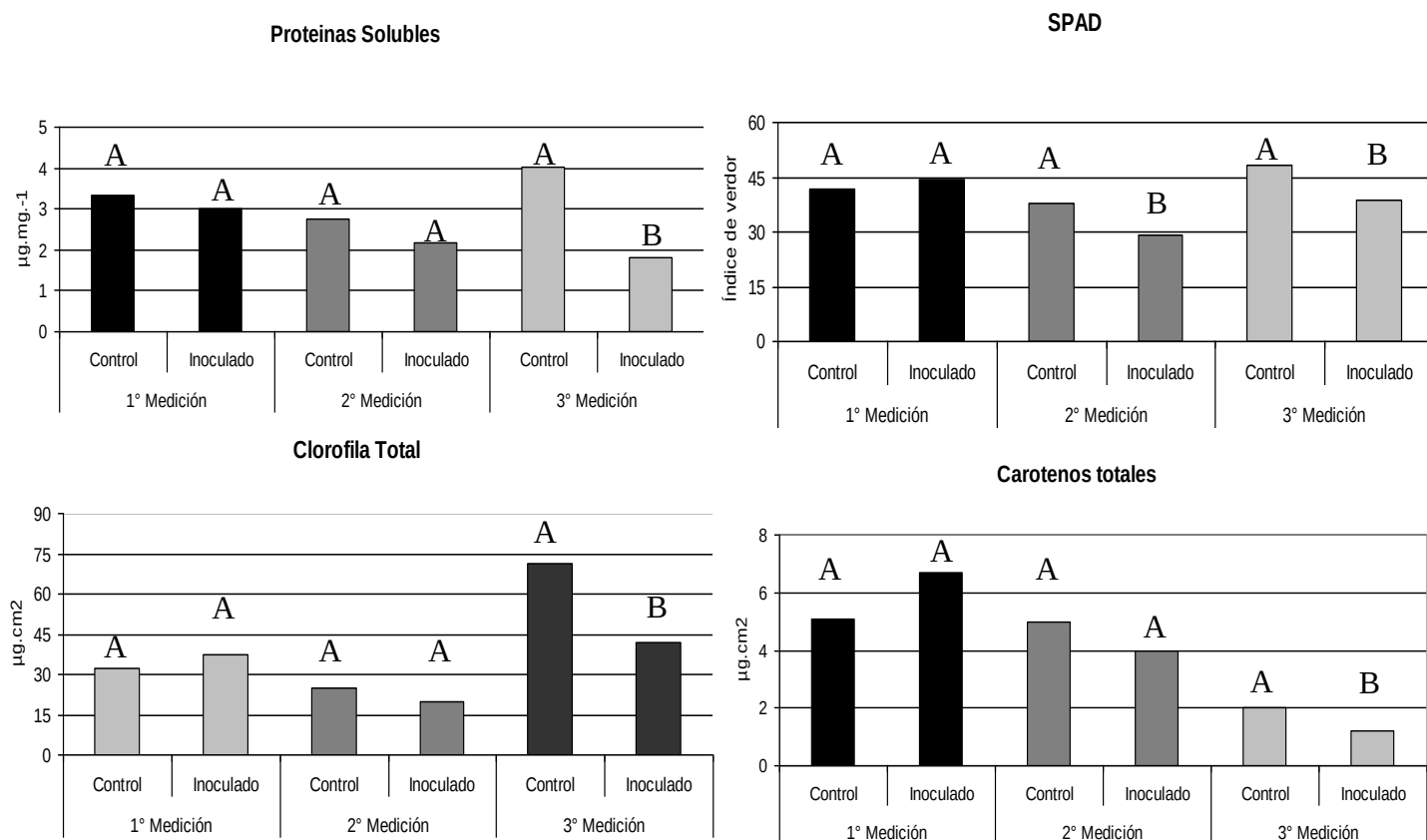
Tabla N°3. Altura, diámetro, y peso seco de plantas de Tomate inoculadas y no inoculadas con *N. aberrans*

	Altura final (cm)	Diámetro final (cm)	Masa seco aérea (g)	Masa seca radicular (g)
Control	152 A	1,01 A	44 A	23 A
Inoculado	131 A	0,73 B	28,5 B	12 B

Medias seguidas por la misma letra, no difieren significativamente según LDS Fisher (95%).

El índice de verdor, el contenido de proteínas solubles, clorofila y carotenos de los tejidos foliares, al igual que en pimiento, no presentaron diferencias en la primera determinación, realizada a los 80 días. Con el avance del ensayo, las plantas del tratamiento testigo presentaron contenidos significativamente mayores. (Figura N°6). Al finalizar el ensayo, se determinó el contenido de proteínas solubles en el sistema radicular presentándose diferencias significativas entre los tratamientos. Los valores fueron 1,32 $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ en las plantas control y 0,69 $\mu\text{g}.\text{mg}^{-1}$ para las inoculadas.

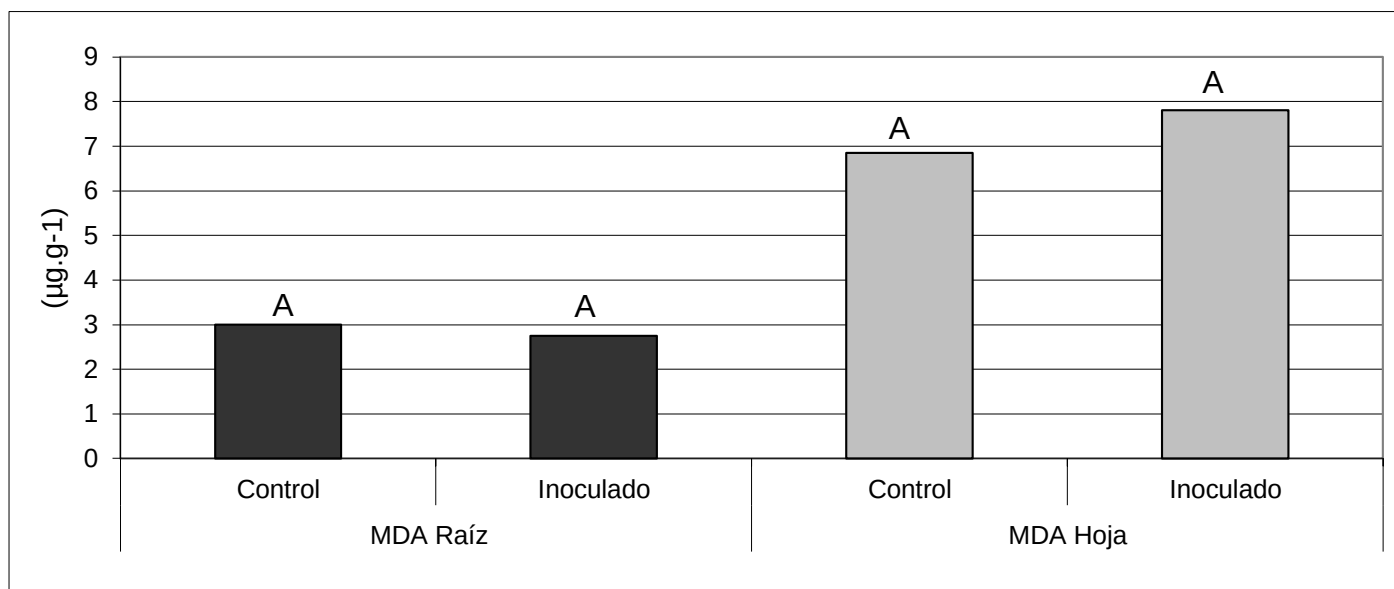
Figura N°6. Contenido de proteínas solubles en hoja, Índice de verdor (SPAD), concentración de clorofila y carotenos en hoja de plantas de tomate inoculadas y no inoculadas con *N. aberrans*.



Medias seguidas por la misma letra, no difieren significativamente según LDS Fisher (95%).

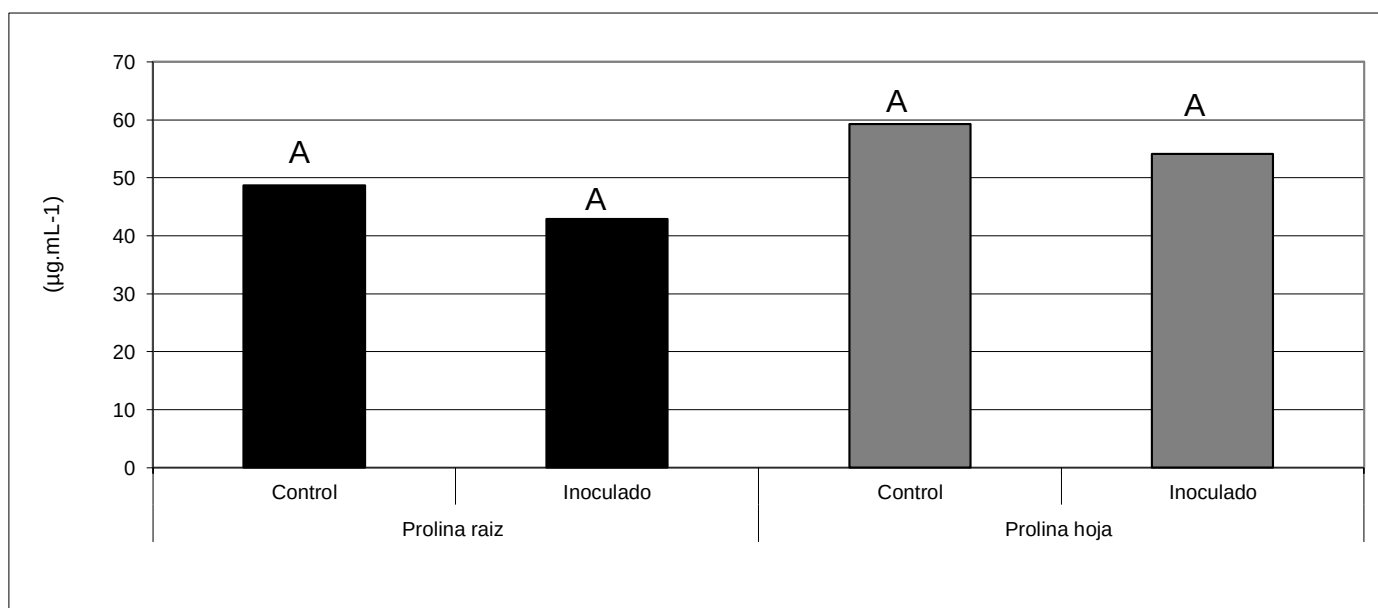
Al igual que en pimiento, se evaluaron parámetros fisiológicos a los 80, 120 y 150 días posteriores al trasplante, donde no se manifestaron diferencias significativas, tanto en MDA (hoja y raíz) (Figura N°7) como en Prolina (hoja y raíz) (Figura N°8),

Figura N° 7: Contenido de MDA de hoja y raíz, en plantas de tomate inoculadas y no inoculadas con *N. aberrans*.



Medias seguidas por la misma letra, no difieren significativamente según LDS Fisher (95%).

Figura N°8: Acumulación de prolina en hoja y raíz, en plantas de tomates inoculadas y no inoculadas con *N. aberrans*.



Medias seguidas por la misma letra, no difieren significativamente según LDS Fisher (95%).

Sin embargo, al finalizar el ensayo las plantas controles manifestaron una mayor tasa de transpiración en los tejidos foliares, lo que indicaría una mayor conductancia estomática y en definitiva un mejor estado hídrico de la planta. (Tabla N°4).

La conductividad relativa en tomate, en el transcurso del ensayo, no generó diferencias significativas. Las plantas controles evidenciaron una conductividad de 20,5% con respecto a las inoculadas que acumularon un 25,02%. (Tabla N°4).

Tabla N°4: Porcentaje de conductividad relativa y conductancia estomática en hoja de plantas de tomate inoculadas y no inoculadas con *N. aberrans*.

	Conductancia estomática en hoja (Mmol.m ² .s)	Conductividad relativa en hoja (%)
Control	66,72 A	20,5 A
Inoculado	23,5 B	25,02 A

Medias seguidas por la misma letra, no difieren significativamente según LDS Fisher (95%).

Con respecto al rendimiento, no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos. Las plantas inoculadas, tanto en tomate como en pimiento, obtuvieron el mismo rendimiento que las plantas controles (Tabla N°5). Ésto se debe a que en las condiciones del ensayo (en maceta), las plantas no pudieron expresar su potencial productivo, por lo cual, convendría realizar el ensayo en ambientes reales de producción para que sea mas representativo y obtener datos asemejados a la realidad.

Tabla N°5: Rendimiento en plantas de tomate y pimiento inoculadas y no inoculadas con *N. aberrans*.

	PIMIENTO (g)	TOMATE (g)
control	315 A	622 A
inoculado	335 A	665 A

Medias seguidas por la misma letra, no difieren significativamente según LDS Fisher (95%).

Una vez finalizado el ensayo, se realizó la extracción de los huevos de *Nacobbus aberrans* para verificar la presencia del mismo, por la técnica de centrifugación-flotación y posteriormente se contabilizaron en microscopio. El número promedio de huevos de las plantas inoculadas fue de 150.000 huevos/planta. Las plantas controles no presentaron huevos.

DISCUSIÓN.

Al analizar los parámetros de crecimiento, tanto en pimiento como en tomate, se observó que en los primeros estadíos de los cultivos no se manifestaron diferencias entre el tratamiento control y el tratamiento inoculado con el nematodo fitoparásito. Esto se debe a que los efectos del daño por *Nacobbus aberrans* todavía no se habían manifestado. Según diversos autores, el ciclo de vida del nematodo, en temperaturas óptimas transcurre entre 30 y 40 días (Costilla, 1985). Luego de varios ciclos de vida la población alcanza niveles mayores y el daño comienza a repercutir en el crecimiento. En pimiento, las diferencias entre los tratamientos según el análisis de varianza y la comparación de medias, se vieron reflejados a partir de los 120 días posteriores al trasplante y en el tomate en la medición realizada a los 150 días. Éstas diferencias entre los tratamientos puede deberse a que el crecimiento de las hembras dentro de la raíz provoca daños en los tejidos de conducción. Esta ruptura perjudica el flujo de sustancias a través de los haces vasculares, tornando deficiente la provisión de agua y nutrientes, variando según la especie estudiada en función de la tasa de absorción de agua y la transpiración de las plantas.

Cristobal *et al.* (2001) describió que en las plantas afectadas por nematodos noduladores, la absorción de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio es menor que en las plantas no atacadas. La falta de estos nutrientes esenciales conduce a una reducción del crecimiento apical, menor tasa de expansión y división celular, y clorosis. Sumado a esto, las plantas presentan períodos de marchitez más prolongados, lo que contribuye de forma decisiva para el normal desenvolvimiento del cultivo (Del Toro *et al.*, 2004; Franco, 1994; Inserra *et al.*, 1985).

El estrés hídrico estimula la producción de etileno (Beltrano *et al.*, 1994) y reduce la síntesis de citocininas. Éstos cambios en el equilibrio hormonal, provocan respuestas como el cierre estomático, el cual repercute directamente con el proceso de fotosíntesis (Salisbury y Ross, 2000).

Con respecto a la conductancia estomática las plantas de tomate y pimiento tuvieron diferencias significativas, los controles, presentaron mayor conductancia estomática, es decir, mayor apertura de los estomas indicando un óptimo balance hídrico. Cuando el nemátodo se incorpora dentro de los tejidos radiculares de las plantas, daña la raíz y dificulta la absorción de agua y nutrientes, induciendo un déficit hídrico, que conlleva a

una reducción en la conductancia estomática, para evitar pérdidas de agua mediante el proceso de transpiración. (Cristóbal, 2001).

En cuanto a los parámetros bioquímicos indicadores de estrés analizados, se observó que a los 150 días las plantas de pimiento, manifestaron valores mayores de estos indicadores y los de tomate no, indicando que la planta de tomate es más resistente a esta situación de estrés.

El contenido de prolina en los tejidos se utiliza como un indicador metabólico de estrés (Shahba *et al.* 2010). Diversos trabajos evidencian un aumento en el contenido de prolina en situaciones de estrés (Inal, 2002; Harinasut *et al.*, 2003; De Lacerda *et al.*, 2005). En este trabajo, la concentración de prolina en las plantas de pimiento, se incrementó 187% en los tejidos foliares y un 57% en la raíz, en las plantas estresadas comparadas con las que no estresadas. Este resultado concuerda con Ruscitti *et al.*, (2011) quienes trabajaron en pimiento, pero no concuerda con Shahba *et al.* (2010) quienes reportaron en tomate un mayor contenido en raíces que en hojas.

La conductividad relativa en hojas y raíces, mostró diferencias significativas en pimiento, entre las plantas control y las inoculadas. En tomate, las diferencias no fueron significativas.

La permeabilidad selectiva de las membranas celulares puede verse afectada por diversos factores ambientales y situaciones de estrés, alterando la integridad celular y la capacidad de retención de sustancias intracelulares (Beltrano *et al.*, 2013) razón por la cual se incrementa la conductividad relativa de los tejidos por la salida de electrolitos.

En cuanto a la determinación del contenido de malondialdehído (MDA), el análisis de varianza indica que hay diferencias significativas únicamente en pimiento, tanto en hojas, como en raíz. La concentración de MDA, es un indicador del estrés oxidativo (Garita, 2011).

En las raíces el daño se debe tanto por la acción mecánica y enzimática provocada por el ingreso del nematodo y en los tejidos aéreos a los procesos de deshidratación sufridos por la planta. En el caso del tomate, ha sido reportado que son plantas más tolerantes a sequía que los pimientos, razón por la cual, al momento de finalizar el ensayo aún no se registraban diferencias entre los tratamientos.

CONCLUSIONES

- La infección del nematodo fitoparásito *N. aberrans* afecta la acumulación de materia fresca y seca en plantas de *Capsicum annuum* var. Paco y *Solanum lycopersicum* var. Rodeo,
- El parasitismo de *N. aberrans* en pimiento y tomate, provoca disminución en la síntesis de proteínas solubles, clorofila y carotenos.
- La formación de agallas de *N. aberrans* modifica la estabilidad de las membranas celulares del tejido radicular, afectando la absorción de agua y nutrientes.
- La conductancia estomática disminuye en presencia del nematodo, tanto en pimiento como en tomate, indicando un balance hídrico desfavorable en las plantas afectadas
- Los parámetros de estrés indican que ante una misma población inicial de *N. aberrans* (5000 huevos), las plantas de pimiento mostraron indicios de estrés antes que las plantas de tomate, demostrando que el tomate es mas resistente a este estrés biótico que el pimiento.

BIBLIOGRAFIA

Adlercreutz, E; Chaves, E; Mondino, E; Szczesny, A. (2007). Fluctuación poblacional de juveniles del segundo estadio de *Nacobbus aberrans* y *Meloidogyne* sp. bajo condiciones de invernáculos. (Período Sept. 2004 / Oct. 2007). INTA: 2pp.

Arbona, V., V. Flors, J. Jacas, P. García-Agustín & A. Gómez-Cadenas. (2003). Enzymatic and non-enzymatic antioxidant responses of Carrizo citrange, a salt-sensitive citrus rootstock to different levels of salinity. *Plant and Cell Physiology* 44: 388-394.

Bates, L. S.; Waldren, R. P.; Tease, I.D. (1973). Rapid determination of the proline for stress studies. *Plant Soil*, 85: 107-129.

Beltrano J., Carbone, A., Montaldi, E.R., Guiamét, J.J., (1994). Ethylene as promoter of wheat grain maturation and ear senescence. *Plant Growth Regul* 15:107-112.

Beltrano, J; Ruscitti, M; Arango, C; Ronco, M. (2013). Changes in the accumulation of shikimic acid in mycorrhized *Capsicum annuum* L. grown with application of glyphosate and phosphorus. *Theor. Exp. Plant Physiol.* 25:125-136

Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, pp. 248–254.

Costilla, M.A. (1980). Recomendaciones generales para el cultivo de papa semilla en Tafí del Valle. Capítulo IV. *Plagas y enfermedades. Controles sanitarios*. Boletín 134. EEAOC, Tucumán, Argentina, 30-32.

Costilla, M.A. (1985). Un método rápido para la extracción y observación de estados juveniles de *Nacobbus aberrans* en tubérculos de papa. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán* 62, 163-170.

Coolen, W. A. (1979). Methods for the extraction of *Meloidogyne* spp. and other nematodes from roots and soil. En: F. LAMBERTI and C E. TAYLOR, (Eds.) Root-knot Nematodes {*Meloidogyne* species} Systematics, Biology and Control. Academic Press, London, UK, 319-329.

Cristóbal, A.J., Cid del prado, I.V., Marbán-Mendoza, N., Sánchez, G.P., Mora-Aguilera, G. & Manzanilla, L.R.H. (2001). Sobrevivencia de estadios biológicos de *Nacobbus aberrans* en condiciones de campo. *Nematropica* 31, 229-235.

De Lacerda, C. F., Cambraia, J., Oliva, M. A. & Ruiz, H. A. (2005). "Changes in growth and in solute concentrations in sorghum leaves and roots during salt stress recovery," *Environmental and Experimental Botany*, 54: 69-76.

Del Pino, M. (2016). Guía didáctica: cultivo y manejo del pimiento. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Agrarias. Curso de Horticultura y Floricultura. pp 1-6.

Del TORO , S.; Castellanos, S.; Larriqueta, J.; Moyano, E.; Bustamante, C.; Emilli, S.; Debandi, G.; Ferrari, P.; Estevez, G.; Veja, E. (2004). Falso nematodo del nudo. Em: una fuente de recursos genéticos de extraordinaria utilidad para la ciencia. Los Andes Online :
www.losandes.com.ar/2004/0531/Suplementos/Campo/nota190383.htm.

Doucet, M.E. & Ponce de León, E.L. (1985). *Chenopodium album* L.: eficiente hospedador de *Nacobbus aberrans*

Doucet, M.E. (1992). Asociaciones entre nematodos fitófagos y malezas en la República Argentina. *Agriscientia* 9, 103-112.

Doucet, M.E., Ponce de León, E.L., Tordable, M.C. & Poloni, N. (1997). *Nacobbus aberrans* y su asociación con vegetales en Argentina. *Nematologia Mediterranea* 25, 279-285.

Doucet, M.E., Lax, P. & Lorenzo, E. (2005). Complejo de nematodos fitófagos atacando dos variedades de papa andina del Norte argentino. Libro de Resúmenes del XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología, III Taller de la Asociación Argentina de Fitopatólogos. Villa Carlos Paz, Córdoba, Argentina. 19-22 de Abril, 503 (Resumen).

Doucet, M. E.; Lax, P. (2005) El Género *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 en la Argentina. La especie *N. aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Tylenchida) y su relación con la agricultura. Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria, Tomo LIX.

Franco, J. (1994). Problemas de nematodos en la producción de papa en climas templados en la región andina. *Nematrópica*, 24 (2): 179-195.

Freeman JH, McAvoy EJ, Boyd NS, Dittmar PJ, Ozores-Hampton M, SmithHA, Vallad GE, Webb SE. (2015). Tomato Production En Vegetable Production Handbook of Florida. En: <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/files/cv/cv13700.pdf>

Garat J, Ahumada A, Otero J, Terminiello L, Bello G, Ciampagna M. (2009). Las hortalizas típicas locales en el cinturón verde de La Plata: su localización, preservación y valorización. *Horticultura Argentina* 28(66): 32-39.

Garita, SA. (2011). Micorrizas vesículo-arbusculares como alternativa para moderar el estrés hídrico en tomate. Tesis de grado, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata. pp 50.

Göbel, C., I. Feussner & S. Rosahl. (2003). Lipid peroxidation during the hypersensitive response in potato in the absence of 9-lipoxygenases. *The Journal of Biological Chemistry* 278:52834-52840.

González, A. & Franco, J. (1997). Los nematodos en la producción de semilla de papa. En: *Producción de tubérculos-semillas de papa: manual de capacitación*. Centro Internacional de la Papa (CIP). Fascículo 3.9, 13pp.

Gortari, MC; Hours, RA. (2016). *Purpureocillium lilacinum* LPSC # 876: Producción de conidias en cultivos sobre sustratos sólidos y evaluación de su actividad sobre *Nacobbus aberrans* en plantas de tomate. Rev. Fac. Agron. Vol 115 (2): 239-249.

Hare P.D., W.A. Cress & J. Van Staden. (1998). Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. Plant Cell Environ. 21:535–53.

Harinasut, P. , Poonsopa, D. , Roengmongkol, K. and Charoensataporn, R. (2003). “Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar,” ScienceAsia, 29: 109-13.

Heath, R.L.; Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives in Biochemistry and Biophysics, 125:189–198.

Hoagland, D.R. & D.I. Arnold. (1950). The water culture method for growing plants without soil. California Agriculture Experiment Station Circular 347.

Inal, A. (2002). “Growth proline accumulation and ionic relations of tomato (*Lycopersicum esculentum* L.) as influence by NaCl and Na₂SO₄ salinity”. Turk. J. Bot. 26:285-290.

INDEC. (2010). Censo Nacional de Población, Hogares y Viviendas 2010.

Inserra, R.N., G riffin, G.D. & Anderson, J.L. (1985). The false root-knot nematode *Nacobbus aberrans*. *Research Bulletin* 510, Utah Agricultural Experiment Station, Logan Utah, USA, 14pp.

Lax, P; Becerra, A; Soteras, F; Cabello, M; Doucet, ME. (2011). Effect of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on the false root-knot nematode *Nacobbus aberrans* in tomato plants. Biol Fertil Soils 47:591–597.

Lorenzo, E., Doucet, M.E., Tordable, M. del C. & Poloni, N. (2001). Anatomía de raíces de pimiento y tomate atacadas por *Nacobbus aberrans*. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 6, 97-103.

Lutts, S.; Kinet, J.M.; Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Ann. Bot.*, 78: 389-398.

Manzanilla-López, R.H., Costilla, M.A., Doucet, M., Inserra, R.N., Lehman, P.S., Cid del Prado-Vera, L, Souza, R.M. & Evans, K. (2002). The genus *Nacobbus* Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): systematics, distribution, biology and management. *Nematropica* 32, 149-227.

Marmioli, N; Gulli, M; Maestri, E; Calestani, C; Malcevski, A; Perrota, C; Quarrie, S; Devos, K; Raho, G; Harting, H; Lupotto, E. (1996). Specific and general gene induction in limiting environmental conditions. En: Grillo, S and Leone, A (eds.) *Physical stresses in plants*. Springer-Verlag. Berlin.

Nuez, F. (1986). El cultivo de tomate. Editorial Mundiprensa. 793 pp.

Nuez, F. (1995). El cultivo del tomate. Editorial Mundi-Prensa Libros Gandhi. ISBN: 84-7114-549-9. México D.F. 797 p.

Oficina Programa Ozono. (2013). Antecedentes Nacionales. Secretaria de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación. www.ambiente.gov.ar/?idarticulo=848. Fecha de consulta: marzo 2013.

Pineda, C; Mierez, L. (2015). Producción de Tomate en el Gran La Plata. Tecnologías utilizadas, manejos alternativos y evaluación de la situación. *Boletín Hortícola*, número 53.

Ponce de León, E.L. & Doucet, M.E. (1989). The genus *Nacobbus* Thorne & Alien, 1944 in Argentina. 2. Association between *N. aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Alien, 1944 and the weed *Sisymbrium irio* L. *Revue de Nématologie* 12, 269- 271.

Prado, F.E. (1997). Fisiología del estrés: Respuestas de las plantas al ambiente. Curso sobre fisiología de la quinua. EPG. UNA. Puno, Perú.

Radwan, MA; Farrag, SAA; Abu-Elamayem, MM; Ahmed, NS. (2012). Biological control of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato using bioproducts of microbial origin. Applied Soil Ecology 56: 58-62.

Rick, C. M. (1978). The tomato. Sci. Amer., 239: 67-76 pp.

Rodríguez, R. Tavares, R. y Medina. (2001). Cultivo moderno del tomate. 2ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa. España. 255 p.

Ruscitti, M; Arango, MC; Ronco, M; Beltrano, J. (2011). Inoculation with mycorrhizal fungi modifies proline metabolism and increases chromium tolerance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). Brazilian Journal of Plant Physiology 23(1): 15-25. ISSN: 1677-0420 printed version. ISSN 1677-9452 on line version.

Salisbury, F. y C. Ross (2000). "Fisiología de las plantas 1: células, agua, soluciones y superficies". Ed. Thomson, Paraninfo S.A., Madrid, España

Shahba, Z; Baghizadeh, A; Yosefi, M. (2010). The salicylic acid effect on the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) germination, growth and photosynthetic pigment under salinity stress (NaCl). Journal of Stress Physiology and Biochemistry. Vol. 6 Núm. 3, 4–16.

Silvestri, L; Sisler, G; Roan, J. (1985). Identification of plant parasitic nematodes on horticultural crops in La Plata (Argentina). International Nematology Network Newsletter, 22: 407.

Taiz, L & Zeiger, E. (2006). Plant physiology. 3ra. Ed 758 pág. Sinauer Associates, Inc. Publisher.

Vovlas, N; Nico, AI, De Luca, F; De Giorgi, C; Castillo, P. (2007). Diagnosis and molecular variability of an Argentinean population of *Nacobbus aberrans* with some observations on histopathology in tomato. Journal of Nematology, 39:17–26.

Wellburn, AR. (1994). The spectral determination of chlorophylls A and B, as well as Total caroteinds, using various solvents with Spectrophotometers of different resolution. J. Plant. Phys. Vol. 144:307-313