



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Ciencias

DESCRIPCION MORFOLOGICA E HISTOPATOLOGIA INDUCIDA POR UNA ESPECIE DEL GENERO *Globodera* EN *Jaltomata procumbens* EN MEXICO

T E S I S

Que para obtener el título de

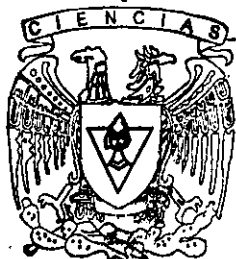
B I O L O G O

p r e s e n t a

FRANCO NAVARRO FRANCISCO

Director de Tesis: DR. MARCOS RAFAEL LAMOTHE ARGUMEDO

Asesor Externo: DR. IGNACIO CID DEL PRADO VERA



FACULTAD DE CIENCIAS
- UNAM

MEXICO, D. F.



~~1999~~

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO
Jefa de la División de Estudios Profesionales
P r e s e n t e

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

"Descripción morfológica e histopatología inducida por una especie
del género Globodera en Jaltomata procumbens en México".

realizado por Francisco Franco Navarro

Con número de cuenta 9559947-4 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de tesis	Doctor Marcos Rafael Lamothe Argumedo
Propietario	Maestra en Ciencias Aurora Zlotnik Espinosa
Propietario	Ingeniera Alfonsina Judith Hernández
Suplente	Doctor Gerardo Pérez Ponce de León
Suplente	Maestro en Ciencias Jesús Jaime Guerra Santos

Marcos Rafael Lamothe Argumedo
Aurora Zlotnik
Hdz. A. Judith
Gerardo P.
Jesús Jaime Guerra Santos

Edna María Suárez Díaz
Doctora Edna María Suárez Díaz
Consejo Departamental de Biología

DEDICATORIA

A MIS PADRES...

Por su ejemplo y porque gracias a su apoyo he logrado realizar muchos de mis sueños. Mi éxito también es su éxito.

A MIS HERMANOS...

Por los momentos que hemos compartido y para que nuestras utopías nunca mueran.

A MIS ABUELITOS... Jesusita (+), Conchita, Manuel (+) y Antonio.

Por su apoyo, su cariño y su ejemplo de trabajo y entrega a los anhelos y responsabilidades adquiridas.

A DOS PILARES DE LA PARASITOLOGÍA EN MÉXICO...

El Dr. M. Rafael Lamothe Argumedo y el Dr. Ignacio Cid del Prado Vera. Por su enorme apoyo en el desarrollo de mi vida profesional.

A LA GAVIOTA...

Porque a pesar de la distancia siempre ha estado muy cerca de mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la formación que me brindó y porque a pesar de su crisis sigue y seguirá VIVA.

A todos mis profesores de la Facultad de Ciencias por su ejemplo y porque de cada uno llevo las mejores armas para afrontar las vicisitudes que se presenten en mi vida profesional.

Al Colegio de Posgraduados, en especial al Instituto de Fitosanidad y todo su personal, por el apoyo brindado para la realización de este trabajo.

A la Dr. Rosa H. Manzanilla López por sus observaciones y constante motivación que me han hecho crecer en mi vida personal y profesional.

A todos los compañeros del laboratorio de Nematología Agrícola: al M. en C. Alejandro Tovar, a la Ing Judith Alfonsina, a la Ing. Rosalinda Flores, a Yumi Nakasawa, al Ing Arturo Aguilar, a Arturo Martínez y al Lic. Agustín Aza, por su amistad, motivación y todos los momentos agradables que hemos compartido.

Al M. en C. Jairo Cristóbal Alejo, a Edith y al bebé, por compartir conmigo una cachito de sus vidas.

Al M. en C. Jorge Valdéz Carrasco por todo su apoyo y disponibilidad para la realización de este trabajo, por su amistad y motivación.

A la M. en C. Lupita Valdovinos por todo su apoyo en la realización de la presente investigación.

A la Biol. Sara por haberme brindado gran parte de su tiempo para la realización de este trabajo.

Al M. en C. Jesús J. Guerra Santos por su amistad y motivación constante

CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE CUADROS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1. 1 Objetivos.....	3
1. 1. 1 Objetivos Generales.....	3
1. 1. 2 Objetivos Específicos.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2. 1 Importancia de los nematodos formadores de quistes.....	4
2. 2 La taxonomía de los nematodos formadores de quistes.....	5
2. 3 El género <i>Globodera</i> y sus especies.....	6
2. 4 Ciclo de vida de <i>Globodera</i> spp.	11
2. 5 Histopatología inducida por los nematodos formadores de quistes.....	14
2. 6 El género <i>Globodera</i> en México.....	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
3. 1 Descripción morfológica y morfométrica.....	20

3. 1. 1 Zona de estudio.....	20
3. 1. 2 Hospedante natural de la población en estudio.....	20
3. 1. 3 Obtención y montaje de nematodos para el estudio morfológico y morfométrico.....	21
3. 2 Alteraciones a nivel de los tejidos de la raíz causadas por <i>Globodera</i> sp. en <i>Jaltomata procumbens</i>	30
3. 2. 1 Obtención de muestras.....	30
3. 2. 2 Procesamiento del material vegetal.....	31
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
4. 1 Descripción morfológica y morfométrica.....	33
4. 2 Alteraciones a nivel de los tejidos de la raíz causadas por <i>Globodera</i> sp. en <i>Jaltomata procumbens</i>	52
V. CONCLUSIONES.....	61
VI. LITERATURA CITADA.....	62
VII. APÉNDICE A.....	71
VIII. APÉNDICE B.....	85
IX. APÉNDICE C.....	93

LISTA DE CUADROS

CUADRO	Pág.
1 Especies de <i>Globodera</i> Skarbilovich, 1959 descritas hasta la fecha....	8
2 Localidades donde se ha registrado la presencia de <i>G. rostochiensis</i>	18
3 Comparación en micrómetros entre los quistes de la población de la “Cañada de Contreras” con las especies del complejo <i>Globodera tabacum</i>	85
4 Comparación morfométrica entre las hembras blancas de la población de la “Cañada de Contreras” con las especies del complejo <i>Globodera tabacum</i>	86
5 Comparación morfométrica entre los machos de la población de la “Cañada de Contreras” con las especies del complejo <i>Globodera tabacum</i>	88
6 Comparación morfométrica entre larvas del segundo estadio de la población de la “Cañada de Contreras” con las especies del complejo <i>Globodera tabacum</i>	90
7 Comparación morfométrica entre los huevos (embrionados y larvados) de la población de la “Cañada de Contreras” con las especies del complejo <i>Globodera tabacum</i>	92

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Pág.
1 Localidad donde fueron encontrados los individuos de la población de <i>Globodera</i> sp.: "La Cañada de Contreras", Magdalena Contreras, México, D. F. B) Sitio en la localidad donde suele encontrarse <i>Jaltomata procumbens</i> . C) <i>J. procumbens</i> mantenida en invernadero. Planta que retoñó luego de haber traído de la localidad únicamente la raíz primaria.....	93
2 A) y B) Hembras adheridas a las raíces de <i>J. procumbens</i> . C) y D) Quistes adheridos a las raíces de <i>J. procumbens</i>	94
3 A) Planta completa de <i>J. procumbens</i> . Nótese cómo su raíz primaria está engrosada. B) <i>J. procumbens</i> en la localidad. Vista de la flor típica de la especie. C) <i>J. procumbens</i> en fructificación.....	95
4 Quistes de <i>Globodera</i> sp. población Contreras. A) Forma y color de los quistes. B) Patrón longitudinal de las estrías a nivel medio del cuerpo de los quistes. C) Capas de la cutícula de los quistes. D) Patrón perineal de los quistes, con estrías entre la vulva y la fenestra, paralelas entre sí. E) MEB: Patrón perineal donde se observan las estrías paralelas entre la fenestra y el ano. F) MEB: Acercamiento donde se observan los tubérculos perineales más conspicuos en el lado dorsal de la fenestra que en el lado ventral.....	96
5 Hembra de <i>Globodera</i> sp. población Contreras. A) Región anterior. B) Morfología general de las hembras. C) Dibujo del patrón perineal de una hembra.....	97
6 Hembras blancas de <i>Globodera</i> sp. población Contreras. A) Hembras maduras y en proceso de taninizado. B) Región cefálica con dos anillos, cuello y región esofágica de la hembra (16X). C) Patrón de estrías longitudinal a nivel medio del cuerpo (40X). D) Capas que se observan en la cutícula (40X). E) Patrón perineal. Obsérvese que las estrías entre el ano y la fenestra son más o menos paralelas entre sí (40X). F) Cuerpos vulvares arreglados irregularmente por debajo y a partir de la vulva (40X).....	98

7	Fotomicrografías en MEB de hembras de <i>Globodera</i> sp. población Contreras. A) Vista frontal de la región labial de una hembra madura. B) Poro excretor ubicado en la base del cuello de las hembras. C) Acercamiento de la región fenestral. Los tubérculos perineales son más conspicuos en la región dorsal que en la ventral. D) Patrón perineal de una hembra madura. Estrías paralelas con poca anastomosis entre sí.....	99
8	Huevo embrionado y larvado de <i>Globodera</i> sp. población Contreras. A) Huevo embrionado. B) Variación morfológica entre huevos embrionados. C) Huevo larvado. D) Variación morfológica entre huevos larvados.....	100
9	Macho de <i>Globodera</i> sp. población Contreras. A) Región anterior. B) Variaciones en el estilete del macho. C) Morfología de espículas y de la cola de los machos.....	101
10	Macho de <i>Globodera</i> sp. población Contreras (6.3X). B) Región anterior donde se observa el estilete con nódulos redondeados y dirigidos posteriormente (40X). C) Morfología de las espículas del macho (40X).....	102
11	Fotomicrografías en MEB de machos de <i>Globodera</i> sp. población Contreras. A) Vista lateral de la región labial. B) Vista frontal de la región labial. C) Campo lateral a nivel medio del cuerpo con areolaciones regulares en sus bordes. D) Cola de un macho con el término del campo lateral muy cerca del término de la cola más o menos redondeada.....	103
12	Larva del segundo estadio de <i>Globodera</i> sp. población Contreras. A) Larva entera. B) Región anterior de la larva. C) Variaciones en el estilete de la larva. D) Cola de la larva.....	104

13	A) Larva del segundo estadio <i>Globodera</i> sp. población Contreras (16X). B) Región anterior. Estilete con nódulos evidentes, redondeados en su base y nódulo dorsal ligeramente dirigido hacia la región anterior (40X). C) Primordio genital constituido por dos células (40X). D) Cola terminada en punta de lápiz. Región hialina larga (40X). E) MEB de la cola terminada en punta. Con la flecha se indica dónde termina el campo lateral.....	105
14	Fotomicrografías en MEB de larvas del segundo estadio <i>Globodera</i> sp. población Contreras. A) Vista lateral de la región labial. B) Vista frontal de la región labial. C) Campo lateral a nivel medio del cuerpo con areolaciones en sus bordes. D) Cola de la larva y acercamiento a la región donde se ubica el fasmidio en forma de poro.....	106
15	Cortes histológicos de raíz de <i>J. procumbens</i> sin nematodos. A) Corte transversal de tejido fijado, deshidratado y teñido con safranina-verde rápido (16X). B) Corte transversal de tejido fresco, teñido con Fabil (16X). C y D) Cortes longitudinales de tejido fresco, teñidos con Fabil (40X).....	107
16	Cortes transversales de raíz de <i>J. procumbens</i> infectadas con <i>Globodera</i> sp. población Contreras. A) Ubicación del nematodo en el tejido radical. B) Corpúsculos dentro del sincicio, cerca del sitio de alimentación. C) Sincicio invadiendo tejidos vasculares y endodermis. Adyacente al xilema se presentan sobrecrecimientos de la pared del sincicio. D) Sincicio inducido por <i>Globodera</i> sp. población Contreras. E y F) Sincicio originado por la incorporación de varias células, con núcleos grandes cuyos núcleos son evidentes. Citoplasma denso y granuloso.....	108
17	Cortes longitudinales de raíz de <i>J. procumbens</i> infectadas con <i>Globodera</i> sp. población Contreras. A) Ubicación del nematodo en el tejido radical (6.3X). B) Relación del nematodo con el sincicio en la raíz (6.3X). C) Sincicio con citoplasma granuloso y paredes necrosadas en el sitio de alimentación del nematodo (16X). D) Sincicio formado por varias células con paredes fragmentadas en íntima relación con los tejidos vasculares del hospedero (16X). E) Sitio de alimentación del nematodo. Se observan pequeñas vesículas sobre la pared de la célula colapsada (40X). F) Ubicación del sincicio con respecto a los haces vasculares. Se observan múltiples núcleos con nucleolos evidentes (16X).....	109

I. INTRODUCCIÓN

El Phylum Nemata no es sólo muy numeroso sino también muy diverso y de gran importancia tanto biológica como económica. Entre los nematodos de importancia económica se encuentran los parásitos de muchos animales destinados al consumo humano, aquéllos que parasitan al hombre y los que han explotado el nicho del fitoparasitismo. Los nematodos fitopatógenos, la mayoría ubicados en el Orden Tylenchida dentro de la Clase Secernentea (Maggenti, 1985), son considerados como responsables de grandes pérdidas, ya que pueden reducir la producción de los cultivos y contribuir al deterioro de algunos productos ya cosechados. Varias son las especies que atacan cultivos de importancia económica y entre ellos se encuentran los nematodos formadores de quistes, todos ellos comprendidos en la Subfamilia Heteroderinae, dentro de la Familia Heteroderidae.

Este grupo importante de parásitos de plantas comprende varias especies, incluidas en 6 géneros: *Heterodera* Schmidt, 1971; *Globodera* Skarbilovich, 1959; *Cactodera* Krall & Krall, 1978; *Punctodera* Mulvey & Stone, 1976; *Dolichodera* Mulvey & Ebsary, 1980 y *Afenestrata* Baldwin & Bell, 1985 (Golden, 1985). Los géneros que producen el mayor impacto económico son *Heterodera*, *Globodera* y *Punctodera* cuyas especies a nivel mundial causan graves pérdidas en varios cultivos, ya que provocan en sus hospedantes un decremento en su rendimiento dada la íntima relación que establecen con los tejidos de la planta para proveerse de alimento y permitir el mantenimiento de cada uno de los estadios. Se sabe que los nematodos formadores de quistes inducen en sus hospedantes la formación de una estructura celular a nivel de los tejidos de la raíz a la que se conoce con el nombre de sincicio; éste es una masa citoplasmática multinucleada originada por la incorporación del contenido celular de varias células, que sirve de sustento alimenticio a los nematodos. Este sincicio presenta características muy particulares que lo diferencian de otras múltiples respuestas que inducen otros géneros de Heteroderidae o bien de otras familias de nematodos fitoparásitos.

En cuanto a su distribución, varias especies del género *Globodera* han sido detectadas en varias solanáceas silvestres de México; sin embargo, se ignora con precisión cuántas y cuáles están presentes. Existen varios trabajos sobre especies de *Globodera* para México, principalmente de *Globodera rostochiensis* y *Globodera tabacum virginiae*. Dichos estudios corresponden a los estados de Michoacán, Tlaxcala y México, registrándose *G. rostochiensis*

en papa y jitomate principalmente y *G. t. virginiae* en jitomate, tabaco, berenjena, chile, tomate de cáscara y varias malezas del género *Solanum* como *S. dulcamara*, *S. quitoense* y *S. rostratum*. En cultivos como papaya, avena y haba se encontraron especies no determinadas de *Globodera* (Montes-Belmont, 1988).

De esta manera, y con base en la información anterior, salta a la vista la enorme necesidad de conocer con precisión no sólo las especies presentes en el país sino también su distribución, siendo ésto de gran importancia en la taxonomía del grupo y a nivel económico si se consideran como las especies de mayor impacto en la agricultura del país. Con relación a esto, se han iniciado en el Laboratorio de Nematología del Instituto de Fitosanidad del Colegio de Posgraduados, una serie de muestreos en zonas donde se hallan presentes solanáceas silvestres, encontrándose varias poblaciones de nematodos formadores de quistes tanto del género *Globodera* como del género *Heterodera*, éstas últimas asociadas a plantas pertenecientes a Cyperaceae y Poaceae. Entre las poblaciones de *Globodera* registradas durante los muestreos, se encontró una asociada a raíces de *Jaltomata procumbens* (Cav.) J. L. Gentry en un sitio conocido como "La Cañada de Contreras" dentro de la Delegación Magdalena Contreras, México, D. F. El presente trabajo tuvo como fin la caracterización de los individuos de esta población mexicana y así contribuir a la ampliación del rango de distribución de las especies del género *Globodera* en el país. Además, no se tienen registros de ninguna especie de *Globodera* asociada al hospedante en la localidad, lo que por sí mismo es de suma importancia dentro del género. En este trabajo se realiza un estudio taxonómico y se analizan algunos aspectos de la biología propia de la especie como lo son las alteraciones a nivel anatómico que causa en su hospedante.

Partiendo de la información antes expuesta, para abordar el presente estudio se plantearon los objetivos que se detallan a continuación:

1. 1. OBJETIVOS

1. 1. 1. Objetivos Generales:

- Describir morfológica y morfométricamente a los individuos que forman parte de la población mexicana del género *Globodera* presentes en “La Cañada de Contreras”, México, D. F.
- Describir los daños causados por estos nematodos formadores de quistes sobre su planta hospedante, *Jaltomata procumbens*.

1. 1. 2. Objetivos Específicos:

- Describir la morfología y realizar mediciones de los caracteres taxonómicos más importantes de los principales estadios del nematodo: huevos, larvas del segundo estadio, machos, hembras y quistes.
- Comparar la morfología y la morfometría con las características diagnósticas de otras especies de *Globodera* para ubicar taxonómicamente a los individuos que forman parte de la población en estudio.
- Describir las principales alteraciones a nivel de los tejidos de la raíz inducidas por el nematodo en *Jaltomata procumbens*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 IMPORTANCIA DE LOS NEMATODOS FORMADORES DE QUISTES.

Los nematodos formadores de quistes, pertenecientes a la Familia Heteroderidae, constituyen un grupo de fitopatógenos de suma trascendencia en cultivos de importancia económica en muchas regiones del mundo (Baldwin y Mundo-Ocampo, 1991; Lamberti y Taylor, 1985) y en especial en zonas templadas (Stone, 1977). Algunas especies atacan sólo unas cuantas especies vegetales y viven en áreas geográficas limitadas, mientras que otras atacan a una gran cantidad de especies vegetales y se hallan ampliamente distribuidas (Agrios, 1996). Los nematodos formadores de quistes son un serio problema en la agricultura debido a que los quistes son formas de resistencia que les confieren cualidades que los hacen más peligrosos al ser muy difícil combatirlos y evitar su dispersión. Para Stone (1985), las especies de nematodos con un mayor potencial devastador sobre los cultivos, son aquellas que presentan un mayor desarrollo del hábito parasítico y son las correspondientes a los formadores de quistes las que precisamente se hallan más adaptadas. Además, al presentar una fase de quiste que guarda y protege a los huevos y que es de fácil dispersión, las alternativas de combate no son del todo fáciles y efectivas.

Se han registrado considerables pérdidas debido al ataque de este grupo de nematodos en cultivos como papa, remolacha azucarera, soya y cereales. Dos son los géneros formadores de quistes de mayor importancia dentro de esta familia: *Heterodera* y *Globodera*; ambos se diferencian de manera general por la forma del quiste, ya que en *Heterodera* éste es citriforme y el de *Globodera* es totalmente esférico (Maggenti, 1982). De estos dos géneros las especies más importantes son el nematodo de la remolacha azucarera, *Heterodera schachtii* Schmidt, 1971; el nematodo enquistador de los cereales, *H. avenae* Wollenweber, 1924; el nematodo enquistador del chícharo, *H. goettingiana* Liebscher, 1892; el nematodo enquistador de la soya, *H. glycines* Ichinohe, 1952; el nematodo dorado de la papa, *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975 y *Globodera pallida* (Stone, 1973) Behrens, 1975. Esta última especie es extremadamente destructora en papa, lo que ha provocado el establecimiento de rigurosas cuarentenas en los Estados Unidos, además de las fuertes restricciones que hay al respecto en Europa (Maggenti, 1982).

G. rostochiensis, junto con *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 y *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949, que no forman quistes, son considerados los nematodos más importantes dentro de la agricultura en nuestro país (Montes-Belmont, 1988). En México, estudios realizados con *Globodera rostochiensis* muestran que puede reducir hasta en un 70% la producción de papa en parcelas con altos índices de infestación (Santamaría y Teliz, 1985)¹ y que en condiciones experimentales, un nivel de 1000 quistes/kg de suelo puede llegar a abatir los rendimientos en más de un 50% (Rodríguez, 1973)². Camacho (1977)³ demostró que la aplicación de nematicidas incrementa el peso de los tubérculos hasta en un 49%, aún cuando hay infestación del nematodo.

2.2 LA TAXONOMÍA DE LOS NEMATODOS FORMADORES DE QUISTES

No obstante su importancia a nivel económico, desde el punto de vista taxonómico no existe una postura bien definida con respecto a los Heteroderidae ya que en general han sufrido en los últimos años modificaciones profundas, indicio de la enorme diversidad del grupo. Gran cantidad de géneros se han añadido o simplemente han sido cambiados de categoría, lo que ha llevado a que la taxonomía de la familia, al igual que la de otros grupos de nematodos, esté en constante cambio (Baldwin, 1985). La clasificación de la familia Heteroderidae, hasta antes de 1978, sufrió grandes modificaciones y muchas de las propuestas fueron severamente criticadas por sus bases arbitrarias así como por la proliferación de taxa dentro de la misma, ya que en muchos casos se erigían nuevos géneros en observancia de caracteres con poco valor taxonómico (Stone, 1985). Un ejemplo de ello fué lo sucedido con el género *Globodera* y sus especies.

Hasta 1975, *G. rostochiensis* y otras especies del género se consideraban pertenecientes a *Heterodera*. El género *Heterodera* creado por Schmidt en 1871, incluía a los nematodos que actualmente constituyen al género *Meloidogyne* y a las especies de las cuales se sabía que se transformaban en quistes después de morir (Quiñones, 1979). Durante casi un

¹ Santamaría, P. C. y D. Teliz O. 1985. Control de *Globodera rostochiensis* (Woll 1923) de la papa *Solanum tuberosum* en Tlaxcala. Resúmenes. XI Congreso Nacional de Fitopatología. San Luis Potosí, México. Resumen 145.

² Rodríguez, C. E. 1973. Estudio preliminar sobre el nematodo dorado de la papa *Heterodera rostochiensis* Woll (Nematoda: Heteroderidae) en México. Tesis. Colegio de Posgraduados Chapingo, México.

³ Camacho, G. J. S. 1977. Control químico del nematodo dorado de la papa *Globodera rostochiensis* (Woll 1923) Mulvey & Stone 1976 (Nematoda: Heteroderidae) bajo condiciones de invernadero. Tesis. Universidad Autónoma Chapingo, México.

siglo, después del descubrimiento del nematodo de la remolacha azucarera, todos los nematodos formadores de quistes se incluyeron bajo la especie *H. schachtii*. Thorne en 1949, en su intento por redefinir al grupo, los ubicó dentro de la subfamilia Heteroderinae con base en la forma del cuerpo de las hembras, la cola redondeada del macho y la ausencia de bursa (citado por Wouts y Sher, 1971). Skarbilovich en 1959 propuso dividir al género *Heterodera* en dos subgéneros: *Globodera* y *Heterodera*, dejando en el primero a las especies que presentan quistes esféricos y en el segundo a las de quistes citriformes (citado por Quiñones, 1979). Posteriormente se propuso la división de los nematodos enquistadores en función de la presencia o ausencia de cono vulvar, dando lugar a dos grupos: los esféricos-piriformes y los citriformes. Esta última clasificación fue apoyada por Sosa-Moss en 1976, sobre todo debido al hecho de que en México se conocía ya la existencia del nematodo enquistador del maíz (conocido en ese tiempo como *Heterodera punctata*), que por llamarse *punctata* debería ser piriforme de acuerdo a la clasificación de aquél tiempo, y que al ser esférico introducía confusión en el grupo (Quiñones, 1979). Así pues, y considerando principalmente tanto la forma esférica peculiar de las hembras enquistadas como la ausencia de cono vulvar, se consideró que el grupo debía elevarse a la categoría de género para el cual se adoptó precisamente el nombre de *Globodera*. De esta manera, *Globodera* Skarbilovich, 1959 fue elevado de categoría subgenérica a genérica tanto por Behrens en 1975 como por Mulvey y Stone en 1976; estos últimos hicieron la revisión ignorando el trabajo realizado por Behrens (citado por Loof y Baker, 1992). Al respecto Loof y Bakker (1992) consideran que Behrens tiene prioridad sobre Mulvey y Stone, ello a pesar de que algunos de los aportes de Behrens no fueron del todo correctos. Así, se dejó en el género *Heterodera* solamente a los que poseen cono vulvar y a las especies que no lo presentaban se les separó con base en la fenestración, proponiendo para ello dos nuevos géneros: *Punctodera* y *Globodera*, el subgénero propuesto con anterioridad por Skarbilovich.

2.3 EL GÉNERO *Globodera* Y SUS ESPECIES

Como otros heterodéridos formadores de quistes, los nematodos del género *Globodera* se caracterizan por el hábito endoparasítico de las hembras en las raíces del hospedante. Estas se transforman en quiste debido a un proceso de taninizado y endurecimiento de la cutícula; esta capacidad les confiere una gran resistencia ante condiciones ambientales adversas y asegura a su vez la permanencia e infestación en el suelo por largos períodos de tiempo. La

mayoría de las especies de *Globodera* están adaptadas a climas fríos y presentan una mayor actividad entre los 15 y los 20°C cesando alrededor de los 40°C; además, pueden también desarrollarse en las regiones templadas y en los trópicos, restringidas en este caso a puntos con altas elevaciones (Baldwin y Mundo-Ocampo, 1991). Dado que son nematodos relativamente inmóviles, en hábitats poco o nada perturbados se dispersan sólo localmente por medio de corrientes de aire pero su distribución se puede ampliar debido a las actividades agrícolas tales como el riego o por el transporte de material infestado de una zona a otra con fines de comercialización (Green, 1971).

Las especies que constituyen actualmente al género *Globodera* son 12 y sus características principales son: hembras maduras de forma esférica con patrón de anillos cuticulares a manera de cordones en zig-zag y capa cuticular D presente; abertura vulvar corta ($< 15 \mu\text{m}$), con sobrecrecimientos y *bullae* raramente presentes, tubérculos perineales presentes; la circumfenestra se presenta únicamente en la vulva y tanto ésta como el ano no se encuentran sobre un cono vulvar; los huevos son retenidos en el cuerpo de la hembra y el córion de éstos es liso. Los machos presentan torsión del cuerpo en su región posterior y tienen una longitud aproximada de 1.5 mm de largo, disco labial más o menos circular con bajo perfil, cola corta y espículas $> 30 \mu\text{m}$ con puntas redondeadas, sin bifurcaciones. La larva del segundo estadio presenta en vista frontal un disco labial ovoide rodeado por 6 pseudolabios, mismos que presentan varios grados de fusión entre sí; campo lateral con cuatro incisuras, estilete menor a las $30 \mu\text{m}$, glándulas esofágicas llenando el ancho del cuerpo, cola cónica, punteada y con una región terminal hialina; sus fasmidios presentan forma de poro (Baldwin y Mundo Ocampo, 1991; Mulvey y Golden, 1983; Mulvey y Stone, 1976).

Globodera rostochiensis es la especie tipo del género y una de las más importantes a nivel agrícola junto con una segunda especie de enquistador de la papa, *G. pallida*. La mayoría de las especies se hallan restringidas en su distribución; sin embargo, tanto *G. rostochiensis* como *G. pallida* son muy ubicuas, encontrándose desde Sudamérica y Centroamérica a Europa, la ex Unión Soviética, en la región del Mediterráneo, India, África, Australia, Nueva Zelanda, Islandia, Filipinas y regiones restringidas de Canadá y los Estados Unidos (Baldwin y Mundo-Ocampo, 1991).

En el Cuadro 1 se presenta una lista de las especies que constituyen al género *Globodera* y a continuación se mencionan datos importantes de cada una de ellas.

Cuadro 1. Especies de *Globodera* Skarbilovich, 1959 descritas hasta la fecha.

Especie	Autoría	Sinonimias
<i>G. rostochiensis</i>	(Wollenweber, 1923) Behrens, 1975	<i>Heterodera schachtii rostochiensis</i> Wollenweber 1923 <i>H. schachtii solani</i> Zimmermann, 1927
<i>G. achilleae</i>	(Golden & Klindic, 1973) Behrens, 1975	<i>H. achilleae</i> Golden & Klindic, 1973
<i>G. artemisiae</i>	(Eroshenko & Kazachenko, 1972) Behrens, 1975	<i>H. artemisiae</i> Eroshenko & Kazachenko, 1972
<i>G. chaubattia</i>	(Gupta & Edward, 1973) Wouts, 1984	<i>H. chaubattia</i> Gupta & Edward, 1973, <i>H. mali</i> Kir'janova & Borisenko, 1975, <i>G. mali</i> (Kir'janova & Borisenko, 1975) Behrens, 1975
<i>G. hypolysi</i>	Ogawa, Ohshima and Ichinohe, 1983	
<i>G. leptonepia</i>	(Cobb & Taylor, 1953) Skarbilovich, 1959	<i>H. leptonepia</i> Cobb & Taylor, 1953
<i>G. millefolii</i>	(Kir'janova & Krall, 1965) Behrens, 1975	<i>H. millefolii</i> Kir'janova & Krall, 1965
<i>G. mirabilis</i>	(Kir'janova, 1971) Mulvey and Stone, 1976	<i>H. mirabilis</i> Kir'janova, 1971
<i>G. pallida</i>	(Stone, 1973) Behrens, 1975	<i>H. pallida</i> Stone, 1973
<i>G. pseudorostochiensis</i>	(Kir'janova, 1963) Mulvey & Stone, 1976	<i>H. pseudorostochiensis</i> Kir'janova, 1963
<i>G. tabacum</i> ssp. <i>solanacearum</i>	(Miller & Gray, 1972) Behrens, 1975	<i>H. solanacearum</i> Miller & Gray, 1972, <i>G. Solanacearum</i> (Miller & Gray, 1972) Behrens, 1975
<i>G. tabacum</i> ssp. <i>tabacum</i>	(Lownsbery & Lownsbery, 1954) Behrens, 1975	<i>H. tabacum</i> Lownsbery & Lownsbery, 1954
<i>G. tabacum</i> ssp. <i>virginiae</i>	(Miller & Gray, 1968) Behrens, 1975	<i>H. virginiae</i> Miller & Gray, 1968, <i>G. virginiae</i> (Miller & Gray, 1968) Behrens, 1975
<i>G. zelandica</i>	Wouts, 1984	

Fuente: Adaptada de Baldwin & Mundo-Ocampo, 1991; Luc *et al*, 1988; Mulvey & Stone, 1976; Loof & Bakker, 1992; Stone, 1985.

El "nematodo dorado de la papa", *Globodera rostochiensis*, fué primeramente observado por Julius Kuhn en 1881 atacando raíces de *Solanum tuberosum* L., registrándose en aquel momento como una raza de *Heterodera schachtii* (Maggenti, 1982). En 1923 Wollenweber la describió como especie nueva por ser muy diferente a *Heterodera schachtii*.

Wollenweber observó que los quistes en papa eran de forma esférica y no citriforme y que las larvas eran un poco más cortas que las del nematodo de la remolacha azucarera. En su propuesta la nombró *Heterodera rostochiensis* ya que fue encontrada en la vecindad de la ciudad de Rostock, Alemania. Muchos investigadores en ese tiempo, hicieron caso omiso de tal propuesta y se le siguió considerando una raza del nematodo de la remolacha azucarera (Thorne, 1961). Para 1940, Franklin fué quien corroboró las diferencias morfológicas entre ambos nematodos y reconoció al nematodo dorado como una nueva especie, otorgándole el mérito a Wollenweber. El nombre común de “nematodo dorado de la papa” fué propuesto por Chitwood en 1944 (Thorne, 1961). Otro nematodo enquistador de la papa es *Globodera pallida* Stone 1973, considerada hasta antes como un patotipo de *G. rostochiensis* (patotipo B y E). *G. pallida* parasita de manera importante a la papa y presenta características tanto morfológicas como fisiológicas que llevan, según Stone (1973), a considerarla una especie diferente a *G. rostochiensis*.

Ambas especies atacan aproximadamente a 90 especies vegetales pertenecientes a la familia Solanaceae, en especial del género *Solanum*. Muchos de sus hospedantes son especies silvestres de Sudamérica, incluyendo varias clases de papa (*S. tuberosum*), con varios niveles de resistencia, *S. tuberosum andigena*, *S. vernei* y *S. sucrense*; además, en Europa se ha encontrado en varias malezas como *S. sarachoides*, *S. dulcamara* y *Datura stramonium*, condición que les permite persistir en ciertas áreas agrícolas. Otros hospedantes de importancia comercial son *Lycopersicon esculentum* Mill. (jitomate) y *Solanum melongena* L. (berenjena). De *Globodera rostochiensis* se conocen cinco patotipos, efecto del uso de distintas variedades de papa resultantes de cruces de *Solanum tuberosum* con diferentes especies provenientes de América del Sur (Baldwin y Mundo-Ocampo, 1991).

Globodera leptonepia Cobb & Taylor, 1953 fué descrita a partir de tres quistes, de un total de 15 que constituían toda la muestra, encontrados en suelo recogido de la bodega de un barco transportador de papa, procedente de Callao, Perú. No se sabe con exactitud la localidad de donde provenía el material ni cuáles eran sus hospedantes. De los tres quistes, dos contenían huevos con larvas, mismas que eran notablemente delgadas y alargadas, diferentes de otras especies del género. Además, es la única especie entre los Heteroderidos cuya larva del segundo estadio se halla doblado 7 veces dentro del huevo y con un estilete de 18 µm de longitud (Cobb y Taylor, 1953). Hasta ahora no se ha vuelto a encontrar (Stone, 1985).

Globodera tabacum Lownsbery & Lownsbery 1954, es una especie que aproximadamente en 1951 se encontró parasitando tabaco cerca de Hazardville, Connecticut, E. U. A. Experimentos en invernadero llevados al cabo en el mismo estudio, mostraron que causaba daño a jitomate y otras solanáceas, exceptuando la papa (Lownsbery y Lownsbery 1954).

Globodera millefolii Kir'janova & Krall, 1965 es una especie que de acuerdo a lo que menciona Quiñones (1979), fué descrita a partir de una sola hembra encontrada en raíces de *Achillea millefolium* L. (Compositae) en Estonia, sin que sepa algo más sobre esta especie.

Globodera mexicana Campos Vela, 1967 es una especie que como tal no es aún del todo aceptada ya que según Golden y Ellington (1972) carece del apoyo por parte de una publicación en la que se describa exhaustivamente y se tomen en cuenta otros caracteres más determinantes para definir a dicha especie. Campos Vela obtuvo tal población a partir de raíces de *Solanum rostratum* Dunal, en Toluca y en Huamantla. En condiciones de invernadero causa fuertes daños a tomate, pero no completa su ciclo en varias especies del género *Solanum* (Quiñones, 1979). Esta especie al parecer es sinónimo de *G. virginiae* (Baldwin y Mundo-Ocampo, 1991; Mulvey y Golden, 1983; Roberts y Stone, 1981).

Globodera virginiae Miller & Gray, 1968, se recolectó en Virginia, E. U. A., a partir de raíces de *Solanum carolinense*; aparentemente causa daños considerables si se infesta suelo con este nematodo y se llegan a plantar en él, jitomate, tabaco, berenjena y otras solanáceas cultivables a excepción de la papa (Miller y Gray, 1968).

Globodera solanacearum Miller & Gray, 1972, especie encontrada en la misma localidad que *G. virginiae*, atacaba *Nicotiana tabacum* y *S. carolinense*. Los autores realizaron pruebas en varios hospedantes y encontraron que atacaba tabaco, tomate, berenjena y otras solanáceas, no así la papa (Miller y Gray, 1972).

De acuerdo con Stone (1985), *G. solanacearum* y *G. virginiae* no son especies por sí mismas sino subespecies de *G. tabacum* y debieran de ser nombradas como *Globodera tabacum solanacearum* y *Globodera tabacum virginiae* respectivamente, además de *Globodera tabacum tabacum*. Tal aseveración se fundamenta en el hecho de que las

supuestas tres especies, pueden hibridarse entre sí, dificultando la diferenciación morfológica de las mismas. Algunos autores como Baldwin y Mundo Ocampo (1991) hablan del complejo *G. tabacum* para englobar a las tres subespecies. De acuerdo con estos mismos autores, *G. t. tabacum* aparentemente se restringe en cuanto a su distribución, a los estados de Connecticut y Massachusetts, en tanto que *G. t. solanacearum* solamente suele registrarse en Virginia y Carolina del Norte. *G. t. virginiae* por su parte, además de encontrarse en Virginia, se ha registrado como coespecífica con especies de nematodos formadores de quistes que se distribuyen en México y Centroamérica (Baldwin y Mundo Ocampo, 1991).

Globodera achilleae Golden & Klindic 1973, es una especie que fué encontrada en Sarajevo, Yugoslavia alrededor de 1970, parasitando *Achillea millefolium*, pero sin afectar papa (Golden y Klindic 1973).

2. 4 CICLO DE VIDA DE *Globodera* spp.

En lo que se refiere al ciclo de vida de algunas de las especies de *Globodera*, de las que se tiene mayor conocimiento es del grupo de nematodos enquistadores de la papa, *G. rostochiensis* y *G. pallida*. Los quistes, que por lo regular llegan a contener unos 500 huevos, son los estadios que le permiten al nematodo permanecer en el suelo, ya que los huevos dentro de los quistes pueden sobrevivir cerca de 28 años si las condiciones del suelo (temperatura, humedad, textura, etc.) son óptimas (Grainger, 1964). De acuerdo con Chitwood y Buhrer (1946), tanto los huevos como las larvas de *Globodera rostochiensis* suelen permanecer en el cuerpo de la hembra transformada en quiste durante todo el invierno, ocurriendo la eclosión aproximadamente en primavera. La eclosión de los huevos se halla determinada por muchos factores del medio entre los que se encuentran la temperatura, la humedad y los exudados radicales del hospedante.

Las larvas del segundo estadio, que son las que emergen del huevo, son muy activas y de inmediato buscan las raíces del hospedante. Una vez que las han localizado, penetran por las zonas cercanas al ápice de la raíz o por las raíces laterales (Baldwin y Mundo Ocampo, 1991). La segunda muda ocurre aproximadamente el séptimo día luego de la invasión a las raíces (Chitwood y Buhrer, 1946). Estas larvas se mueven a través de los tejidos de la raíz y se alimentan de las células del periciclo, córtex o endodermis; a partir de este momento

comienzan a incrementar su volumen corporal y pasan así a la fase sedentaria del ciclo. A la par, en el hospedante inducen la formación de células de grandes dimensiones a manera de células de transferencia que son los sitios de alimentación y subsistencia del nematodo dentro de la raíz. Con la formación de estas células especializadas y de intensa actividad metabólica, en gran medida controladas por el nematodo, éste logra extraer nutrientes básicos para la planta. En el caso de las especies del género *Globodera*, como muchas de las especies de nematodos formadores de quistes, la estructura celular que inducen en sus hospedantes es un sincicio alrededor del nematodo (Jones y Dropkin, 1975; Mundo-Ocampo y Balwin, 1983).

Durante el tercer estadio (aproximadamente 10 días después de la invasión) la parte posterior del cuerpo se ensancha en ambos sexos y a veces puede presentarse un rompimiento de raíces si los individuos se hallan alojados en raíces muy pequeñas o si se ubican muy cerca de la epidermis; así, los estadios jóvenes en ambos sexos son sedentarios. Durante el cuarto estadio (alrededor del decimoquinto día) la parte posterior del cuerpo de la hembra continúa ensanchándose hasta adquirir la forma esférica característica y es cuando se manifiesta una mayor emergencia de individuos (hembras) por el rompimiento de las raíces. Esto les permite exponer la región genital para la cópula. El cuarto estadio del macho se alarga y toma la forma vermiforme permaneciendo enrollado en la cutícula del tercer estadio. Los machos, que son móviles, pueden deshacerse de la cutícula del tercer estadio o bien, retenerla antes de la muda final o cuarta muda (Chitwood y Buhner, 1946). Durante los 16 días siguientes a la muda final, la hembra cambia de un color blanco a amarillo, coincidiendo con la producción de huevos. Los machos no se alimentan y son capaces de vivir varios días inseminando hembras, mismas que pueden ser inseminadas por más de un macho (Baldwin y Mundo-Ocampo, 1991). Conforme el ciclo avanza, las hembras adquieren un color dorado y finalmente se transforman en quiste mismo que contiene los huevos capaces de sobrevivir el siguiente invierno y es así como el ciclo se completa (Chitwood y Buhner, 1946).

El desarrollo desde la eclosión hasta que se alcanza el estado adulto requiere de 38 a 45 días. Una vez alcanzada la madurez, las hembras son fecundadas por el macho. En el informe de Chitwood y Buhner (1946) acerca del ciclo de vida de *G. rostochiensis* bajo condiciones de campo, se indica que el nematodo pasa a través de sus cuatro mudas en un período de 23 a 33 días y comienza a producir huevos con larvas 16 días después. Considerando el intervalo de tiempo desde huevos embrionados hasta huevos embrionados

de una generación a otra, el ciclo abarca de 38 a 48 días; esto bajo una temperatura semanal del suelo entre 15° y 19°C (Chitwood y Buhner, 1946). Una vez que las condiciones del medio vuelven a ser favorables, las larvas del segundo estadio eclosionan con lo que se inicia otra generación del nematodo. Cabe mencionar que puede presentarse más de una generación por año en un cultivo, si la temperatura es favorable, pero si ésta no es la adecuada, las larvas pueden permanecer dentro del quiste por varios años. Chitwood y Buhner (1946) mencionan que la invasión de raíces y tubérculos por *G. rostochiensis* continúa durante toda la estación de crecimiento, pero ello pudiera ser debido a la acción de las larvas de quistes de generaciones anteriores. Al parecer tanto los huevos como las larvas de un quiste no son activas para la siguiente estación sino que eclosionan y emigran luego de un cierto período de años.

En cuanto al ciclo de vida de otras especies del género es poco lo que se conoce. Del complejo *G. tabacum* por ejemplo, la información con que se cuenta proviene solamente de las descripciones originales (Baldwin y Mundo-Ocampo, 1991). Las hembras maduras del complejo *G. tabacum* retienen los huevos en el quiste, el cual tiene la capacidad de sobrevivir por varios años en ausencia de un hospedante susceptible. Al igual que con el nematodo dorado de la papa, se cree que los exudados del hospedante juegan un papel muy importante en la eclosión de las larvas (Baldwin y Mundo-Ocampo, 1991). Una vez que la hembras correpondientes al complejo *G. tabacum* son fecundadas, son capaces de producir huevos 20 días después, lo que las hace capaces de presentar varias generaciones durante el ciclo del cultivo. El ciclo de vida de una subespecie de dicho complejo, *G. t. solanacearum*, varía de 32 a 82 días en campo, dependiendo de las condiciones ambientales imperantes. El tiempo generacional es de 34 días cuando el hospedante crece a temperaturas de 24-29°C (Miller y Gray, 1972). En Virginia se llegan a presentar dos o más generaciones en función de la temperatura del suelo y el período vegetativo del hospedante (Miller y Gray, 1972).

Para el caso de *G. t. virginiae*, Miller y Gray (1968) mencionan que los exudados de plantas hospedantes son de suma importancia en la eclosión de las larvas del segundo estadio. El tiempo generacional de esta especie es de un mes cuando el hospedante crece a una temperatura entre los 24 y 29°C. En Virginia se ha observado que pueden presentarse dos o más generaciones del nematodo dependiendo de la temperatura del suelo y el período vegetativo del hospedante (Miller y Gray, 1968).

2. 5 HISTOPATOLOGÍA INDUCIDA POR LOS NEMATODOS FORMADORES DE QUISTES

Los cambios celulares inducidos por los nematodos fitopatógenos de la familia Heteroderidae han sido estudiados con detalle, principalmente para el caso de *Heterodera* spp. *Heterodera* generalmente induce la formación de un sincicio el cual es considerado como una masa multinucleada de protoplasma formada por la disolución de las paredes celulares de las células adyacentes y cuya formación puede presentarse ya sea en el córtex o en los tejidos vasculares (Mundo-Ocampo, 1985). La formación del sincicio, a nivel de las células parenquimatosas, se ha registrado para otros nematodos de Heteroderidae los cuales no presentan fase quística tales como *Verutus volvingentis* (Cohn, *et al.*, 1984), *Atalodera ucri* y *Atalodera ionicerae* (Mundo-Ocampo y Baldwin, 1983).

Los sincicios son característicamente multinucleados y contienen citoplasma viscoso con muchas mitocondrias, protoplastidios y dictiosomas; además, presentan un retículo endoplásmico bien desarrollado y son muy activos metabólicamente. En general sus paredes son gruesas excepto en áreas en las que las células adyacentes están siendo incorporadas. En lo que se refiere a la localización del nematodo en la raíz, ésta al parecer está en función de que sea aquella zona que menos obstáculos presente a la invasión o penetración y que al mismo tiempo esté más cerca de los tejidos internos donde el nematodo se alimenta; así pues, para el caso de *Heterodera* spp. la zona de elongación de las raíces es la más idónea (Kirkpatrick *et al.*, 1964). Por otro lado, se sabe que para los géneros *Heterodera* y *Meloidogyne*, la migración a través del córtex y la alimentación a partir de células sinciciales del tejido vascular causan dos tipos de disturbios en el hospedante: 1) necrosis debido al tránsito de las larvas a través de las regiones del córtex por las cuales pasan y 2) se reduce la tasa de crecimiento de las raíces. Inmediatamente después de la penetración por las larvas del segundo estadio, los siguientes estadios larvarios se hacen sedentarios e inducen cambios en el tejido vascular para formar sincicios. Los metabolitos de la planta entonces se canalizan a los sincicios y los vasos se obstruyen (Seinhorst y Ouden, 1971). Endo (1971) menciona que en infecciones por *Heterodera* la formación del sincicio se asocia con un incremento en el tamaño del núcleo y nucleolos; de acuerdo con Owens y Specht (1964), el incremento en el volumen nuclear resulta de la fusión nuclear o incremento de la ploidía. La principal característica del sincicio, además de su peculiar ontogenia y del contenido celular

particular, es su incremento en la actividad metabólica. Los sincicios son esenciales para el nematodo si éste debe desarrollarse hasta la madurez; por lo que para algunos autores estas estructuras no son sino cambios celulares adaptativos (Dropkin, 1969).

En el caso de *Heterodera glycines*, luego de que la segunda etapa larvaria infectiva penetra directamente en las raíces primarias jóvenes o los meristemos apicales de las raíces secundarias, inicia su avance a través del córtex, principalmente por vía intracelular y ocasionando tanto la deformación como la muerte de las células invadidas (Endo, 1965). Con frecuencia, las larvas pasan a través del córtex e introducen su estilete en las células de la endodermis o del periciclo. Dos días después de haber penetrado, las larvas entran en reposo y se alimentan de las células de los tejidos del córtex y del haz vascular, produciendo el alargamiento de las mismas. Luego de 4 a 6 días posteriores a la penetración, las larvas mudan y se presenta la tercera etapa larvaria y a los 5-6 días comienza a aparecer la cuarta etapa larvaria. Aunado a este evento, los sincicios comienzan a rodearse de una capa simple de células hiperplásticas cuyas paredes sufren disolución, lo que permite su alargamiento. Durante el desarrollo de la tercera etapa larvaria, las células corticales que se encuentran alrededor del nematodo se comprimen por el ensanchamiento del cuerpo de éste, siendo más evidente en el caso de las hembras en desarrollo. Finalmente, una vez que los sincicios son evidentes, se observa que se restringen en gran parte a los tejidos del periciclo o se presentan en los tejidos del floema y el *cambium* vascular.

Los sincicios que se encuentran en contacto con los machos, aunque éstos se hallen en proceso de desarrollo, son por lo general visibles en el córtex o en el periciclo y frecuentemente muestran signos de degeneración temprana, lo cual indica que el nematodo ha dejado de alimentarse (Acedo *et al.*, 1984). Los sincicios de los machos muestran dicho estadio temprano de degeneración alrededor del noveno día. Por otro lado, los sincicios que se encuentran en contacto con las hembras permanecen activos hasta después del momento de la oviposición, formando una pequeña cuña punteada hacia el centro del haz vascular. Los sincicios, observados en sección transversal, presentan citoplasma denso y sus paredes suelen teñirse fuertemente, en tanto que si se observan en un plano longitudinal, las paredes internas presentan verdaderas (Acedo *et al.*, 1984). Con respecto a la degeneración de los sincicios, ésta va acompañada por lo general por una disminución en el volumen sincicial y ocasiona la contracción y el colapso de la pared sincicial; posteriormente, el espacio libre que queda es

ocupado sólo en parte por el tejido parenquimatoso circundante (Endo, 1964). El desarrollo sincicial en la región del *cambium* vascular de variedades susceptibles inhibe el crecimiento secundario tanto del xilema como del floema. Debido a que sólo una pequeña porción de la raíz puede ser atacada por muchas larvas, la gran cantidad de sincicios que se forman pueden ocasionar una disminución intensiva en los elementos conductores, lo que resulta en una menor producción y crecimiento deficiente del hospedante especialmente bajo condiciones de humedad (Endo, 1965).

También se ha señalado que, junto con la formación de sincicios, se presenta un depósito de secreciones del nematodo a través del estilete dentro del citoplasma en los tejidos afectados por *Heterodera glycines*, observándose estructuras semejantes a hilos de secreción tubulares que se extienden por lo regular dentro del citoplasma; además, el área que rodea al estilete suele encontrarse libre de organelos (Acedo *et al.*, 1984). Tales inclusiones citoplasmáticas asociadas con la cabeza del nematodo comúnmente suelen observarse en secciones de sincicios fijados entre los días 7-19, siendo aún más comunes del día 21 en adelante (Acedo *et al.*, 1984), muy cerca del término del ciclo de vida del nematodo.

En cuanto al efecto de los nematodos a nivel anatómico en variedades resistentes, se sabe que para el caso de *H. glycines*, pueden llegarse a producir sincicios que en pocos días degeneran y necrosan, principalmente en la periferia del haz vascular y en las regiones del córtex que son invadidas y estimuladas por las larvas infectivas. Las partes de la raíz que son desocupadas por los sincicios degenerados son ocupadas rápidamente por células parenquimatosas adyacentes con capacidad de dediferenciarse. En un estudio realizado con distintas poblaciones de *Heterodera glycines* en varias combinaciones de variedades de soja tanto resistentes como susceptibles, Acedo *et al.* (1984) observaron numerosas aberraciones en el patrón de desarrollo sincicial asociado con las hembras maduras en hospedantes resistentes con respecto a los hospedantes susceptibles. También observaron que se manifestaba una rápida necrosis como respuesta a la infección por el nematodo tanto en variedades resistentes como en variedades susceptibles, siendo más frecuente para el caso de plantas cuyas variedades son resistentes. Registraron además una necrosis tardía y la formación de sincicios pequeños en ambos tipos de hospedantes, además de que las hembras desarrolladas en soja de variedades resistentes se asociaron con un sincicio característicamente diferente al observado en raíces de hospedantes susceptibles.

Producto de varios estudios se ha observado que puede inducirse otro tipo de respuesta debido a la acción patógena de otros miembros de la Familia Heteroderidae en su hospedantes, siendo ésta la formación de la llamada "célula gigante uninucleada" (CGU). Esta estructura se ha observado en hospedantes de *Hylonema ivorense* Luc, Taylor & Cadet, 1978; *Sarisodera hydrophila* Wouts & Sher, 1971; *Meloidodera floridensis* Chitwood, Hannon & Esser, 1956; *M. mexicana* Cid del Prado-Vera, 1991; *M. zacanensis*, Cid del Prado-Vera, 1997; *Cryphodera utahensis* Baldwin, Mundo-Ocampo & Othman, 1983 y *Rhizonema sequoiae* Cid del Prado Vera, Lownsbery & Maggenti, 1984 (Cohn *et al.*, 1984; Heald, 1984; Cid del Prado y Lownsbery, 1984; Cid del Prado y Cárdenas, 1995; Mundo-Ocampo y Baldwin, 1983a; Mundo-Ocampo y Baldwin, 1983c; Mundo-Ocampo y Baldwin, 1984; Taylor *et al.*, 1978). Para el caso de *Meloidodera charis* Hopper, 1960, parasitando *Abelmoschus esculentus* y *Euphorbia glyptosperma*, se registra la formación de células gigantes unicelulares y por lo común multinucleadas (Heald, 1982). Con respecto a la célula gigante uninucleada se dice que presenta variaciones en algunos caracteres morfológicos internos, tales como la forma del núcleo y los nucleolos. Sin embargo, coinciden en la morfología de la pared celular en donde no se observa la presencia de sobrecrecimientos, similares a los descritos en las células de transferencia presentes en algunas plantas (Gommers y Dropkin, 1977) y que como se sabe, son comunes en reacciones inducidas por *Meloidogyne* y *Heterodera* (Gommers y Dropkin, 1977; Mundo-Ocampo y Baldwin, 1983). Existen evidencias que fundamentan la hipótesis de que tanto la CGU como el sincicio, no varían con relación al hospedante sino que probablemente reflejan caracteres fundamentales de las enzimas digestivas de los nematodos.

2. 6 EL GÉNERO *Globodera* EN MÉXICO

De acuerdo con Sosa-Moss (1985), para México existen registros de una especie morfológicamente similar al nematodo dorado, misma que fué descrita por Campos-Vela en 1967 como *Heterodera (Globodera) mexicana*. Sin embargo, debido a su descripción inadecuada ésta permanece como *inquerenda* ya que su descripción no es clara y no refleja una diferencia real con respecto a otras especies ya conocidas. De acuerdo con Golden y Ellington (1972), ésta es considerada coespecífica o un sinónimo de *G. virginiae*.

Quiñones (1979)⁴ menciona que con la identificación del nematodo dorado de la papa en el estado de Guanajuato por Sosa-Moss en 1971, se partió a realizar un trabajo conjunto entre Sosa-Moss del Colegio de Posgraduados, Lawrence I. Miller del Instituto Politécnico y la Universidad Estatal de Virginia, E. U. A., y Alan R. Stone de la Estación Experimental de Rothamsted en Inglaterra, llevándose al cabo muestreos en estados como Guanajuato, Tlaxcala, México y Nayarit. El fin era conocer si en especies silvestres de *Solanum* existían poblaciones de nematodos del género *Globodera*. Sus hallazgos fueron de gran importancia para las zonas productoras de tomate, papa, tabaco, berenjena y otras solanáceas cultivadas en México ya que las poblaciones encontradas potencialmente patógenas como el propio nematodo dorado lo es para la papa.

Por otro lado Brodie (1998), haciendo un recuento de la presencia de *G. rostochiensis* en México, menciona que el primer registro del nematodo dorado data de 1953 a partir de muestras de suelo de un cultivo de papa proveniente de León, Guanajuato. Muestreos posteriores en varias zonas de producción de papa revelaron que el nematodo dorado se encontraba en 46 localidades de 9 estados del territorio nacional, siendo Puebla, Tlaxcala y el Estado de México los estados con mayor número de áreas infestadas con dicho nematodo. En el Cuadro 2 se presentan las localidades de éstos y otros estados del país en donde el nematodo dorado se ha registrado como presente.

Cuadro 2. Localidades donde se ha registrado la presencia de *G. rostochiensis* en México.

Estado	Localidad
Coahuila	Arteaga.
Distrito Federal	Delegaciones Tlalpan y Milpa Alta.
Estado de México	Zinacatepec, Temascaltepec, Calimaya, San Antonio de la Isla, Santa María Rayón, Amanalco de Becerra, San Bartolo Morelos, Naucalpan, Donato Guerra, Lerma, San Felipe del Progreso, Valle de Bravo, Joaquicingo y Metepec.
Guanajuato	San Francisco del Rincón, Silao, Romita y Purísima del Rincón.
Hidalgo	Metztitlán.
Nuevo León	Galeana.
Puebla	Ixtacamaxtitlán, Saltillo Lafragua, Tlapanala, Guadalupe Victoria, Atzitzintla, Tehuacán, Chalchicomula de Sesna, Huitzilán de Serda y Tlachichuca.
Tlaxcala	Cupiactla, Altzayaca, El Carmen, Huamantla, Terrenate, Tlaxco y Santa Ana Chiautempan.
Veracruz	Perote, Ayahualulco, Altotonga, Coscomatepec y Xico.

Fuente: Brodie, 1998.

⁴ Quiñones, F. J. A. 1979. *Comparación morfométrica entre tres poblaciones mexicanas del género Globodera y las especies descritas del mismo*. Tesis de Maestría en Fitopatología. Colegio de Posgraduados, México. 74 pp.

Quiñones (1979)⁵, trabajando con tres poblaciones mexicanas pertenecientes al género *Globodera*, encontró que todas eran morfológicamente parecidas al “nematodo dorado de la papa”, pero sin reproducirse en dicha especie vegetal. Estas poblaciones, denominadas “Popocatepetl”, “Huamantla” y “Santa Ana” con base en la zona donde se les encontró, fueron capaces de reproducirse en papa silvestre y otras solanáceas, tales como jitomate, tomate y berenjena. Para el autor, la población “Popocatepetl” se asemejaba a *G. virginiae* pero presentaba ciertas diferencias que llevaron a considerarla como una nueva especie, misma que en el estudio no fué descrita. La población “Huamantla”, localizada en la misma localidad que *G. mexicana*, también fue considerada como una nueva especie al igual que la población “Santa Ana”, diferente tanto a la “Huamantla” como a *G. mexicana* pero que tampoco fué descrita como tal. Las tres poblaciones no atacaron al tabaco ni a la papa, permitiendo marcar diferencias notables con respecto a especies ya conocidas y descritas. De las tres poblaciones trabajadas por Quiñones, Thiéry *et al.* (1997) presentan a la de “Huamantla” y a la de “Santa Ana” como poblaciones de *G. mexicana*, consideradas así en la colección de donde provenían.

Globodera se encuentra ampliamente distribuido en hospedantes que son maleza tanto en México como en Centroamérica y se considera que corresponde principalmente a *G. t. virginiae*. Al parecer no es claro si también se encuentran subespecies adicionales en México o bien, si están presentes especies no descritas. Además, algunos aislamientos a partir de malezas en México, las cuales no infectan a la papa, son morfológicamente muy similares o casi idénticas a *G. pallida* (Baldwin & Mundo-Ocampo, 1991). Según Sosa-Moss (1985), *Globodera tabacum tabacum* junto con *G. tabacum solanacearum* y *G. tabacum virginiae* a menudo se presentan en localidades donde también se encuentra *G. rostochiensis*.

Todos estos registros reflejan que la taxonomía entre algunos grupos de *Globodera*, en particular entre el complejo *G. tabacum*, son muy confusas. Mucho se ha atribuido al hecho de que se presenta todo un continuo de variantes morfológicas en algunos miembros del género dada la hibridación que puede presentarse en condiciones experimentales y naturales; así, la ocurrencia de tales híbridos fértiles da lugar a que los individuos de dichas poblaciones presenten caracteres morfológicos y morfométricos traslapados.

⁵ Quiñones, F. J. A. 1979. *Comparación morfométrica entre tres poblaciones mexicanas del género Globodera y las especies descritas del mismo*. Tesis de Maestría en Fitopatología. Colegio de Posgraduados, México. 74 pp.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de investigación consistió de dos partes: 1) la descripción morfológica y morfométrica de los individuos de la población en estudio y 2) la descripción de las alteraciones a nivel de los tejidos de la raíz inducidas en su hospedante.

3. 1 DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA Y MORFOMÉTRICA

3. 1. 1 Zona de estudio

La presente especie de nematodos formadores de quistes proviene de la localidad llamada "La Cañada de Contreras", ubicada en los límites de una de las Reservas Ecológicas del Distrito Federal y perteneciente a la Delegación Magdalena Contreras (Figs. 1A y B). Dicha localidad se ubica en los 19° 17.968' latitud N y los 99° 16.701' longitud W, a una altitud de 2773.68 m (4 satélites, PDOP/HPOP=2.6). El clima de la zona de acuerdo con García (1981) es Cb(w₂)w(i)g, correspondiendo a un clima templado subhúmedo con verano fresco largo y régimen de lluvias en verano. La temperatura media anual oscila entre los 12 y los 18°C, con una oscilación anual de la temperatura media mensual menor a 5°C; la precipitación invernal respecto a la total anual es menor al 5%.

3. 1. 2 Hospedante natural de la especie en estudio

La presente especie de nematodos formadores de quistes se encontró asociada a raíces de *Jaltomata procumbens*. Se trata de una solanácea silvestre abundante en la zona de estudio principalmente en los meses lluviosos del año. Durante la época seca del año el follaje se seca y la fisonomía de la localidad cambia de manera notable. Lo que se observa en el campo son los tallos secos decumbentes y fijos débilmente en su base al sistema radical. Sus raíces son las estructuras de perennación de la planta ya que en la región cercana al cuello del tallo se presentan primordios foliares que se desarrollan conforme incrementa la humedad del suelo y dan origen a nuevo follaje (Fig. 1C). Esta estrategia de permanencia en la localidad es muy distinta de la que consiste en el crecimiento de plantas a partir de semilla mismas que, durante la época de estiaje, son liberadas cuando el fruto se seca por completo (observación personal).

Fué precisamente en el sistema radical, principalmente en sus raíces secundarias, donde se encontraron hembras blancas y posteriormente quistes adheridos a ellas. Este es el signo de la asociación establecida entre el nematodo y su hospedante (Fig. 2A-D).

A continuación se presenta la diagnosis del hospedante de la especie de *Globodera* presente en la “Cañada de Contreras”:

***Jaltomata procumbens* (Cav) J. L. Gentry (*Saracha jaltomata* Schlecht., *Saracha procumbens* (Cav) Ruiz & Pavón).** Hierba erecta o decumbente, glabra o escasamente pilosa; tallos gruesos, angulosos y algo succulentos, de 60 a 90 cm de largo en ocasiones más largos; hojas con peciolo de 0.5 a 5 cm de largo, algunas veces ligeramente alado; láminas alternas pero con frecuencia sobrepuestas, enteras o sinuado-dentadas, de forma ovalada a elíptica; glabras o escasamente pubescentes, de 4 a 12 cm de largo y de 3 a 8 cm de ancho, acuminadas en el ápice y atenuadas en la base; umbelas axilares con 2 a 8 flores actinomorfas, pedúnculos de 1 a 4 cm de largo, pedicelos de 1 a 2 cm de largo; caliz campanulado de 4 a 5 mm de largo en la floración, acrescente en el fruto y ampliamente abierto bajo la cápsula, de 2 a 2.5 cm de ancho, 5 lóbulos agudos; corola blanco-verdosa o de color paja con 5 lóbulos, limbo de 1 a 4 cm de ancho; estambres 5, insertos en el tubo, con filamentos de 3.5 a 4.5 mm de largo, densamente pubescentes en la base y más arriba glabros, sus anteras de 2 a 2.5 mm de largo se hallan separadas, dehiscentes por líneas longitudinales; estilo cerca de 5 mm de largo; estigma capitado, emarginado; ovario rodeado por un disco anular, bilocular, los óvulos son numerosos; baya glabra purpúrea o negra, de 10 a 12 mm de diámetro, subglobosa, muy jugosa, rodeada basalmente por el caliz persistente; semillas numerosas, de 1.5 a 2 mm de largo, lateralmente comprimidas, retículo-faveoladas. (“Jaltomate”). Pedregal de San Angel, Sierra de Guadalupe, El Chico, Tepeapulco, Tepetzotlán, Villa G. A. Madero a Tlalpan y Milpa Alta; Texcoco a Amecameca. Alt. 2250-3000 m. Se localiza en los bosques mesófilos y de coníferas perturbados y como maleza arvense. Se distribuye desde Jalisco, Querétaro y Veracruz hasta Panamá (Aguilar, 1985; Sánchez, 1979) (Figs. 3A-C).

3. 1. 3 Obtención y montaje de nematodos para el estudio morfológico y morfométrico

Los nematodos formadores de quistes comparten una morfología similar derivada de su nombre común a partir de la hembra globosa endoparásita y el hábito sedentario el cual

comienza con la larva del segundo estadio luego de su invasión a las raíces del hospedante y finaliza con el desarrollo de la hembra madura hacia un quiste lleno de huevos mediante el taninizado de su pared corporal.

Debido a que los quistes pueden extraerse con relativa facilidad del suelo y las larvas del segundo estadio a partir de los huevos que aquéllos contienen, la morfología de éstos dos estadios es de suma importancia en la taxonomía del grupo. Por otro lado, la morfología de la hembra es de menor importancia, la del macho es muy consistente entre los distintos géneros y especies de nematodos enquistadores y la de las larvas del tercero y cuarto estadio no se considera importante debido a su naturaleza efímera y a que no son muy accesibles por hallarse dentro de las raíces. Según Stone (1985), la caracterización de las especies dentro de los géneros en los nematodos enquistadores requiere tanto de quistes como de larvas del segundo estadio, en la mayoría de los casos con el uso de caracteres cuantitativos. Es importante mencionar que durante los estudios morfológicos y morfométricos pueden presentarse problemas relacionados con la variación inherente entre los miembros de una misma especie o bien, el traslapamiento de caracteres entre especies, lo que en ocasiones dificulta la identificación de algunas especies. Para Golden (1985), son tres los factores que hacen importantes a estos estadios del nematodo: 1) el quiste en los últimos años es el que se ha estudiado casi en su totalidad 2) el quiste, junto con su contenido, es persistente, permaneciendo viable en condiciones relativamente buenas condiciones por muchos años y 3) el quiste es el estado que se encuentra con mayor frecuencia en el campo sea cual sea la época del muestreo. Considera además, que el macho y la hembra son más difíciles de obtener que los quistes y desde antaño, han sido poco utilizados en estudios morfológicos y procesos de identificación. Con base en lo anterior, para la descripción de los individuos que constituyen a la población de Contreras se trabajó con los quistes y larvas del segundo estadio, a los que se sumaron estudios en hembras blancas, machos y huevos para contar con una descripción más completa.

Los pasos que se siguieron para la obtención de los estadios importantes en la descripción de la especie de *Globodera* presente en la “La Cañada de Contreras”, fueron diferentes de acuerdo a los estadios considerados:

Quistes

Algunos de ellos se extrajeron de raíces infestadas del hospedante natural pero principalmente de suelo previamente secado al ambiente. Para su extracción del suelo se utilizó el Flotador de Fenwick, además de la metodología descrita por Shepherd (1986) para separarlos de la materia orgánica remanente producto de la extracción (Apéndice A).

De los quistes se efectuaron cortes y montajes de la región terminal ya que la estructura de la vulva, fenestra y estructuras internas asociadas así como la forma general del quiste, son muy útiles para la identificación de este grupo de heterodéridos (Golden, 1985, Green, 1971; Mulvey, 1957, 1972, 1973 y 1974). De esta manera, dichos montajes se realizaron siguiendo la técnica descrita por Hooper (1986c), haciendo los montajes en gelatina glicerizada (Apéndice A).

Para la caracterización de los individuos de la población de Contreras, se eligieron las características utilizadas en algunas de las descripciones y redescripciones de las diferentes especies de *Globodera* y que también fueron consideradas por Quiñones (1979) para la descripción de tres especies de *Globodera* de diferentes localidades; así pues, los trabajos tomados como base fueron los de Lownsbery y Lownsbery (1954); Miller y Gray (1968, 1972); Golden y Ellington (1972); Golden y Klindic (1973); Stone (1973) y Mota y Eisenback (1993a, b y c). También, y de acuerdo con los estudios antes mencionados, de cada carácter se calcularon la media y la desviación estándar, mismas que se utilizaron para calcular intervalos de confianza de cada uno de los caracteres medidos (Fortuner, 1984). La caracterización de la población se hizo con base en 20 ejemplares en fresco y 20 ejemplares deshidratados y montados en láminas de Cobb, de cada estadio (Golden y Ellington, 1972 y Quiñones, 1979).

Hembras blancas

Éstas se separaron tanto de suelo adherido a las raíces de *J. procumbens* como de las mismas raíces donde se observaba que estaban presentes; para ello se empleó un pincel fino y un par de jeringas de insulina y bajo el microscopio de disección se colocaron en un recipiente con agua para evitar su deshidratación (Apéndice A). Una parte de las hembras obtenidas se destinó para montajes temporales y la otra parte para montajes permanentes. Una parte de las

hembras destinadas a montajes permanentes se disectó para obtener huevos embrionados y larvados.

Para ambos tipos de preparaciones, se hicieron tanto montajes de ejemplares enteros como montajes de cuellos y fenestralias juntos para que puedan tomarse las medidas correspondientes. Para esto se siguió la técnica descrita por Quiñones (1979) y Hooper (1986c) (Apéndice A).

Machos

La extracción de machos se realizó procesando suelo de la localidad y suelo contenido en algunas macetas con plantas de *Jaltomata procumbens* mantenidas en invernadero; para ello también se utilizó la técnica de tamizado-centrifugado (Hooper, 1986a). Algunos machos se procesaron para realizar preparaciones temporales y otros para preparaciones permanentes tal y como se mencionó en el caso de las larvas del segundo estadio y huevos.

Larvas del segundo estadio

Las larvas del segundo estadio se obtuvieron a partir de suelo de la localidad procesado mediante la técnica de tamizado-centrifugado descrita por Hooper (1986a) (Apéndice A). Cierta cantidad de larvas se separó directamente para realizar preparaciones temporales y así poder hacer las observaciones y tomar las medidas pertinentes. El resto de las larvas se destinó para realizar preparaciones permanentes en láminas de Cobb ya que permiten buenas observaciones a grandes aumentos por ambos lados de los ejemplares (Fortuner, 1991). Dichas preparaciones se sellaron por medio del método del anillo de cera (Hooper, 1986c; Turner, 1998) (Apéndice A). Para matarlos y fijarlos, las larvas se calentaron a una temperatura aproximada de 65°C y se les adicionó formol frío al 4% ya que ello causa cambios dimensionales mínimos y preserva el material en buen estado (Stone, 1971). Para la deshidratación y montaje de los organismos se utilizó la técnica de glicerol-etanol de Seinhorst (1959) modificada por Tom Burger (1997) (Cid del Prado, 1998 comunicación personal) (Apéndice A) y que consiste en la deshidratación masiva del material, facilitando el manejo de las muestras y disminuyendo el tiempo de deshidratación sin detrimento en la calidad de los ejemplares procesados.

Éstos se obtuvieron rompiendo varios quistes para luego montarse en agua empleando pequeños fragmentos de fibra de vidrio entre el cubreobjetos y el portaobjetos con el fin de evitar que se aplastaran. Estas preparaciones temporales (Apéndice A) se hicieron para realizar las mediciones en fresco. Las preparaciones se hicieron tanto de huevos embrionados como de huevos larvados. De ambos tipos de huevos se hicieron también preparaciones permanentes (Apéndice A)

Para comparar las características de los individuos de la población de Contreras con las de las especies descritas dentro del género *Globodera*, se hizo utilizaron el valor promedio y la desviación estándar de cada carácter elegido y de algunos índices propuestos por Man (Caveness, 1974) (Apéndice A). Entre los caracteres para cada estadio importante en la descripción de la población se consideraron:

a) Quistes:

- Color y forma.
- Largo del cuerpo –incluyendo el cuello- (Índice L).
- Ancho mayor del cuerpo (a la mitad del cuerpo).
- Longitud del cuerpo / ancho mayor del cuerpo (Índice a).
- Patrón de anulación de la pared a nivel medio del cuerpo.
- Estructura de la pared (presencia o no de capa subcristalina)
- Longitud del cuello.
- Largo y ancho de la fenestra.
- Diámetro de la fenestra ($\text{largo más ancho}/2$).
- Distancia del ano al margen más cercano de la fenestra.
- Radio de Granek: Distancia del ano al borde más cercano de la fenestra / diámetro de la fenestra (Golden y Ellington, 1972; Golden y Klindic, 1973; Hesling, 1973; Miller y Gray, 1968, 1972; Stone, 1973).
- Número de estrías (y tipo de patrón) entre el ano y la fenestra.

b) Hembras blancas:

- Color y forma del cuerpo.

- Largo del cuerpo –incluyendo el cuello- (Índice L).
- Ancho mayor del cuerpo.
- Longitud del cuerpo / ancho mayor del cuerpo (Índice a).
- Patrón de anulación de la pared a nivel de la cabeza, cuello y a medio cuerpo.
- Longitud del cuello.
- Distancia del extremo de la cabeza a la mitad del bulbo medio
- Distancia del extremo de la cabeza al poro excretor.
- Largo y ancho del bulbo medio.
- Cabeza:
 - Altura.
 - Ancho a nivel de su base.
 - Continua o no y características del esqueleto cefálico.
 - Número de anillos.
 - Tamaño y naturaleza del disco labial y de la región labial.
- Estilete:
 - Largo, ancho y forma de los nódulos.
- Desembocadura de la glándula esofágica dorsal (DGED).
- Largo de la abertura vulvar.
- Largo y ancho de la fenestra (hembras grávidas).
- Distancia vulva-ano.
- Diámetro de la fenestra (largo más ancho/2) (en hembras grávidas).
- Distancia del ano al margen más cercano de la fenestra.
- Número de estrías (y tipo de patrón) sobre el eje ano-vulva.

c) Machos:

- Largo del cuerpo (Índice L). Forma del cuerpo.
- Ancho mayor del cuerpo.
- Longitud del cuerpo / ancho mayor del cuerpo (Índice a).
- Ancho a la altura del poro excretor.
- Distancia del extremo de la cabeza a la mitad del bulbo medio
- Distancia del extremo de la cabeza al poro excretor.
- Cabeza:
 - Altura.

- Ancho a nivel de su base.
- Continua o no y características del esqueleto cefálico.
- Número de anillos.
- Tamaño y naturaleza del disco labial y de la región labial.
- Ubicación de las cefalidias.
- Estilete:
 - Largo, ancho y forma de los nódulos.
- Desembocadura de la glándula esofágica dorsal (DGED).
- Longitud total del cuerpo / Longitud de esófago -desde cabeza al término de glándulas esofágicas- (Índice b').
- (Longitud de la desembocadura de la glándula esofágica dorsal a partir de los nódulos del estilete / longitud del estilete) X100 (Índice O).
- Campo lateral:
 - Ancho a la mitad del cuerpo.
 - Presencia o ausencia de areolaciones.
- Longitud del testículo.
- (Longitud del testículo / longitud total del cuerpo) X 100 (Índice T)
- Espículas:
 - Longitud (a lo largo de la línea media).
 - Naturaleza de las puntas (redondeadas, dentadas)
- Longitud del gubernaculo.
- Localización y forma de los fasmidios.
- Cola:
 - Longitud y forma.
 - Longitud de la cola / ancho del cuerpo a nivel de la cloaca (Índice c')
- Longitud del cuerpo / largo de la cola (Índice c).

d) Larvas del segundo estadio:

- Largo del cuerpo (Índice L).
- Ancho mayor del cuerpo.
- Longitud del cuerpo / ancho mayor del cuerpo (Índice a).
- Ancho a la altura del poro excretor.
- Distancia del extremo de la cabeza al centro de la válvula del bulbo medio.

- Distancia del extremo de la cabeza a la terminación de la glándula esofágica dorsal.
- Distancia del extremo de la cabeza al poro excretor y al hemizonidio y la relación entre ambos.
- Longitud total / longitud de la glándula esofágica.
- Cabeza:
 - Altura.
 - Ancho a nivel de su base.
 - Continua o no y características del esqueleto cefálico.
 - Número de anillos.
 - Tamaño y naturaleza del disco labial y de la región labial.
 - Ubicación de los cefalidios.
- Estilete:
 - Largo, ancho y forma de los nódulos.
- Desembocadura de la glándula esofágica dorsal (DGED).
- Longitud total del cuerpo / Longitud de esófago -desde cabeza al término de glándulas esofágicas- ({Índice b'}).
- (Longitud de la desembocadura de la glándula esofágica dorsal a partir de los nódulos del estilete / longitud del estilete) X100 (Índice O).
- Campo lateral:
 - Ancho a la mitad del cuerpo.
 - Número de incisuras.
 - Presencia o ausencia de areolaciones.
 - Características a nivel de la cola.
- Primordio genital (número de células y localización). Distancia cabeza-primordio genital.
- Cola:
 - Longitud y forma.
 - Fasmidios : localización, tamaño y forma.
 - Ancho de la cola a nivel del ano.
 - Región hialina (largo y forma en que termina).
 - Largo de la región hialina / ancho al inicio de ésta (Índice h').
 - Longitud de la cola / ancho del cuerpo a nivel del ano (Índice c').
 - Longitud de la región hialina (Índice h).

- Longitud del cuerpo / longitud de la cola (Índice c).

e) Huevos (embrionados y larvados):

- Longitud.
- Ancho mayor.
- Relación largo/ancho.
- Descripción de su forma y del patrón presente a nivel del corion.

Para realizar los dibujos de los principales estadios y hacer las mediciones de los mismos, se utilizó una cámara clara tal y como la que ilustra Thorne (1961) y el curvímeter, haciendo las correcciones de escala pertinentes (Fortuner, 1991) (Apéndice A). También se hicieron dibujos de ejemplares de cada estadio utilizando la cámara clara con el fin de completar la descripción, resaltando los caracteres ya mencionados y considerados por otros autores (Golden y Ellington, 1972; Golden y Klindic, 1972; Lownsbery y Lownsbery, 1954; Miller y Gray, 1968, 1972; Quiñones, 1979; Stone, 1973). Finalmente, se tomaron fotografías de cada uno de los materiales utilizando un tessorar Carl Zeiss con cámara integrada C35M para los quistes, hembras blancas y raíces con quistes y hembras; para el caso de preparaciones temporales y permanentes, se tomaron fotografías con la ayuda de un fotomicroscopio Carls Zeiss para fotomicrografía.

Todo el procesamiento anterior del material se realizó con el fin de trabajarlo bajo microscopía de luz pero otra parte se destinó para microscopía electrónica de barrido y así poder observar caracteres adicionales útiles en la la caracterización de los individuos pertenecientes a la población de Contreras y hacer una descripción más completa (Apéndice A). De acuerdo con Golden (1985), la microscopía electrónica de barrido suele utilizarse para observaciones ultraestructurales, siendo muy útil en mostrar detalles superficiales y permitiendo contar con una base más sólida para la identificación de las especies. Para Mulvey (1974) el uso de la microscopía mlectrónica de marrido facilita el estudio de estructuras finas del cono terminal tanto en hembras blancas como en quistes y es de gran importancia desde el punto de vista taxonómico dentro del género *Globodera*. Así pues, para dichos estudios, parte del material extraído se procesó mediante la técnica propuesta por Eisenback (1991) utilizando glutaraldehído al 4% como fijador; otra parte se procesó utilizando formaldehído al 4%. El material se secó utilizando una secadora en punto crítico

(Samdri-780A) y se observaron, luego de ser bañados con oro, en un microscopio electrónico de barrido (JEOL 35-C) (Apéndice A).

Las observaciones con el microscopio electrónico de barrido permitieron poner en evidencia: el patrón frontal de la región labial, los campos laterales (número de incisuras y presencia o no de aerolación), las anulaciones del cuerpo y las aberturas sensoriales tanto de las larvas del segundo estadio como de los adultos; también se observó la forma de las espículas y naturaleza de sus puntas (en el caso de los machos), el arreglo de los anillos en el área terminal y en el eje vulva-ano (tanto de hembras como de quistes), el número, forma y arreglo de los tubérculos perineales así como el área alrededor de la abertura vulvar, de mejor nitidez en hembras grávidas (Green, 1971; Mulvey, 1973; Othman y Baldwin, 1985; Othman, *et al.*, 1986; Stone, 1975).

3. 2 ALTERACIONES A NIVEL DE LOS TEJIDOS DE LA RAÍZ CAUSADAS POR *Globodera* sp. EN *Jaltomata procumbens*.

3. 2. 1 Obtención de muestras

En el área de estudio se recolectaron varias plantas para observar si en su sistema radical se presentaban hembras blancas adheridas; para dicha recolecta se tuvo cuidado de no manipular bruscamente las raíces y evitar así que las hembras se cayeran del tejido radical. En esta fase fue importante hacer la revisión *in situ* de cada raíz obtenida con el fin de percatarse de la presencia o no de las mencionadas hembras adultas, característicamente de color blanco. Esta revisión pudo realizarse a simple vista pero además se contó con el auxilio de una lupa de gran aumento. Una vez detectadas las hembras, las raíces se limpiaron con agua y una brocha de pelo suave para remover la mayor cantidad posible de partículas de suelo. Dichas raíces se separaron del follaje y se fijaron inmediatamente en solución FAA dentro de frascos de plástico con tapa (1 l) debidamente etiquetados para su transporte hacia el laboratorio. Otra parte del material con el cual también se trabajó en esta fase provino de plantas mantenidas en invernadero a una temperatura entre 25-30°C, mismas que fueron traídas directamente de la localidad y colocadas en macetas de 3 kg con suelo esterilizado y suelo naturalmente infestado de la localidad en una proporción de 4:1. Para las plantas mantenidas en invernadero, éstas se sacaron de las macetas justo cuando estaban en floración, tiempo que corresponde con la emergencia de las hembras blancas del tejido radical. Las raíces de las

plantas, ya sea que estuvieran previamente fijadas o no, se examinaron bajo un microscopio de disección para localizar los fragmentos en los cuales se encontraban hembras blancas emergiendo del tejido radical. Dichos fragmentos se cortaron de tal manera que quedara la hembra y aproximadamente unos 5 mm de raíz hacia ambos lados de la misma; en el caso de que se presentara más de una hembra, los fragmentos que se cortaron eran de mayores dimensiones.

3. 2. 2 Procesamiento del material.

El material se mantuvo en FAA aproximadamente 7 días (Cid del Prado y Lownsbery, 1984). Posterior a la fijación, las raíces se observaron bajo el microscopio de disección para seleccionar sólo las zonas radicales donde se observaban las hembras blancas.

Todos los fragmentos se deshidrataron a través de una serie de etanoles a partir de alcohol al 50% (Castillo, 1982)⁶ y luego se embebieron en parafina (Paraplast SIGMA punto de fusión 55-57°C) (Cohn *et al.*, 1984; Heald, 1984). Los fragmentos embebidos se cortaron a un grosor de 10-12 μm con un micrótopo de deslizamiento AO-820 (AMERICAN OPTICAL). Los cortes se tiñeron mediante la técnica de safranina-verde rápido (Cid del Prado y Lownsbery, 1984; Cohn, *et al* 1984; Heald, 1984), combinación recomendada para raíces y tallos, además de ser particularmente buena para el floema. De acuerdo con Berlyn y Miksche (1976) la safranina sirve para teñir esencialmente paredes celulares lignificadas y cutinizadas en tanto que el verde rápido es útil para teñir paredes celulares celulósicas y citoplasma. El montaje de las preparaciones se hizo en resina sintética al 60% en tolueno (SIGMA) (Apéndice A). El mismo procesamiento se siguió para los fragmentos de raíces no infectados; además, se cortaron fragmentos de raíces en fresco con un micrótopo de congelación con el fin de complementar las observaciones del tejido radical no infectado (Apéndice A). Las plantas libres de nematodos, fueron mantenidas en invernadero.

Cabe hacer mención que para el procesamiento del material se embebieron fragmentos de raíz de tal forma que se obtuvieran cortes tanto transversales como longitudinales, con el fin de integrar las observaciones de cada plano; de esta manera, con ambos tipos de cortes se

⁶ Castillo, P. G. 1982. *Histopatología y desarrollo de Nacobbus aberrans Thorne & Allen, 1944, en raíces de Capsicum annuum y C. baccatum*. Tesis. Colegio de Posgraduados Chapingo, México.

permitió poner en evidencia la relación de las hembras adultas con las células de los tejidos radicales de las cuales se nutren.

Cada laminilla resultante se examinó al microscopio de luz y se tomaron las fotografías pertinentes que permitieran hacer el análisis de las alteraciones a nivel anatómico en las raíces de *Jaltomata procumbens*. Dicho análisis contempló observaciones tales como: la ubicación de las hembras en relación a los diferentes tejidos radicales y a las células de las cuales se alimentan; forma, tamaño y características tanto de la pared celular como del contenido citoplasmático de dichas células; forma, número y tamaño de núcleos y nucleolos, entre otras observaciones. Todas ellas se compararon con observaciones y mediciones en cortes de tejido proveniente de raíces no infectadas por nematodos. Para la obtención y procesamiento de las laminillas se contó con la asesoría del personal e infraestructura del Laboratorio de Histopatología del IFIT.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA Y MORFOMÉTRICA

Los resultados obtenidos en cuanto a la morfología y morfometría de los diferentes estadios considerados se presentan a continuación. Cabe hacer mención que las medidas de los caracteres tomados en cuenta para la morfometría están dadas en micra.

Quistes (n = 40): Largo del cuerpo (incluyendo el cuello): 739.0 ± 35.6 (458.9-935.7). Ancho del cuerpo: 577.9 ± 40.1 (295.6-748.8). Longitud del cuerpo/ancho mayor del cuerpo (Índice a): 1.3 ± 0.1 (1.1-1.6). Longitud del cuello: 123.6 ± 5.8 (99.9-192.3). Largo de la vulva (n = 27): 13.6 ± 0.5 (12.0-14.8). Largo de la fenestra (n = 27): 27.8 ± 1.1 (22.0-35.2). Ancho de la fenestra (n=27): 26.1 ± 1.3 (20.0-35.6). Diámetro de la fenestra (largo más ancho/2) (n=27): 27.0 ± 1.0 (22.0-35.4). Distancia del ano al margen más cercano de la fenestra (n=27): 47.5 ± 4.6 (34.0-80.0). Número de estrías entre el ano y la fenestra (n = 27): 10.7 ± 0.7 (8.0-15.0). Radio de Granek (distancia del ano al borde más cercano de la fenestra / diámetro de la fenestra) (n = 27): 1.8 ± 0.1 (1.3-2.7).

Quistes en su mayoría esféricos y grandes, principalmente aquellos que se observan llenos de huevos. Los quistes más pequeños por lo regular tienden a ser de forma ovoide y muchos de ellos se encuentran vacíos. Algunos quistes presentan un color café oscuro, otros se observan de color café claro y también los hay de color ocre. En todos el cuello es evidente, desde largo y delgado hasta corto y robusto (Fig 4A). Se observan estrías a nivel medio del cuerpo que son longitudinales respecto al eje cabeza-región perineal (Fig. 4B) pero que cambia hacia la región perineal donde se observa que forman círculos concéntricos en torno a la zona de la fenestra. En la cutícula se observan cuatro capas: la más externa presenta estrías verticales y es más oscura que las demás; por debajo se encuentra una segunda de aspecto granular y de color más claro; más abajo se encuentra una tercer capa misma que es hialina y un poco más oscura que la segunda; finalmente, la capa más interna es muy delgada (Fig.4C).

En la región perineal se observa que la fenestra es de forma circular con pequeños tubérculos sumamente agrupados y ubicados tanto en la región dorsal, donde son muy abundantes, como en la región ventral de la abertura vulvar. Ano conspicuo y bien delimitado por pequeñas estrías paralelas. Las estrías entre la vulva y el ano son paralelas y pocas de ellas se anastomosan entre sí; además, se observa que dichas estrías se hallan flanqueadas por estrías paralelas al eje vulva-ano y que delimitan la región vulvar. A nivel de la superficie de la cutícula, en la región perineal, se observan puntuaciones conspicuas y abundantes. En algunas zonas dichas puntuaciones tienden a seguir la dirección del patrón de anillos. Por detrás del eje vulva-ano, las estrías transversales son concéntricas y no se anastomosan entre sí; por delante del mismo eje, el patrón de estrías transversales cambia y se observan estrías longitudinales conformando una franja, misma que se evidencia por el hecho de que inmediatamente después de ella se presentan de nuevo estrías en sentido transversal y que se anastomosan formando una red (Figs. 4d-f).

Hembras blancas (n = 50): Largo del cuerpo (incluyendo el cuello): 653.4 ± 26.7 (152.0-836.0). Ancho mayor del cuerpo: 487.5 ± 17.7 (368.0-620.0). Longitud del cuerpo/ancho mayor del cuerpo (Índice a): 1.4 ± 0.1 (0.4-1.7). Longitud del cuello: 136.2 ± 7.9 (76.0-196.0). Distancia del extremo de la cabeza a la mitad del bulbo medio (n = 41): 87.4 ± 3.0 (73.2-106.4). Distancia del extremo de la cabeza al poro excretor (n = 30): 144.2 ± 3.7 (129.2-169.2). Largo del bulbo medio (n = 41): 34.6 ± 1.9 (24.8-52.4). Ancho del bulbo medio (n = 41): 30.1 ± 1.1 (24.8-36.4). Altura de la cabeza (n = 37): 2.7 ± 0.3 (1.6-4.0). Ancho de la cabeza en su base (n = 37): 6.8 ± 0.4 (4.8-9.6). Largo del estilete (n = 36): 24.5 ± 0.7 (21.6-28.0). Largo de los nódulos basales (n = 36): 2.5 ± 0.3 (1.6-4.0). Ancho de los nódulos basales (n = 36): 4.3 ± 0.3 (2.0-7.6). DGED (n = 23): 7.8 ± 0.3 (6.0-9.2). Largo de la abertura vulvar: 12.6 ± 0.4 (9.6-14.8). Largo de la fenestra: 21.6 ± 0.8 (15.2-28.4). Ancho de la fenestra: 22.8 ± 0.8 (16.8-28.4). Distancia vulva-ano: 49.3 ± 2.4 (36.0-72.0). Diámetro de la fenestra (largo más ancho/2): 22.2 ± 0.7 (16.4-28.4). Distancia del ano al margen más cercano de la fenestra: 39.5 ± 2.2 (28.0-60.0). Número de estrías sobre el eje ano-vulva: 11.9 ± 0.5 (8.0-15.0) (Fig. 5A-C).

Hembras de grandes a medianas, principalmente esféricas aunque algunas se observan de forma ovoide; característicamente presentan un color blanco, mismo que cambia debido al proceso de taninizado. Durante dicho proceso algunas adquieren un color amarillo claro y

otras un color rosado; posteriormente, las hembras adquieren un color café claro para finalmente tomar ya sea un color ocre o bien, un café oscuro (Fig. 6A). La cabeza se constituye por dos anillos y el esqueleto cefálico es débilmente esclerosado (Fig. 6B). Disco labial rectangular con esquinas lobuladas, en dos de sus lados también se observan lóbulos un poco menos pronunciados (Fig. 7A).

Glándulas esofágicas en forma de un simple lóbulo reducido. El estilete es largo y fuerte, grueso en su base y con nódulos basales prominentes, redondeados y dirigidos hacia la región posterior formando un ángulo de 136.5° con respecto al eje longitudinal del estilete. En la base del cuello el patrón de estriás cambia de transversal a longitudinal, patrón que se observa de manera regular a nivel medio del cuerpo (Fig. 6C). También en la base del cuello es posible observar el poro excretor, el cual es más o menos ovoide y conspicuo (Fig. 7B). La cutícula se compone de dos capas: una superior oscura y con estriás verticales y una inferior de aspecto granuloso más clara y gruesa que la superior. Grosor de la cutícula en la base del cuello igual a $9.10 \pm 1.67 \mu\text{m}$ (7.60-10.0) (Fig. 6D).

En la región perineal la fenestra se observa de forma circular con bordes que tienden a estrecharse; se observan pequeños tubérculos amontonados tanto en la región dorsal, donde son muy conspicuos y abundantes, como en la región ventral de la abertura vulvar (Fig 7C). Son evidentes la abertura vulvar y las barras transfenestrales. El ano se encuentra bien delimitado por pequeñas estriás paralelas. Las estriás entre la vulva y el ano son paralelas con pocas anastomosis entre sí (Figs. 6E y 7D). Se observan puntuaciones conspicuas y abundantes en la superficie de la cutícula. En los cortes de la región perineal se observa que por debajo de la fenestra se presentan sobrecrecimientos que rodean y salen a partir de dicha zona; tales sobrecrecimientos asemejan vesículas que de acuerdo con Mulvey (1973), se denominan cuerpos vulvares (Fig. 6F). Mulvey (1973) considera que estos cuerpos con endocuticulares asociados al área vulvar de las hembras blancas. En el presente caso estos cuerpos se arreglan asimétricamente alrededor de la vulva. Al parecer tiene una función secretora y se pueden atrofiar cuando su función cesa; de hecho ya no son evidentes cuando la hembra está madura y posteriormente se transforma en quiste.

Huevos embrionados (n = 67): Longitud: 113.5 ± 2.3 (94.0-133.0). Ancho mayor: 44.2 ± 0.8 (39.0-50.0). Relación largo/ancho: 2.6 ± 0.1 (2.0-3.1).

Huevos de forma elipsoide alargada, presentándose en algunos de ellos cierta reducción en su anchura hacia la zona central. Extremos redondeados. Corion de los huevos liso, sin ninguna marca visible en su superficie. Los huevos en su interior presentan una masa multicelular y en algunos de ellos se evidencian grupos definidos de células (Fig. 8A-B).

Huevos larvados (n = 66): Longitud: 115.5 ± 1.9 (100.0-145.0). Ancho mayor: 47.9 ± 1.0 (41.0-60.0). Relación largo/anchura: 2.4 ± 0.1 (2.0-2.9).

Huevos de forma elipsoide alargada, con una ligera constricción en su región media. Presentan extremos redondeados y con corion liso; sin marcas evidentes en su superficie. Se observa que las larvas presentan 5 dobleces lo que da lugar a que las mismas se hallen dobladas en 6 segmentos. En algunas larvas es posible observar el esqueleto cefálico, su estilete largo con nódulos fuertes y evidentes así como el bulbo medio (Fig. 8C-D).

Machos (n = 40): Largo del cuerpo (Índice L): 1016.8 ± 26.6 (819.2-1186.4). Ancho mayor del cuerpo: 32.1 ± 1.6 (24.4-44.0). Longitud del cuerpo/anchura mayor del cuerpo (Índice a): 32.5 ± 1.9 (22.9-41.3). Ancho del cuerpo a la altura del poro excretor: 27.7 ± 1.1 (22.4-36.0). Distancia del extremo de la cabeza a la mitad del bulbo medio: 83.3 ± 2.7 (63.6-103.2). Distancia del extremo de la cabeza al poro excretor: 141.4 ± 5.0 (96.4-169.9). Distancia del extremo de la cabeza al hemizonidio (n = 14): 140.9 ± 7.8 (112.4-153.6). Altura de la cabeza: 6.2 ± 0.4 (4.4-8.4). Ancho de la cabeza en su base: 11.3 ± 0.3 (8.4-12.4). Longitud del estilete: 24.2 ± 0.7 (18.8-28.0). Largo de los nódulos basales: 2.1 ± 0.2 (1.6-3.2). Ancho de los nódulos basales: 4.4 ± 0.1 (3.6-5.2). DGED (n = 22): 4.7 ± 0.2 (4.0-6.4). Longitud del testículo: 460.6 ± 43.7 (206.0-751.6). (Longitud del testículo/longitud total del cuerpo)X100 (Índice T): 44.9 ± 11.9 (22.5-66.4). Longitud de las espículas: 31.1 ± 1.2 (24.4-42.0). Longitud del gubernaculum (n = 20): 11.1 ± 0.5 (8.8-12.0). Longitud de la cola: 4.1 ± 0.4 (2.4-7.6). Ancho de la cola: 13.9 ± 0.8 (8.4-19.6). Longitud de la cola/anchura del cuerpo a nivel de la cloaca (Índice c'): 0.3 ± 0.0 (0.2-0.5). Longitud del cuerpo/largo de la cola (Índice c): 268.6 ± 26.2 (134.9-459.7) (Fig. 9A-C).

Cuerpo vermiforme, largo y que presenta torsión hacia la mitad posterior del cuerpo (Fig. 10A). Hacia la región anterior se observa que el cuerpo se estrecha, abarcando dicha zona los primeros 8 anillos corporales los cuales además presentan cierto grado de

anastomosis. Cabeza alta, constituida por 5 anillos además de los pseudolabios y el disco labial (Fig. 11A). Disco labial más o menos circular, con pseudolabios laterales rectangulares y bien definidos; tanto los pseudolabios subdorsales como los subventrales están separados, no fusionados (Fig. 11B). Esqueleto cefálico fuertemente esclerosado. Cefalidios anteriores ubicados en el tercer anillo y las posteriores entre el noveno y el onceavo. Glándulas esofágicas cortas y sobrepuestas ventralmente. Bulbo medio alargado. Poro excretor evidente y anterior a él se ubica el hemizonidio, abarcando los anillos 75-77 a partir de la región anterior. No se observó el hemizonion. Estilete largo con nódulos evidentes, de aspecto periforme cuando se observan lateralmente. Nódulo dorsal conspicuo, redondeado, los subventrales también redondeados, no tan alargados, y dirigidos posteriormente (Fig. 10B).

Campo lateral constituido por 4 incisuras longitudinales donde las dos más externas son crenadas. El campo lateral se halla regularmente areolado entre ambos pares de incisuras externas, pero no entre las dos incisuras internas (Fig. 11C). Ancho del campo lateral en la parte media del cuerpo igual a $7.28 \pm 0.38 \mu\text{m}$ (6.40-8.00), abarcando el 23% del ancho del cuerpo. El campo lateral inicia con una sola incisura aproximadamente a partir del octavo anillo del cuerpo para luego ensancharse y constituirse en tres bandas (con sus respectivas cuatro incisuras); el campo lateral se presenta hasta muy cerca del término de la cola. Testículo largo, casi equivalente al 50% de la longitud del cuerpo. El testículo es angosto en su porción anterior y se ensancha hasta ocupar casi todo el ancho del cuerpo en su región media. Espículas curvadas ventralmente, anchas en su base, con lámina alargada y puntas más o menos redondeadas y agudas (Fig. 10C). Fasmido precloacal pequeño y circular ubicado muy cerca de la región terminal del cuerpo. Cola muy corta y redondeada, con una protuberancia central poco evidente (Fig. 11D).

Larvas del segundo estadio (n = 59): Largo del cuerpo (Índice L): 484.6 ± 6.9 (441.8-552.8). Ancho mayor del cuerpo: 19.2 ± 0.6 (16.0-24.0). Longitud del cuerpo/ancho mayor del cuerpo (Índice a): 25.5 ± 0.6 (20.4-31.1). Distancia del extremo de la cabeza al centro de la válvula del bulbo medio: 67.6 ± 1.2 (54.0-82.6). Distancia del extremo de la cabeza al poro excretor: 101.5 ± 2.2 (86.8-139.9). Ancho del cuerpo a nivel del poro excretor: 18.4 ± 0.5 (15.2-24.0). Distancia del extremo de la cabeza al término de la glándula esofágica dorsal: 187.7 ± 3.9 (153.2-228.7). Longitud total/longitud de la glándula esofágica: 2.6 ± 0.1 (2.2-3.1). Altura de la cabeza: 4.3 ± 0.1 (3.2-5.6). Ancho de la cabeza en su base: 9.2 ± 0.2 (8.0-

11.6). Longitud del estilete: 22.6 ± 0.5 (18.4-26.8). Largo de los nódulos basales: 2.1 ± 0.1 (1.6-3.2). Ancho de los nódulos basales: 4.3 ± 0.1 (3.6-6.0). DGED (n = 42): 6.8 ± 0.2 (5.6-8.0). Longitud total del cuerpo/longitud de esófago -desde cabeza al término de glándulas esofágicas- (Índice b'): 2.6 ± 0.1 (2.3-3.1). (Longitud de la desembocadura de la glándula esofágica dorsal a partir de los nódulos del estilete/longitud del estilete)X100 (Índice O) (n = 42): 31.2 ± 1.3 (25.0-41.3). Longitud del primordio genital (n = 42): 16.7 ± 0.6 (12.0-20.0). Distancia del extremo de la cabeza a la mitad del primordio genital (n = 42): 269.9 ± 5.6 (236.8-304.5). Localización del primordio genital (%) (n = 42): 55.7 ± 0.7 (50.0-60.3). Longitud de la cola: 56.2 ± 1.1 (45.2-66.0). Ancho de la cola a nivel del ano: 11.5 ± 0.3 (8.8-13.6). Longitud de la región hialina (Índice h): 32.2 ± 1.0 (24.8-41.2). Ancho de la región hialina en su inicio: 7.1 ± 0.2 (5.2-8.4). Largo de la región hialina/ancho de la región hialina (Índice h'): 4.6 ± 0.2 (3.3-5.8). Longitud de la cola/ancho del cuerpo a nivel del ano (Índice c'): 4.9 ± 0.1 (4.2-6.2). Longitud del cuerpo/longitud de la cola (Índice c): 8.6 ± 0.1 (7.5-10.2) (Fig. 12A-D).

Cuerpo alargado, con región anterior ancha y redondeada y región posterior delgada y terminada en punta. Anillos del cuerpo evidentes (Fig. 13A). Cabeza separada del cuerpo, hemiesférica, constituida por cuatro anillos además de los pseudolabios y el disco labial (Fig. 14A). Disco labial que tiende a ser octagonal con aristas redondeadas y abertura bucal rectangular. Pseudolabios laterales más o menos cuboidales. Pseudolabios subdorsales fusionados y los subventrales separados (Fig. 14B). Esqueleto cefálico fuertemente esclerosado. Cefalidias anteriores ubicadas en el tercer anillo corporal y posteriores ubicadas entre el sexto y el octavo. Bulbo medio redondo y conspicuo, ocupando toda la cavidad del cuerpo. Glándulas esofágicas alargadas y ocupando casi todo el ancho del cuerpo.

Estilete largo y fuerte, con nódulos prominentes. Nódulos redondeados y prominentes; nódulo dorsal redondeado en su base y con su región superior ligeramente dirigida anteriormente (Fig. 13B). Poro excretor conspicuo. No se observaron ni el hemizonidio ni el hemizonion.

Campo lateral constituido por cuatro incisuras longitudinales de las cuales las dos exteriores son crenadas. Areolación presente, principalmente atravesando la zona entre las incisuras externas y las internas (Fig. 14C). Ancho del campo lateral a nivel medio del

cuerpo igual a $4.04 \pm 0.29 \mu\text{m}$ (3.6-4.8), abarcando un 20% del ancho del cuerpo. El campo lateral se reduce a tres incisuras y termina a unos 17 anillos posteriores al ano. Primordio genital evidente, subecuatorial, constituido por dos células (Fig. 13C).

Región hialina larga, abarcando aproximadamente los últimos 25 anillos. Cola terminada en punta, cónica aguda, abarcando unos 38-39 anillos (Fig. 13D y E). Fasmidio pequeño, en forma de poro, ubicado a 8-9 anillos posteriores al ano (Fig. 14D).

Para un primer análisis de los resultados obtenidos es conveniente partir de varias claves dicótomicas, basadas principalmente en caracteres de las hembras blancas y quistes y en las que se registran las diferentes especies del género *Globodera* (Golden, 1985; Golden y Ellington, 1972; Green, 1971; Mulvey, 1972; Mulvey, 1973; Mulvey y Golden, 1983; Wouts y Baldwin, 1998). En cada caso se utiliza la nomenclatura y categoría taxonómica considerada por los distintos autores.

Primeramente, y de acuerdo con Green (1971), los individuos pertenecientes a la población de Contreras son morfológicamente similares a *G. tabacum* debido a que en el patrón de estrias entre el ano y la fenestra, éstas suelen estar un poco bifurcadas pero raramente anastomosadas. Aunado a ello, en la región del ano se presentan estrias paralelas que lo rodean. Por otro lado, difieren entre sí ya que para el caso de la especie de *Globodera* encontrada en Contreras, la distancia vulva-ano es el doble del ancho de la fenestra, en tanto que en *G. tabacum* dicha distancia es menor al doble.

Con base en lo considerado por Golden y Ellington (1972), la especie caracterizada en el presente trabajo presenta similitudes en su morfología con *G. tabacum* ya que los quistes presentan una fenestra vulvar conspicua y el ano es pequeño; el poro excretor está cerca de la base del cuello; la abertura vulvar es recta y menor a $25 \mu\text{m}$ de longitud; el patrón de la pared del quiste presenta estrias rugosas a nivel medio del cuerpo extendiéndose en sentido latitudinal; el índice "a" en las larvas del segundo estadio es de 18 a $25 \mu\text{m}$; el estilete es de una longitud aproximada a $20 \mu\text{m}$ o más; el radio de Granek es en promedio igual a $1.5 \mu\text{m}$ (muy cercano a $1.8 \mu\text{m}$ que corresponde al registrado para la especie de Contreras); además, el patrón de estrias en el área perineal es un poco ondulado pero generalmente presenta líneas paralelas y continuas que circundan a la fenestra. Entre las diferencias se puede mencionar

que para el caso de *G. tabacum* la desembocadura de la glándula esofágica dorsal en promedio es cercana a 3.5 μm pero en el caso de los individuos pertenecientes a la población de Contreras dicha desembocadura es de 4.7 μm .

De lo mencionado por Mulvey (1973), al parecer *Globodera* sp. de Contreras se asemeja *G. tabacum* debido a que el área anal no se halla rodeada por anillos cuticulares y el patrón de estrías entre el ano y la vulva no forma una red sino que son paralelas. Otro carácter compartido es la longitud de la fenestra ya que en *G. tabacum* es de 28-30 μm y en *Globodera* sp. de Contreras en promedio es de 27.8 μm (22.0-35.2). Por otro lado, a diferencia de *G. tabacum*, que presenta cuerpos vulvares (Mulvey, 1973) arreglados regularmente tanto dorsal como ventralmente a ambos lados de la abertura vulvar, los individuos de la población de Contreras presentan dichos cuerpos vulvares arreglados dorsal, ventral y lateralmente pero también irregularmente arreglados a partir de la vulva; además, las hembras presentan en la fenestra tubérculos perineales evidentes y amontonados. Ambos caracteres son semejantes incluso a aquellos presentados por los ejemplares de la población de Contreras y los de *G. rostochiensis*, con quien difiere principalmente en el radio de Granek. En el caso de *G. rostochiensis* el radio de Granek es de 2.5 μm o más (Golden, 1985) y en *Globodera* sp. de Contreras es de 1.8 μm . Por otro lado, *G. tabacum* presenta una abertura vulvar de 8-9 μm en tanto que los individuos pertenecientes a la población de Contreras presentan una abertura vulvar promedio de 12.6 μm .

Remitiéndose a la información proporcionada por Mulvey (1972), los individuos de la población de Contreras son semejantes a *G. tabacum* debido a que el radio de Granek es en promedio igual a 1.7 μm (1.0-2.8) y la cutícula entre el ano y la fenestra presenta espacios poco amplios entre las estrías.

Considerando las claves elaboradas por Golden (1985) y Mulvey y Golden (1983), donde las especies *G. tabacum*, *G. virigniae* y *G. solanacearum* son consideradas como subespecies del complejo *Globodera tabacum*, *Globodera* sp. de Contreras es muy semejante en su morfología *G. tabacum tabacum* y a *G. tabacum solanacearum* ya que los quistes son esféricos o subesféricos, no presentan *bullae* y las larvas del segundo estadio presentan 4 incisuras en su campo lateral. Además, el patrón de la pared del quiste presenta estrías rugosas a nivel medio del cuerpo, el índice "a" de las larvas del segundo estadio es de 18-25

μm , la longitud del estilete es igual a $20 \mu\text{m}$ o más, la desembocadura de la glándula esofágica dorsal es aproximadamente un tercio o menos de la longitud del estilete a partir de su base y finalmente, el radio de Granek en promedio, es igual a $2.0 \mu\text{m}$ o menos.

Con *G. t. solanacearum* comparte además caracteres tales como la distancia entre el ano y el borde más cercano de la fenestra que en promedio es igual a $48 \mu\text{m}$ y con *G. t. tabacum* comparte en particular que la cutícula entre el ano y la fenestra presenta estrías paralelas entre sí con poca anastomosis y espacios poco conspicuos entre ellas.

A diferencia de lo descrito por Golden (1985), los individuos de la población de Contreras se distinguen con respecto de *G. t. solanacearum* en que la cutícula entre el ano y la fenestra no presenta grandes espacios entre las estrías ni tampoco forman una red entre ellas. Además, la longitud promedio del estilete de la hembra en *G. t. solanacearum* es de $26.2 \mu\text{m}$ en tanto que para *Globodera* sp. de Contreras dicha longitud promedio es de $24.5 \mu\text{m}$. En cuanto a las diferencias entre *G. t. tabacum* y la especie de Contreras, la distancia media del ano al borde más cercano de la fenestra de la primera es de $41 \mu\text{m}$ en tanto la de la segunda es de $47.5 \mu\text{m}$. Otra diferencia es la longitud promedio del estilete de la hembra ya que en *G. t. tabacum* ésta es de $22.4 \mu\text{m}$ y en la otra es de $24.5 \mu\text{m}$.

Considerando a Wouts y Baldwin (1998), *Globodera* sp. de Contreras es similar *G. pallida* y a *G. tabacum* ya que la cutícula del quiste es gruesa y oscura, la longitud del estilete de las larvas del segundo estadio es menor que $24 \mu\text{m}$ pero mayor que $20 \mu\text{m}$, los nódulos del estilete de las larvas del segundo estadio asemejan una ancla más o menos pronunciada o bien, pueden estar aplanados anteriormente. En cuanto a las diferencias, los quistes de la especie de Contreras sí presentan estrías longitudinales y su radio de Granek es menor ($1.8 \mu\text{m}$) al de los quistes de *G. pallida* ($2.5 \mu\text{m}$). En *G. pallida* además, la distancia del ano al margen más cercano de la fenestra es de $43.9 \mu\text{m}$ comparado con $47.5 \mu\text{m}$ de los individuos de la población de Contreras; finalmente, los tubérculos perineales son pequeños y discretos en el caso de *G. pallida* pero en el caso de la especie mexicana éstos se hallan amontonados entre sí y son muy conspicuos.

Del análisis antes realizado, existen indicadores que señalan que los individuos de la población de Contreras corresponden a una especie que es muy similar a las hoy consideradas bajo el complejo de subespecies de *Globodera tabacum* (Mota y Eisenback, 1993a, b y c), mismo que se compone de *G. tabacum tabacum*, *G. tabacum solanacearum* y *G. tabacum virginiae*. En los Cuadros 3-7 se presentan los principales caracteres analizados de cada estadio en las descripciones originales de las subespecies del complejo, consideradas obviamente en su momento como especies; tales caracteres se comparan con los obtenidos para el caso de los individuos de la población de Contreras. Para ser congruentes con las descripciones originales, en el análisis que se presenta a continuación, las tres se manejarán como especies tal y como las consideraron sus autores. A la comparación morfométrica se suma la comparación de aquellos caracteres morfológicos que diferencian a los individuos pertenecientes a la población de Contreras con los de las ahora subespecies de dicho complejo *G. tabacum*.

Considerando primeramente a las hembras, la longitud corporal de las hembras de *Globodera* sp. de Contreras sólo es mayor que la de las hembras de *G. tabacum* ($653.4 \pm 26.7 \mu\text{m}$ para la especie de Contreras y $464.0 \mu\text{m}$ para *G. tabacum*) pero en cuanto al ancho del cuerpo, en la especie mexicana éste es mayor que el de las otras especies ($487.5 \pm 17.7 \mu\text{m}$ para los individuos de la población de Contreras, $310.0 \mu\text{m}$ para *G. tabacum*, $450.0 \pm 67.6 \mu\text{m}$ para *G. virginiae* y $430.3 \pm 81.1 \mu\text{m}$ para *G. solanacearum*). La longitud del cuello es menor en la especie mexicana que en las tres especies ($136.2 \pm 7.9 \mu\text{m}$ para la especie de Contreras, $144.4 \pm 32.5 \mu\text{m}$ para *G. solanacearum* y $152.1 \pm 33.0 \mu\text{m}$ para *G. virginiae*). Otros caracteres en los que se marcan diferencias entre la especie de Contreras y las aquí consideradas son: la distancia de la punta de la cabeza a la mitad del bulbo medio ($87.4 \pm 2.9 \mu\text{m}$ para *Globodera* sp. de Contreras, $126.3 \pm 16.2 \mu\text{m}$ para *G. solanacearum* y $152.1 \pm 33.0 \mu\text{m}$ para *G. virginiae*), y la desembocadura de la glándula esofágica dorsal ($7.8 \pm 0.3 \mu\text{m}$ en la especie mexicana a diferencia de $5.5 \mu\text{m}$ en *G. tabacum*, $6.0 \pm 1.4 \mu\text{m}$ en *G. solanacearum* y $6.1 \pm 1.8 \mu\text{m}$ en *G. virginiae*). De la distancia del ano al margen más cercano de la fenestra, sólo con respecto a *G. virginiae* la especie de Contreras presenta diferencias ($39.5 \pm 2.2 \mu\text{m}$ para la especie mexicana en comparación con $47.2 \pm 6.5 \mu\text{m}$ para *G. virginiae*). Por otro lado, y con base en la morfología, *G. virginiae* es diferente a las dos especies restantes y a la de Contreras en el hecho de que las hembras presentan los nódulos basales del estilete en forma de zapato

tipo sueco (Miller y Gray, 1968), característica no observada en el resto de las especies aquí analizadas. Un último carácter a considerar al respecto es la forma de la fenestra, misma que en las hembras de la especie de Contreras es diferente a la observada en las de *G. solanacearum* y *G. virginiae* ya que en la primera suele ser en forma de barril con bordes convexos y en la segunda, de forma circular a elíptica. Por su parte, la forma de la fenestra es muy similar a la observada en *G. tabacum* donde es elíptica y con bordes que tienden a estrecharse.

Con respecto a los quistes, tanto los de *G. virginiae* como los de *G. solanacearum* presentan una forma corporal predominantemente ovoide a subesférica (Miller y Gray, 1968, 1972), característica no compartida con *G. tabacum* quien presenta quistes en su mayoría esféricos, muy semejantes a los que se presentan en la especie de Contreras. Además, si se considera la región perineal, esta especie mexicana tiende a compartir caracteres con *G. tabacum* sobre todo en el patrón de estrías entre el ano y la fenestra ya que éste se constituye de estrías prácticamente paralelas y con espacios entre ellas poco evidentes (Lownsbery y Lownsbery, 1954). Para el caso de *G. solanacearum* este patrón se conforma con líneas más o menos paralelas pero presenta la particularidad de que los espacios entre ellas son bastante conspicuos (Miller y Gray, 1972) y en *G. virginiae* dicho patrón forma una red muy característica debido a la anastomosis de las estrías (Miller y Gray, 1968). Desde el punto de vista morfométrico, los quistes de *Globodera* sp. de Contreras se encuentran dentro del rango de longitud que presentan los quistes de *G. solanacearum* y *G. virginiae* aunque a su vez son diferentes a ellos ($739.0 \pm 35.6 \mu\text{m}$ para la especie mexicana, $717.6 \pm 58.7 \mu\text{m}$ para *G. solanacearum* y $767.0 \pm 69.2 \mu\text{m}$ para *G. virginiae*) y más grandes que los de *G. tabacum* ($536.0 \mu\text{m}$); lo mismo sucede con el ancho corporal respecto a *G. tabacum* y *G. solanacearum* ($577.9 \pm 40.1 \mu\text{m}$ para la especie de Contreras, $496.4 \pm 54.9 \mu\text{m}$ para *G. solanacearum* y $459.0 \mu\text{m}$ para *G. tabacum*). La especie de Contreras también se diferencia de las otras en la longitud del cuello ya que en ésta es menor que la que presenta cualquiera de ellas ($123.6 \pm 5.8 \mu\text{m}$ para *Globodera* sp. de Contreras, $154.2 \pm 27.6 \mu\text{m}$ para *G. solanacearum* $145.8 \pm 31.3 \mu\text{m}$ para *G. virginiae*). En la región perineal se observa que las dimensiones de la fenestra son mayores en el caso de la especie de Contreras, promediando un diámetro de $27.0 \pm 1.0 \mu\text{m}$ que es mayor a las $22.6 \pm 2.5 \mu\text{m}$ de *G. solanacearum* y $18.7 \pm 2.3 \mu\text{m}$ de *G. virginiae*. En cuanto al radio de Granek se evidencia una diferencia notable entre estas dos especies y la de

Contreras. Para el caso de *G. solanacearum* el radio de Granek es de $2.2 \pm 0.4 \mu\text{m}$ y para *G. virginiae* de $2.8 \pm 0.2 \mu\text{m}$, valores mayores a $1.8 \pm 0.1 \mu\text{m}$ correspondiente a los quistes de la población mexicana.

De acuerdo con la morfología de los machos de las tres especies y los de la especie de Contreras, en los machos de ésta última se presentan areolaciones regularmente ubicadas en el campo lateral, condición diferente para las otras tres especies, ya que aunque el campo lateral de los machos presenta areolaciones, éstas se presentan de manera irregular, esto es, no son muy frecuentes a lo largo del campo lateral. Entre los caracteres morfométricos en que difieren están: la desembocadura de la glándula esofágica dorsal ($4.7 \pm 0.2 \mu\text{m}$ en la especie de Contreras, $3.5 \pm 0.9 \mu\text{m}$ en *G. virginiae*, $2.3 \pm 0.7 \mu\text{m}$ en *G. solanacearum* y $3.6 \mu\text{m}$ en *G. tabacum*) y la longitud de la cola, principalmente con las especies *G. tabacum* y *G. virginiae*, promediando valores de $1.9 \mu\text{m}$ y $2.7 \pm 1.1 \mu\text{m}$ respectivamente por $4.1 \pm 0.4 \mu\text{m}$ de la especie mexicana.

Desde el punto de vista morfológico, en cada una de las descripciones originales de las tres especies se menciona el número de anillos que constituyen la cabeza de las larvas del segundo estadio. Para las larvas de *G. tabacum* se reportan 5 anillos, para *G. solanacearum* 7 anillos, para *G. virginiae* 5 anillos y en las larvas de la especie de Contreras se observan claramente 6 anillos, incluyéndose en cada caso el más superior y que corresponde al disco labial. En cuanto a la morfometría, las larvas del segundo estadio de *Globodera* sp. de Contreras presentan un índice “a” mayor que el registrado para las larvas de las otras especies ya que en el caso de la población mexicana éste es de $25.5 \pm 0.6 \mu\text{m}$ en tanto que para *G. tabacum* y *G. solanacearum* el índice “a” es de $23 \mu\text{m}$ y de $24.7 \pm 1.5 \mu\text{m}$ para *G. virginiae*. Existen otros caracteres en los cuales la especie encontrada en de Contreras difiere con respecto a alguna o algunas de las especies referidas, siendo éstos: la distancia de la cabeza al término de las glándulas esofágicas, que en los individuos pertenecientes a la población de Contreras es de $187.7 \pm 3.9 \mu\text{m}$ en tanto que para *G. solanacearum* es de $169 \pm 9.8 \mu\text{m}$ y para *G. virginiae* es de $172 \mu\text{m}$; la desembocadura de la glándula esofágica dorsal ($5.5 \mu\text{m}$ para *G. tabacum*, $5.5 \pm 0.6 \mu\text{m}$ para *G. solanacearum* y $6.1 \pm 0.8 \mu\text{m}$ para *G. virginiae* contra $6.8 \pm 0.2 \mu\text{m}$ que corresponden a la población de Contreras) y la longitud de la región hialina de la cola ya que en el caso de la especie descrita en el presente trabajo ésta es de $32.2 \pm 1.0 \mu\text{m}$,

mayor que la de las tres especies ($28.0 \mu\text{m}$ para *G. tabacum*, $24.1 \pm 2.7 \mu\text{m}$ para *G. solanacearum* y $27.1 \pm 3.3 \mu\text{m}$ para *G. virginiae*). Lo mismo sucede con la longitud de la cola ya que mientras en *G. tabacum* ésta es de $52 \mu\text{m}$, en *G. solanacearum* de $50.3 \pm 3.9 \mu\text{m}$ y en *G. virginiae* de $50.3 \pm 3.8 \mu\text{m}$, las larvas de la especie mexicana presentan una longitud de $56.2 \pm 1.1 \mu\text{m}$.

Con respecto a los huevos, y considerando la morfometría, existen diferencias tanto en los huevos embrionados como en los larvados, ya que la longitud de los huevos en *Globodera* sp. de Contreras es mayor, promediando $113.5 \mu\text{m}$ en los embrionados y $115.5 \mu\text{m}$ en los larvados, en tanto que el promedio de longitud para cada una de las tres especies no alcanza las $100 \mu\text{m}$.

Un análisis mayor para poder ubicar a la especie encontrada en Contreras puede hacerse considerando los trabajos realizados por Mota y Eisenback. (1993a, b y c), donde realizan un estudio morfológico y morfométrico de los principales estadios de diferentes poblaciones correspondientes a las subespecies del llamado complejo *G. tabacum* (Mota y Eisenback, 1993c). Estas poblaciones son oriundas de varias localidades de los estados norteamericanos de Virginia, Connecticut y Massachusetts.

La especie de Contreras, en cuanto a sus quistes, presenta algunas diferencias con las especies norteamericanas entre las que se encuentran: en la población mexicana los quistes presentan una longitud corporal mayor, ya que en ésta dicha longitud es de $739.0 \pm 35.6 \mu\text{m}$ mientras que en las especies norteamericanas oscila entre las 531 y las $687 \mu\text{m}$; los quistes también presentan un ancho corporal intermedio ($577.9 \pm 40.1 \mu\text{m}$) entre los valores de las especies norteamericanas pero a su vez diferente a todos ellos; el número de estrías entre la fenestra y el ano marca otra diferencia entre algunas especies norteamericanas y la mexicana debido a que en ésta el número de tales estrías es aproximadamente 11, similar únicamente a 2 de las 15 poblaciones analizadas al respecto. Estas dos poblaciones corresponden a *G. t. virginiae*, que de antemano como subespecie es diferente a la de Contreras porque en ésta el arreglo de las estrías es paralelo y en *G. t. virginiae* el patrón es reticulado (Mota y Eisenback, 1993b). Un último carácter morfométrico de importancia es el radio de Granek, modificado por Hesling (Hesling, 1973), porque permite discriminar especies y en el presente caso

diferenciar a la de Contreras de manera clara de las poblaciones que corresponden a la subespecie *G. t. virginiae*. En promedio, para dicha subespecie el radio de Granek es mayor a las 2.0 μm en tanto que para *Globodera* sp. de Contreras es de $1.8 \pm 0.1 \mu\text{m}$, muy cercano a la vez al registrado en *G. t. solanacearum* y *G. t. tabacum*.

Las hembras blancas de la especie mexicana también presentan tanto una longitud como una anchura corporal mayores que las de las especies norteamericanas. Con referencia a las estrías entre la fenestra y el ano, similar a lo sucedido con los quistes, la especie de Contreras presenta valores similares a los de los individuos de una población de la subespecie *G. t. virginiae* en cuanto al número, pero como se había mencionado anteriormente, el patrón de estrías característico de *G. t. virginiae* es diferente al observado en la especie mexicana y ello permite discriminar tal similitud. Otro carácter a resaltar es la longitud de la fenestra, menor en la especie mexicana ($21.6 \pm 0.8 \mu\text{m}$) con respecto a las demás poblaciones de las tres subespecies norteamericanas (23.5-27.0 μm en promedio); en su ancho por el contrario, es mayor en la especie mexicana ($22.8 \pm 0.8 \mu\text{m}$) comparado con el de las especies norteamericanas (19.0-21.4 μm). Una diferencia a considerar como importante es la longitud de la abertura vulvar ya que en el presente caso ésta es de $12.6 \pm 0.4 \mu\text{m}$, mayor que el de las hembras del resto de las especies registradas por Mota y Eisenback (1993b) (entre las 8.0 y las 9.7 μm). Mota y Eisenback (1993b) consideran que las características morfológicas más confiables en hembras blancas y quistes para separar cada subespecie entre sí y con respecto a otras especies semejantes son: la forma de los nódulos del estilete de la hembra, la forma como están dispuestos los tubérculos perineales en los márgenes de la fenestra, la forma del quiste, la apariencia del ano y el patrón de estrías entre la fenestra y el ano. Partiendo de lo antes mencionado, la especie encontrada en Contreras tiende a ser más cercana a *G. t. tabacum* que a las otras dos subespecies debido a que los tubérculos perineales en la población de Contreras están amontonados, los nódulos del estilete están dirigidos posteriormente, los quistes tienden a ser esféricos, el ano es evidente y bien delimitado por un par de estrías (una anterior y otra posterior) y las estrías entre la fenestra y el ano son paralelas entre sí, poco anastomosadas y con espacios estrechos entre ellas.

De acuerdo a lo reportado por Mota y Eisenback (1993a) en cuanto a los machos, los de *Globodera* sp. de Contreras difieren de los de las especies norteamericanas en el número de anillos que forman la cabeza ya que se menciona que el número en éstos es de 6 además

de los pseudolabios y el disco oral y en el presente caso los anillos cefálicos son solamente 5 además de los pseudolabios y el disco oral. Otros caracteres que marcan diferencias entre algunas especies norteamericanas y la de Contreras son: las espículas, ya que los machos de la especie mexicana presentan espículas con lámina larga, característica que les acerca a los individuos de las poblaciones de *G. t. tabacum* y los separa a su vez de los de *G. t. virginiae* y *G. t. solanacearum*; los machos son menos largos ($1016.8 \pm 26.6 \mu\text{m}$) que los de las especies norteamericanas (entre las 1079.1 - $1186.3 \mu\text{m}$) al igual que su distancia de la cabeza al centro del bulbo medio ($83.3 \pm 2.7 \mu\text{m}$ para *Globodera* sp. de Contreras y valores entre las 92.0 y las $98.5 \mu\text{m}$ para las especies norteamericanas); la desembocadura de la glándula esofágica dorsal es menor en los machos de las especies norteamericanas ($4.0 \mu\text{m}$ en promedio contra $4.7 \pm 0.2 \mu\text{m}$ de la especie mexicana); la longitud de las espículas, carácter útil en la diferenciación de las subespecies del complejo, es menor en los machos de *Globodera* sp. de Contreras ($31.1 \pm 1.2 \mu\text{m}$) que en el resto de los individuos de las poblaciones estudiadas por Mota y Eisenback (1993c) (entre las 34.0 y las $35.0 \mu\text{m}$); y finalmente, en cuanto a la longitud de la cola, los machos de la especie de Contreras presentan un valor menor ($4.1 \pm 0.4 \mu\text{m}$) al de los pertenecientes a las poblaciones de las subespecies *G. t. virginiae* y *G. t. solanacearum* (con valores entre 4.8 - $5.6 \mu\text{m}$).

A partir de los datos presentados por Mota y Eisenback (1993c), en lo que corresponde a las larvas del segundo estadio, se tiene que en cuanto a su longitud corporal, en *Globodera* sp. de Contreras ésta es de $484.6 \pm 6.9 \mu\text{m}$ y para los individuos de las diez poblaciones norteamericanas en promedio oscila entre las 515.0 y las $576.1 \mu\text{m}$. Del ancho corporal, la especie mexicana presenta un promedio de $19.2 \pm 0.6 \mu\text{m}$ en tanto que el intervalo de valores de los individuos de tales poblaciones oscila entre las 22.4 y las $26.0 \mu\text{m}$. Otras diferencias son: la desembocadura de la glándula esofágica dorsal, mayor en los individuos de la población de Contreras (6.6 ± 0.6) con respecto a la registrada en las otras subespecies (con valores entre las 5.8 y $6.1 \mu\text{m}$); la longitud de la región hialina, un carácter morfométrico que Mota y Eisenback (1983c) consideran como importante en la diferenciación de subespecies y especies cercanas al complejo *G. tabacum*, y en donde para los individuos pertenecientes a las poblaciones norteamericanas oscila entre las 20.9 y las $29.8 \mu\text{m}$, valores menores a las $32.2 \pm 1.0 \mu\text{m}$ registradas en los individuos de la población mexicana.

Entre los huevos, desde el punto de vista morfológico, no existen diferencias entre la especie mexicana y las norteamericanas. En cuanto a su morfometría, Mota y Eisenback (1993c) presentan medidas de individuos de 21 poblaciones y en donde los individuos de la población mexicana comparten caracteres con algunos, tanto en longitud como en anchura. Cabe mencionar que a pesar de que se llegasen a presentar diferencias con respecto a los de otras poblaciones, de acuerdo con Mota y Eisenback (1993c), la morfometría de los huevos suele ser poco útil para diferenciar a las subespecies del complejo *G. tabacum* de otras especies muy semejantes como en el presente caso.

Ahora bien, tomando en cuenta todos los elementos ya vertidos, se considera que *Globodera* sp. de Contreras es una especie que comparte más caracteres con *G. t. tabacum* que con *G. t. virginiae* y *G. t. solanacearum*. Con *G. t. virginiae* difiere principalmente en que:

1. El patrón de estrias entre el ano y la fenestra en quistes y hembras de *G. t. virginiae* es reticulado debido a que la mayoría de las estrias se anastomosan entre sí en varios de sus puntos, condición no presente en la región perineal de los individuos de la población de Contreras
2. En *G. t. virginiae* las hembras presentan su nódulo dorsal con una proyección anterior muy pronunciada, característica no observada en las hembras de la especie de Contreras.
3. El radio de Granek en *G. t. virginiae* es en promedio de 2.8 μm , mayor al registrado en los individuos de la especie mexicana.
4. Los quistes y las hembras son en promedio más pequeñas en *G. t. virginiae* que en *Globodera* sp. de Contreras aunque su cuello es más largo.
5. La distancia del ano al margen más cercano de la fenestra es mayor en *G. t. virginiae* pero la longitud de la abertura vulvar en sus hembras es menor.
6. Los machos en *G. t. virginiae* presentan un valor menor de la desembocadura de la glándula esofágica dorsal y una longitud de la cola mayor.
7. En el campo lateral de los machos de *G. t. virginiae* no se observan estriaciones que lo crucen de manera continua o regular a diferencia de lo que sucede con los machos de la especie encontrada en Contreras.
8. En la región cefálica los machos de *G. t. virginiae* presentan 6 anillos además de los pseudolabios y el disco labial en tanto que los machos de *Globodera* sp. presentan 5 anillos

cefálicos.

9. Las larvas del segundo estadio, en *G. t. virginiae*, presentan mayores dimensiones corporales que las de Contreras y tanto en la desembocadura de la glándula esofágica dorsal como en la longitud de la región hialina sus valores son menores.

Considerando ahora a *G. t. solanacearum*, también existen marcadas diferencias como:

1. El patrón de estrias entre el ano y la fenestra en esta subespecie presenta espacios bastante evidentes entre ellas (de una amplitud mayor a las estrias mismas), condición no observada en el patrón perineal ni de quistes ni de hembras de la especie de Contreras.
2. Los quistes y las hembras son más pequeñas que las de *Globodera* sp. de Contreras aunque su cuello es más largo en ambos estadios.
3. La longitud de la abertura vulvar de las hembras es menor.
4. Los machos de *G. t. solanacearum* presentan un valor menor en su desembocadura de la glándula esofágica dorsal y una longitud de la cola mayor que los correspondientes a la población encontrada en Contreras.
5. En el campo lateral de los machos no se observan estriaciones que lo crucen de manera continua o regular tal y como se observa en los machos de la especie caracterizada en el presente trabajo.
6. En la región cefálica también los machos de *G. t. solanacearum* presentan 6 anillos además de los pseudolabios y el disco labial.
7. Los machos en promedio son más largos en *G. t. solanacearum* y tanto la longitud del estilete como la de las espículas, es mayor en los machos de *G. t. solanacearum* que en los de la especie mexicana.
8. Las larvas del segundo estadio en *G. t. solanacearum* son más largas y anchas de su cuerpo que las de *Globodera* sp. de Contreras.
9. Tanto en la desembocadura de la glándula esofágica dorsal como en la longitud de la región hialina, las larvas del segundo estadio de *G. t. solanacearum* presenta valores menores.

Con *G. t. tabacum*, la especie mexicana comparte caracteres que las asemejan tales como: el patrón de estrias entre la fenestra y el ano, que en ambos casos se constituye de estrias más o menos paralelas, con poca anastomosis entre sí y espacios entre ellas muy

reducidos; ambas presentan tubérculos perineales conspicuos; el radio de Granek en promedio es de 2.0 o un poco menos para *G. t. tabacum*, muy cercano al registrado para los individuos de la población de Contreras; la fenestra, en las dos es muy similar ya que ésta es elíptica y sus bordes tienden a estrecharse; además, los nódulos del estilete de las hembras en ambos casos son robustos y cortos, dirigidos posteriormente.

A pesar de tales semejanzas, existen diferencias que es importante mencionar

1. El número promedio de estrías entre el ano y la fenestra en los quistes y hembras de *G. t. tabacum* es entre 8 y 9 a diferencia de un promedio de 11 estrías presentes en el caso de la especie mexicana.
2. La longitud de la abertura vulvar es menor en *G. t. tabacum*.
3. Tanto los quistes como las hembras de *G. t. tabacum* presentan un índice "a" menor en promedio pero el cuello, en ambos estadios, es más largo. En cuanto al índice "a" de los quistes, el de los individuos de la población de Contreras es de $1.3 \pm 0.1 \mu\text{m}$ y el de los quistes de *G. t. tabacum* es en promedio de $1.0 \pm 0.1 \mu\text{m}$. De las hembras blancas, el índice "a" es de $1.4 \pm 0.1 \mu\text{m}$ en *Globodera* sp. de Contreras y en *G. t. tabacum* de $1.0 \pm 0.1 \mu\text{m}$. En cuanto a los cuellos, los quistes de la especie mexicana presentan una longitud de $123.6 \pm 5.8 \mu\text{m}$ y los de *G. t. tabacum* aproximadamente unas $133.7 \mu\text{m}$. El cuello de las hembras blancas de la especie mexicana es de $136.2 \pm 7.9 \mu\text{m}$, contra una longitud de $155.0 \mu\text{m}$ para las hembras *G. t. tabacum*.
4. La distancia del ano al margen más cercano de la fenestra es menor en *G. t. tabacum* ($41 \mu\text{m}$) comparada con la registrada para los individuos de la población de Contreras ($47.5 \mu\text{m}$).
5. En *G. t. tabacum* los machos presentan areolaciones en su campo lateral de manera poco frecuente a lo largo del mismo a diferencia de los machos de la especie encontrada en Contreras, ya que en éstos tales areolaciones son regulares.
6. Los machos de *G. t. tabacum* en general son más largos ($1186.3 \pm 107.3 \mu\text{m}$) que los de la especie mexicana ($1016.8 \pm 26.6 \mu\text{m}$), y la longitud de espículas también es mayor ($34.8 \pm 1.8 \mu\text{m}$ en *G. t. tabacum* contra $31.1 \pm 1.2 \mu\text{m}$ en los machos de *Globodera* sp. de Contreras).
7. En la región labial, vista de manera frontal, se observa una diferencia entre los machos de ambas y que consiste en que los machos de *G. t. tabacum* presenta tanto sus pseudolabios subdorsales como los subventrales fusionados, condición muy diferente a los machos de la

especie mexicana cuyos pares de pseudolabios están marcadamente separados, además de que sus bordes son más redondeados que los de *G. t. tabacum*.

8. El número de anillos que constituyen la región labial en los machos de *G. t. tabacum* es de 6, además de los pseudolabios y el disco labial, uno más que el número presente en los machos de la población estudiada.

9. Los nódulos del estilete en los machos de *G. t. tabacum* son más pequeños y alargados. Los machos de *Globodera* sp. de Contreras presentan nódulos más grandes, robustos y poco alargados.

10. En el patrón frontal de la región labial de las larvas del segundo estadio de *G. t. tabacum* se observa que los pseudolabios subdorsales y los subventrales están fusionados además de que el vértice de unión en ambos no es redondeado sino que forma una arista más o menos pronunciada, semejante a un triángulo. Por su parte en las larvas de la especie mexicana los pseudolabios subventrales están separados y la disposición de los éstos y los subdorsales en el punto en el que se unen es redondeado y no triangular.

11. El estilete de las larvas del segundo estadio en ambos casos presenta su nódulo dorsal dirigido ligeramente hacia la región anterior y con un ángulo poco pronunciado con respecto a la base del estilete aunque más evidente en las larvas de *G. t. tabacum* que en las de la especie de Contreras.

12. La región hialina, carácter de importancia taxonómica, es diferente entre ambas, ya que la longitud de ésta en las larvas de *Globodera* sp. de Contreras es de $32.2 \pm 1.0 \mu\text{m}$, mayor a la de las larvas de *G. t. tabacum* (entre 20.9 y $27.5 \mu\text{m}$).

13. La desembocadura de la glándula esofágica dorsal es menor en *G. t. tabacum* ($6.8 \pm 0.2 \mu\text{m}$ en las larvas de la especie mexicana y $5.8 \pm 0.7 \mu\text{m}$ en *G. t. tabacum*).

14. Tanto la longitud como el ancho medio del cuerpo son mayores en las larvas de *G. t. tabacum*, pero considerando el índice "a", que relaciona ambos caracteres, éste es menor en las larvas de *G. t. tabacum* ($21.5 \mu\text{m}$ en las larvas de *G. t. tabacum* y $25.5 \pm 0.6 \mu\text{m}$ en las de *Globodera* sp. de Contreras).

De esta manera, se considera que la especie encontrada en Contreras, a pesar de presentar algunas similitudes con el complejo *G. tabacum* y en especial con la subespecie *G. t. tabacum*, puede tratarse de una especie aún no descrita.

4.2 ALTERACIONES A NIVEL DE LOS TEJIDOS DE LA RAÍZ CAUSADAS POR *Globodera* sp. EN *Jaltomata procumbens*.

Para tener un marco de referencia y definir más claramente las alteraciones que se manifiestan en los tejidos de la raíz del hospedante de la especie de *Globodera* presente en Contreras, a continuación se describen las características anatómicas de la raíz de *J. procumbens* en ausencia del nematodo para posteriormente dar paso a la descripción de las modificaciones que sobre dicho patrón anatómico se observaron.

Tejido sano.

Del análisis hecho a partir de los cortes realizados de tejido sano de la raíz, se hicieron las siguientes observaciones:

a) Cortes transversales:

Las células epidérmicas son más o menos cuboidales, formando una sola capa en cuya pared exterior se presenta una cutícula más o menos gruesa. Las células del *córtex* presentan un diámetro de $50.0 \pm 2.10 \mu\text{m}$ ($n = 100$). Por su parte las células de la endodermis tienen un ancho de $39.4 \pm 3.56 \mu\text{m}$ ($n = 44$) y fondo de $13.1 \pm 1.43 \mu\text{m}$ ($n = 44$). El tamaño de sus núcleos es de aproximadamente $5.6 \pm 0.36 \mu\text{m}$ ($n = 90$) y se observa uno por célula. Sus nucleolos apenas son evidentes o en algunos casos difíciles de observar.

Hacia el centro de la raíz se presentan varias capas de células (de 4 a 5) entre la endodermis y los tejidos vasculares, correspondiendo al periciclo (parénquima vascular) (Fig. 15A y B). Los elementos de los tubos cribosos que constituyen al floema se encuentran entre los brazos del xilema, dispuestos en cúmulos discretos. El xilema se compone de varios brazos (de 3 a 6) con crecimiento de tipo exarco (desarrollo centrípeto del xilema primario), característico en las raíces de las angiospermas. Puede haber variación en el número de brazos de xilema de acuerdo con el grado de desarrollo de la raíz. No se presenta médula.

En las células del *córtex* se observa que sus paredes son delgadas, con citoplasma hialino y pequeños plastos que en ocasiones se agrupan en torno al núcleo. En algunas es

posible observar ciertas inclusiones lipoides esféricas.

b) Cortes longitudinales:

Las células epidérmicas son más largas que anchas aunque algunas tienden a ser isodimétricas. Estas células presentan cutícula gruesa. Las células parenquimáticas del *córtex* presentan una longitud de $116.8 \pm 3.65 \mu\text{m}$ ($n = 100$) y un ancho de $31.8 \pm 1.05 \mu\text{m}$ ($n = 100$). Las células del *córtex* pueden ser desde alargadas hasta isodiamétricas. En cuanto a las células que conforman la endodermis, su longitud es de $69.5 \pm 4.56 \mu\text{m}$ ($n = 30$). El tamaño de núcleos es de $8.9 \pm 0.36 \mu\text{m}$ ($n = 90$), son pequeños y redondeados, correspondiendo uno por célula.

En el caso de los cortes longitudinales, se observan algunas células un poco alargadas en la región del *córtex* cuyas paredes están engrosadas. Estas células suelen formar nidos y se ubican muy cercanas a la región de la endodermis. Por las características de su pared (lignificación y formación de punteaduras incipiente) puede caracterizarse como un parénquima esclerótico (Fig. 15Cy D).

En la región de los tejidos vasculares se observa que el xilema se constituye principalmente de miembros de vaso con placas perforadas simples y con un patrón de ornamentación de la pared secundaria de tipo reticulado. Las células del floema, contiguas a las del xilema, son alargadas y delgadas, evidenciándose por la presencia de depositaciones de calosa entre las paredes superior-inferior de elementos de los tubos cribosos contiguos.

Tejido infectado.

En la región de los tejidos vasculares se observa una masa multinucleada de forma variable que corresponde propiamente al sincicio. En el plano transversal se observa que hacia la región que se halla en contacto con los tejidos vasculares el sincicio se estrecha pero conforme ocupa parte del periciclo y del *córtex* en algunos casos, el sincicio se ensancha con lo que se asemeja a una cuña (Fig. 16C y F). En ocasiones el ensanchamiento en su región distal puede ser demasiado pronunciado y el sincicio adquiere una forma oblonga (Fig. 16E). En corte longitudinal el sincicio es alargado, con su extremo más próximo al sitio de

alimentación ensanchado y redondeado. El extremo del sincicio más alejado del nematodo es estrecho y con punta más o menos conoide-redondeada (Fig. 17B-D). En las paredes que se hallan en contacto con el xilema se observan sobrecrecimientos internos de la pared que son positivos al verde rápido y que dan cuenta de la presencia y acumulación de material cuya función probablemente sea alimenticia (Figs. 16C y F y 17D y F). Las dimensiones del sincicio en corte transversal son de $148.8 \pm 16.7 \mu\text{m}$ ($102.0\text{-}210.0 \mu\text{m}$) X $197.8 \pm 17.5 \mu\text{m}$ ($130.0\text{-}279.0 \mu\text{m}$) ($n = 28$), en tanto que en corte longitudinal son de $461.3 \pm 23.7 \mu\text{m}$ ($395.0\text{-}515.0 \mu\text{m}$) ($n = 28$) X $134.5 \pm 21.5 \mu\text{m}$ ($92.0\text{-}198.0 \mu\text{m}$). Los sincicios los constituyen desde pocas células (5-6) hasta por lo general unas 15, aunque en algunos se observan más de 20 células (20-25) (Figs. 16C-F y 17C-D y F).

El sincicio ocupa principalmente la región vascular, invadiendo tanto la región de los elementos de conducción como el periciclo. Además, se observa que la endodermis también es afectada ya que al darse el crecimiento del sincicio ésta se rompe y entonces el sincicio incluso llegar a invadir, en ocasiones, parte del córtex (Fig. 16C-F). El sincicio suele ser más grande y evidente en la región que coincide con la porción más distal de la cabeza del nematodo. Puede invadir el parénquima cortical, siendo ésto evidente en la región del sincicio que es más anterior a la cabeza del nematodo.

Dentro del sincicio se observan huecos o bien los fragmentos de las paredes celulares de aquellas células que lo constituyen. Dichos fragmentos se pueden observar en cualquier nivel del sincicio (Figs 16C, E y F y 17D). Las únicas paredes que se mantienen enteras son las que limitan al mismo sincicio. Algunos sincicios vacíos no presentan paredes fragmentadas sino que se observan desgarradas.

Los núcleos del sincicio son numerosos y se encuentran dispersos en el citoplasma. En cuanto a su número, se presentan de 5 a 6 en promedio aunque en algunos sincicios puede haber más de 10 dependiendo del número de células incorporadas. En general son núcleos grandes, siendo algunos elípticos y otros de forma ameboide. Su diámetro es de $20.9 \pm 0.3 \mu\text{m}$ ($15.0\text{-}23.0 \mu\text{m}$) ($n = 144$). Los núcleos presentan nucleolos evidentes (uno por núcleo), positivos a la safranina y con diámetro de $5.2 \pm 0.2 \mu\text{m}$ ($4.0\text{-}7.0 \mu\text{m}$) ($n = 122$).

El citoplasma del sincicio es denso, oscuro y granular (Figs. 16C-F y 17B-D y F). Dentro de los sincicios se observan pequeñas estructuras constituidas cada una por una membrana conteniendo un pequeño corpúsculo central opaco. Dichas estructuras son evidentes adheridas a la pared más cercana al sitio de alimentación del nematodo (Fig. 16B). En otros sincicios se observa la presencia, dentro de ellos, de numerosas hifas de hongos dispersos en el citoplasma o acumulados hacia la zona de alimentación del nematodo y en ocasiones es posible observar la dirección que sigue el citoplasma al ser absorbido mediante el estilete del nematodo. En las paredes que corresponden al sitio de alimentación del nematodo se observa que éstas se hallan engrosadas y son positivas a la safranina (Figs. 16B y D y 17C y E). Asociadas a las paredes que se hallan en contacto con la cabeza del nematodo, se observan pequeñas vesículas esféricas y hialinas, mismas que se ubican sobre dichas paredes y hacia el lado que da a la cabeza del nematodo (Fig. 17E).

En lo que se refiere a las células con las que está en contacto el cuerpo del nematodo, que principalmente son células del córtex, estas se observan sumamente necrosadas.

Cabe mencionar que en campo las raíces donde se observan las hembras blancas presentes, no se observa ningún síntoma característico debido a nematodos tales como agallamiento o la formación de raíces cortas y gruesas. De la raíz primaria, la cual se halla muy engrosada, se originan raíces largas, delgadas y profundas, mismas que son las que principalmente se ven infectadas por el nematodo. En lo que respecta a la parte aérea, no se observa clorosis en el follaje, no hay achaparramiento y de manera normal se da la floración y fructificación del hospedante. El principal problema que padecen las plantas, sobre todo al inicio del desarrollo de nuevo follaje, es la herbivoría que va desde un bajo a un alto nivel de incidencia⁷. Las plantas completan su ciclo y retoñan en el siguiente. En cuanto a la abundancia del hospedante, no se observan manchones donde de manera evidente las plantas no crezcan sino que al contrario, son muy ubicuas en la localidad y crecen aparentemente sin problemas a pesar de la presencia del nematodo; así, aunque la incidencia del nematodo es alta, también la es la del hospedante.

De acuerdo con los resultados obtenidos, esta especie del género *Globodera* causa en su hospedante, *J. procumbens*, la formación de estructuras celulares para sustentar la

⁷ Dado el enfoque del presente trabajo, en éste no se estudió el agente causal de la herbivoría en *J. procumbens*

alimentación de los diferentes estadios sedentarios del nematodo. Estas modificaciones en los tejidos de la raíz de *J. procumbens* concuerdan con lo registrado para las especies pertenecientes a la Subfamilia Heteroderinae, entre las que se encuentran los formadores de quistes. *Globodera* spp., así como se ha documentado para *Heterodera* spp., inducen en sus hospedantes la formación de una masa citoplasmática multinucleada o sincicio (Cohn *et al.*, 1984; Mundo-Ocampo y Baldwin, 1983 a, b; Hoopes *et al.*, 1978 y Taylor *et al.*, 1978) y tal condición en raíces de papa infectada por larvas del nematodo dorado fue registrado por primera vez por O'Brien y Prentice en 1930 (citado por Hoopes *et al.*, 1978). En el presente caso se observó la formación de sincicios, caracterizados por el hecho de que en la zona de los tejidos vasculares de raíces de *J. procumbens* se evidenció la presencia de masas citoplasmáticas de grandes dimensiones conteniendo numerosos núcleos, de grandes dimensiones y de forma variada, desde esférica a ovoide o totalmente ameboide. En cada núcleo se observó a su vez un nucleolo bastante evidente. La naturaleza multinucleada de los sincicios, de acuerdo con las observaciones realizadas, se debe a la incorporación de células contiguas y la subsecuente fragmentación de sus paredes celulares, eventos evidenciados en los tejidos de raíces de *J. procumbens*, por la presencia de grandes espacios entre las paredes de células vecinas que constituían en conjunto a cada sincicio y por la incorporación de sus núcleos en una misma masa citoplasmática. De acuerdo con Jones (1981), las aberturas que se forman por dicha fragmentación de las paredes permiten el libre movimiento de organelos y núcleos entre las células que forman al sincicio. Endo (1985), observando raíces de soya y tabaco encontró que las disoluciones de la pared coincidían con los sitios que originalmente eran ocupados por campos primarios de punteaduras. Dado que en el córtex la expansión del sincicio es limitada, los espacios que se forman entre las células, observados con microscopía electrónica de barrido, son redondeados; en cambio, en el caso de sincicios formados en la región de los tejidos vasculares, donde el crecimiento es mayor, se suelen observar solamente columnas de remanentes de pared celular que marcan la línea de las células originales y dando la impresión de que las paredes son plásticas y fácilmente deformables (Jones, 1981).

J. procumbens no ha sido registrada como hospedera de alguna especie de *Globodera*, por lo que la ocurrencia de un tipo de transformación de tejidos radicales muy similar al señalado en otros hospedantes confirma el hecho de que el tipo básico de respuesta del hospedante es aparentemente una función del nematodo más que del hospedante (Mundo-Ocampo y Baldwin, 1983a y b) y dicho tipo de respuesta, debido al efecto patógeno de un

género de nematodo dado, es consistente entre una gran variedad de especies del hospedante (Jones y Dropkin, 1975 y Mundo-Ocampo y Baldwin, 1983 b).

De la ubicación del sincicio causado por los nematodos formadores de quistes, se sabe que esta estructura celular puede localizarse en el periciclo, la endodermis o en el córtex adyacente (Jones, 1981). En el presente caso, los sincicios observados se ubican muy cerca de la zona de los tejidos vasculares, ocupando además parte de periciclo y endoermis hasta llegar al córtex en algunos casos, y provocando que los elementos conductores se distorsionen y sean desplazados. Este es un efecto común aún entre diferentes respuestas inducidas en su hospedante por parte de otros Heteroderinae como *Meloidodera* spp. (Cid del Prado y Cárdenas, 1995). La forma general de los sincicios obseados se asemeja a la que adopta la célula gigante uninucleada inducida por *S. hydrophila* (Mundo-Ocampo y Baldwin, 1983a), donde el sitio de alimentación, que colinda con la orilla interna del córtex, se expande radialmente y dichas células tienden a estrecharse en la zona de los haces vasculares en contacto con el floema y el xilema. Se sabe que a medida que las células cambiales son incorporadas al sincicio y se van conformando los engrosamientos secundarios de los elementos traqueales ya presentes, los sincicios no permiten la formación de nuevo xilema en el sitio que ellos ocupan; ello lleva al desarrollo de sincicios que adoptan una forma de cuña en vista transversal, en contacto con varios elementos del xilema recién diferenciados que se forman en sitios donde el crecimiento secundario debería darse (Jones, 1981).

Por otro lado, y a diferencia de otros géneros que causan la hipertrofia de células, en el presente caso se observó la formación de sobrecrecimientos en la pared del sincicio adyacente a los tejidos vasculares. Estos sobrecrecimientos fueron primeramente señalados por Jones y Northcote (1972) sobre la superficie interna de la pared celular. Aparentemente dichos sobrecrecimientos facilitan el movimiento de solutos del sistema vascular de las raíces para la alimentación del nematodo por incremento del área superficial del sincicio ya que amplifica el área de la membrana celular (Hoopes *et al.*, 1978 y Jones, 1981). Tal sugerencia se basa en la íntima relación espacial que guardan tales sobrecrecimientos principalmente con los elementos de vaso ya que sólo es en esa zona donde tales sobrecrecimientos se observan. Estos sobrecrecimientos son depósitos de pared secundaria no lignificados y se componen de microfibrillas irregulares de celulosa así como de material de la matriz celular (Jones, 1981). Tal y como lo menciona Jones (1981), estos sobrecrecimientos son característicos en las

llamadas células de transferencia que algunas plantas presentan de manera natural; incluso, en tales células los núcleos suelen ser grandes y ameboides, su vacuola principal se fragmenta en varias vacuolas o puede desaparecer y en el citoplasma organelos como las mitocondrias y el aparato de Golgi incrementan en número. De acuerdo con Jones y Northcote (1972), estos sobrecrecimientos son muy similares entre los nematodos formadores de quistes y los agalladores y en cuyos casos se asocian a la transferencia de nutrientes de la planta a la estructura celular nutricia correspondiente. En general este tipo de engrosamiento es característico en células más cercanas a los elementos de vaso que a los elementos del tubo criboso (Jones y Northcote, 1972). Una explicación a ello es que durante la expansión sincicial, los elementos de tubo criboso son destruidos por lo que el desarrollo de tales sobrecrecimientos continua sobre las paredes del sincicio que se hallan adyacentes a los elementos de vaso (Endo, 1985).

Tal y como sucede con otras estructuras celulares inducidas por diferentes géneros de nematodos en su hospedante, los sincicios observados presentaban una zona delimitada por paredes celulares delgadas, positivas al verde rápido, y otra con el engrosamiento secundario de la pared celular principalmente en el sitio de alimentación del nematodo (Hoopes *et al.*, 1978, Cid del Prado y Lownsbery, 1984 y Cohn *et al.*, 1984). De acuerdo con Mundo-Ocampo y Baldwin (1983a), este engrosamiento se debe al depósito de material en la pared adyacente a la cabeza del nematodo como una respuesta de defensa ante la penetración del estilete. Asimismo, dicho engrosamiento está constituido por materia fibrosa y su estructura química incluye pectinas y hemicelulosa. Tal engrosamiento observado en el sitio de alimentación, de acuerdo con Endo (1978), puede deberse a una respuesta del hospedante o bien ser un mecanismo inducido por el nematodo con el fin de guiar el movimiento del estilete, permitiendo tapar la pared celular durante la retracción del estilete o la muda del nematodo.

Característico y semejante a otros géneros, es el hecho de que el tejido vegetal adyacente al cuerpo de la hembra y que se extiende más allá de ella está totalmente necrosado (Cohn *et al.*, 1984 y Taylor *et al.*, 1978). Tal destrucción celular suele suceder conforme la hembra crece y rompe la epidermis del hospedante (Heald, 1984).

Otra característica del sincicio que se observó en tejidos de raíces de *J. procumbens*, es el aspecto denso y granular, sin vacuolaciones, que adquiere el citoplasma. Tal característica se corresponde con un incremento en el número de organelos dado el aumento en el metabolismo que en los sincicios se lleva al cabo (Hoopes *et al.*, 1978 y Mundo-Ocampo y Baldwin, 1983b). La aparente ausencia de vacuolaciones no es sino el efecto de la sustitución de la vacuola principal por numerosas y muy pequeñas vacuolas (Jones, 1981). La densidad del citoplasma aumenta por la producción excesiva de ribosomas y polisomas; a su vez, tanto las mitocondrias como el aparato de Golgi proliferan y los plastidios con o sin granos de almidón proliferan de manera considerable (Jones, 1981). Según Jones y Northcote (1972), algunos organelos como los plastidios suelen anclarse a los componentes del citoesqueleto y permanecer así adheridos a las paredes celulares o bien a los núcleos; así, al parecer la mayoría de los organelos son retenidos con el citoesqueleto hasta que comienza la senescencia de los sincicios y solamente el citoplasma, incluyendo algunos solutos y ribosomas, son los elementos que fluyen hacia el nematodo. Aunque no se ha documentado la división nuclear dentro de los sincicios, sí se manifiesta un incremento en la síntesis de ADN que lleva al crecimiento de los núcleos inmediatamente después de su incorporación a dichos sincicios (Jones, 1981).

Aunque no fueron frecuentes en los cortes obtenidos, la presencia de corpúsculos, con las características aquí mencionadas, ubicados dentro del sincicio no ha sido registrada por lo que al respecto es conveniente completar este tipo de estudios a nivel morfológico con pruebas histoquímicas que ayuden a determinar bioquímicamente la naturaleza de tales entidades. Con relación a las hifas aparentemente presentes dentro de algunas células del sincicio, cabe mencionar que no en todos los cortes donde se observaron sincicios se presentaron, por lo que puede considerarse que el efecto en la planta, en cuanto a la histopatología, se debe de manera muy directa a la actividad del nematodo. Además, la presencia de los hongos bien puede ser una consecuencia de la actividad de alimentación del nematodo, ya que en su estilete puede transportar esporas o partículas de diferentes microorganismos que durante la alimentación se vierten al contenido citoplasmático de la célula de la cual se alimenta.

Como un comentario adicional, vale la pena mencionar que el hecho de que se presente una alteración a nivel de los tejidos y que a su vez se manifieste en altas densidades

el nematodo en cada ciclo de crecimiento del hospedante, es un signo de que con dicha relación el nematodo se ve beneficiado. A su vez, ello no le corresponde una disminución en la ocurrencia del hospedante sino que al contrario, ésta se mantiene cada ciclo de floración. Read (1994) considera que los patógenos frecuentemente suelen ser menos virulentos (concepto que engloba tanto la capacidad de un patógeno para colonizar e invadir al hospedante como la severidad del daño que produce en él) en sus hospedantes nativos que en los nuevos, concepción que lleva a considerar que la presente relación hospedante-parásito no es reciente, alcanzándose ya, probablemente, un nivel en el que ambos coexisten sin perjuicio total del uno sobre el otro.

V. CONCLUSIONES

1. Este es el primer registro acerca de la presencia de una especie del género *Globodera* en la "Cañada de Contreras", México, D. F.
2. *Jaltomata procumbens* es por primera vez reportado como hospedante de una especie del género *Globodera*.
3. Aunque por algunos caracteres *Globodera* sp. de Contreras se asemeja al complejo *Globodera tabacum*, y en específico a la subespecie *G. t. tabacum*, existen diferencias en caracteres de importancia taxonómica con respecto a las tres subespecies de dicho complejo, que llevan a considerar que se trata de una especie aún no descrita.
3. El registro y caracterización de *Globodera* sp. de Contreras contribuye de manera importante a ampliar el rango de distribución que al momento se conoce del género *Globodera*, y en general de los nematodos formadores de quistes en nuestro país.
4. Este es el primer reporte acerca del daño que ocasiona una especie del género *Globodera* en tejidos de la raíz de *J. procumbens*
5. *Globodera* sp. de Contreras causa en su hospedante la formación de un sincicio asociado a los tejidos vasculares, respuesta reportada para otras especies del género en diferentes hospedantes.

VI. LITERATURA CITADA

- ACEDO, J. R., V. H. DROPKIN & V. D. LUEDDERS. 1984. Nematode Population Attrition and Histopathology of *Heterodera glycines*-Soybean Associations". *J. Nematol.* 16 (1):48-57
- AGRIOS, G. N. 1996. *Fitopatología*. 2ª. ed. Limusa, México. 838 pp.
- AGUILAR, S. R. 1985. *Solanaceae*. En: *Flora Fanerogámica del Valle de México. Vol II. Dicotyledoneae (Euphorbiaceae-Compositae)*. (Rzedowski, J. & G. Rzedowski). ENCB e Instituto de Ecología, México. pp. 315-340.
- BALDWIN, J. A. 1985. *Morphology of Heteroderidae as a basis for analyzing phylogeny and developing taxonomic systems*. En: *Fitonematología Avanzada I*. (Marbán, M. N. y Thomason, I. J. eds.). Colegio de Posgraduados, México. pp. 19-36
- BALDWIN, J. A. & M. Mundo-Ocampo. 1991. *Heteroderinae, cyst-and non-cyst-forming nematodes*. En: *Manual of Agricultural Nematology* (Nickle, W. R. ed.) Marcel Dekker, USA. pp. 275-362.
- BERLYN, G. P. & J. P. Miksche. 1976. *Botanical Microtechnique and Cytochemistry*. The Iowa State University Press, USA. 326 pp.
- BRODIE, B. B. 1998. *Potato Cyst Nematodes (Globodera spp.) in Central and North America* In: *Potato Cyst Nematodes. Biology, Distribution and Control* (Marks, R. J. y Brodie, B. B. eds.) CAB International, UK. pp. 317-331.
- CAVENESS, F. E. 1974. *A glosary of nematological terms*. IITA, Nigeria. 83 pp.
- CHITWOOD, B. G. & M. E. BUHRER. 1946. The life history of the golden nematode of potatoes *Heterodera rostochiensis* Wollenweber, under Long Island, New York conditions. *Phytopathology* 36(3):180-189.

- CID DEL PRADO, V. I. & B. F. LOWNSBERY. 1984. Histopathology and host range studies of the redwood nematode *Rhizonema sequoiae*. *J. Nematol.* 16(1):68-72.
- CID DEL PRADO V. I. y E. S. CÁRDENAS. 1995. Histopatología inducida por dos especies de *Meloidodera* (Nemata: Heteroderinae) en raíces de chile y tejocote. *Nematropica* 25(1): 75-78.
- COBB, G. S. & A. L. TAYLOR. 1953. *Heterodera leptonepia*, n. sp., A cyst-forming nematode found in soli with stored potatoes. *Proc. Helm. Soc. Wash.* 20(1): 1315.
- COHN, E., D. T. KAPLAN & R. P. ESSER. 1984. Observations on the mode of parasitism and histopathology of *Meloidodera floridensis* and *Verutus volvingentis* (Heteroderidae). *J. Nematol.* 16(3):256- 264.
- DROPKIN, V. H. 1969. Cellular responses of plants to nematode infections. *Ann. Rev. Phytopath.* 7(101)
- EISENBACK, J. D. 1991. *Preparation of nematodes for Scanning Electron Microscopy* En: *Manual of Agricultural Nematology* (Nickle, W. R. ed.) Marcel Dekker, USA. pp. 87-96.
- ENDO, B. V. 1964. Penetration and development of *Heterodera glycines* in soybean roots and related anatomical changes. *Phytopatholog.* 54:79-88
- ENDO, B. V. 1965. Histological responses of resistant and susceptible soybean varieties and backcross progeny to entry and development of *Heterodera glycines*. *Phytopathology* 55:357-381.
- ENDO, B. Y. 1971. *Nematode-induced syncytia (Giant cells). Host-parasite relationships of Heteroderidae*. En: *Plant parasitic nematodes. Vol 2.* (Zuckerman, B. M. *et al* eds.). Academic Press, London. xvi+347 pp.

- ENDO, B. Y. 1975. Pathogenesis of nematode infected plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 13:213-238.
- ENDO, B. Y. 1978. Feeding plug formation in soybean roots infected with the soybean cyst nematode. *Phytopathology*. 68:1022.
- ENDO, B. Y. 1985. *Histology and ultrastructural modification induced by cyst nematodes*. In: *Cyst Nematodes* (F. Lamberti & C. E. Taylor eds.). Plenum Press, USA. pp. 133-146.
- FORTUNER, R. 1984. Statistics in taxonomic descriptions. *Nematologica* 30:187-192.
- FORTUNER, R. 1991. *Field sampling and preparation of nematodes for optic microscopy*. En: *Manual of Agricultural Nematology* (Nickle, W. R. ed.) Marcel Dekker, USA. pp. 75-87.
- FUENTES, C. C, V. I. CID DEL PRADO & M. E. ZAVALA. 1997. Patogenicity of *Meloidodera mexicana* to *Capsicum annum* and evaluation of its host range. *International Journal of Nematology* 7(2): 174-177.
- GARCÍA, E. 1981. *Modificación al sistema de clasificación climática de Köppen*. 3ª ed. Enriqueta García-Indianapolis 30, México 18, D. F. 241 pp.
- GIPSON, Y., K. S. KIM & R. D. RIGGS. 1971. An structural study of syncytium development in soybean roots infected with *Heterodera glycines*. *Phytopathology* 40:135-152.
- GOLDEN, A. M. & D. M. S. ELLINGTON. 1972. Redescription of *Heterodera rostochiensis* (Nematoda: Heteroderidae) with a key and notes on closely related species. *Proc. Helm. Soc. Wash.* 39(1): 64-78.
- GOLDEN, A. M. & O. KLINDIC. 1973. *Heterodera achilleae* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae) from Yarrow in Yugoslavia. *Journal of Nematology* 5(3): 196-201.

- GOLDEN, A. M. 1985. *Morphology and identification of cyst nematodes*. In *Cyst Nematodes* (F. Lamberti & C. E. Taylor eds.). Plenum Press, USA. pp. 23-45.
- GOMMERS, F. J. & V. H. DROPKIN. 1977. Quantitative histochemistry of nematode induced transfer cells. *Phytopathology* 67:869-873.
- GRAINGER, J. 1964. Factor affecting control of the eelworm diseases. *Nematologica* 10: 5-24.
- GRANEK, I. 1955. Additional morphological differences between the cysts of *Heterodera rostochiensis* and *Heterodera tabacum*. *Plant Dis. Rep.* 39(10): 716-718.
- GREEN, C.D. 1971. The morphology of the terminal area of the round-cyst nematodes, s. g. *Heterodera rostochiensis* and allied species. *Nematologica* 17:34-46.
- GREET, D. N. 1974. The response of five round-cyst (Heteroderinae) to five artificial hatching agents. *Nematologica* 20:363-364.
- HEALD, C. M. 1984. Histopathology of okra and ridgeseed spurge infected with *Meloidodera charis*. *J. Nematol.* 16(1):105-108.
- HESLING, J. J. 1973. The estimation of Granek's ratio in round-cyst *Heterodera*. *Nematologica* 19: 119-120.
- HOOPER, D. J. 1986a. *Extraction of free-living stages of soil*. In: *Laboratory methods for work with plant and soil nematodes* (J. F. Southey). Ministry of Agriculture Fisheries and Food. Reference Book 402. London: Her Majesty's Stationery Office. pp 5-30.
- HOOPER, D. J. 1986b. *Extraction of nematodes from plant material*. In: *Laboratory methods for work with plant and soil nematodes* (J. F. Southey). Ministry of Agriculture Fisheries and Food. Reference Book 402. London: Her Majesty's Stationery Office. pp 50-58.

- HOOPER, D. J. 1986c. *Handling, fixing, staining and mounting nematodes*. In: *Laboratory methods for work with plant and soil nematodes* (J. F. Southey). Ministry of Agriculture Fisheries and Food. Reference Book 402. London: Her Majesty's Stationery Office. pp 59-94.
- HOOPES, R. W., R. E. ANDERSON & W. F. MAI. 1978. Internal response of resistant and susceptible potato clones to invasion by potato cyst nematode *Heterodera rostochiensis*. *Nematropica*. 8(1):13-20.
- JONES, M. G. K. & D. H. NORTHCOTE. 1972. Nematode induced syncytium-A multinucleate transfer cell. *J. Cell. Sci.* 10: 789.
- JONES, M. G. K. & V. H. DROPKIN. 1975. Cellular alterations induced in soybean roots by three endoparasitic nematodes. *Physiol. Pl. Pathol.* 5:119-124.
- JONES, M. G. K. 1981. *The development and function of plant cells modified by endoparasitic nematodes*. In: *Plant parasitic nematodes Vol. III*. (Zuckerman, B. M. y Rohde, R. A.). Academic Press, USA. pp. 255-279.
- KIRPATRICK 1964. Interrelationships pf plant nutrition, growth and parasitic nematodes. *Plant analysis and fertilizer problems* 4(189).
- LAMBERTI, F. & C. E. TAYLOR. 1985. *Cyst Nematodes*. Plenum Press, USA.
- LOOF, P. A. A. & J. BAKKER. 1992. Authorities, of specifics names in, and transfer to the nominal genus *Globodera* Skarbilovich, 1959. *Nematologica* 38: 385-386.
- LOWNSBERY, B. F. & J. W. LOWNSBERY. 1954. *Heterodera tabacum* new species, a parasite of solanaceous plants in Connecticut. *Proc. Helm. Soc. Wash.* 21(1): 42-47.
- LUC, M., A. R. MAGGENTI & R. FORTUNER. 1988. A repprasial of Tylenchina (Nemata). g. The family Heteroderidae Filip'ev & Schuurmans Stekhoven, 1941. *Revue Nématol.* 11(2): 159-176.

- MAGGENTI, A. R. 1982. *General Nematology*. Springer Verlag, USA. 372 pp.
- MILLER, L. I. & B. J. GRAY. 1968. Horsenettle cyst nematode, *Heterodera virginiae* n. sp., a parasite of solanaceous plants. *Nematologica* 14: 535-543.
- MILLER, L. I. & B. J. GRAY. 1972. *Heterodera solanacearum* n. sp., a parasite of solanaceous plants. *Nematologica* 18: 404-413.
- MONTES-BELMONT, R. 1988. *Nematología vegetal en México*. Soc. Mex. de Fitopatología, México. 158 pp.
- MOTA, M. M. & J. D. EISENBACK. 1993a. Morphology of second-stage juveniles and males of *Globodera tabacum tabacum*, *G. t. virginiae*, and *G. t. solanacearum* (Nematoda: Heteroderinae). *Journal of Nematology* 25(1): 27-33.
- MOTA, M. M. & J. D. EISENBACK. 1993b. Morphology of females and cyst of *Globodera tabacum tabacum*, *G. t. virginiae*, and *G. t. solanacearum* (Nematoda: Heteroderinae). *Journal of Nematology* 25(2): 136-147.
- MOTA, M. M. & J. D. EISENBACK. 1993c. Morphometrics of *Globodera tabacum tabacum*, *G. t. virginiae*, and *G. t. solanacearum* (Nematoda: Heteroderinae). *Journal of Nematology* 25(2): 148-160.
- MULVEY, R. H. 1957. Taxonomic value of the cone top and the underbridge in the cyst-forming nematodes *Heterodera schachtii*, *H. schachtii* var *trifoli*, and *H. avenae* (Nematoda: Heteroderidae). *Can. J. Zool.* 35:421-423.
- MULVEY, R. H. 1972. Identification of *Heterodera* cysts by terminal and cone top structures. *Can. J. Zool.* 50:1277-1292.
- MULVEY, R. H. 1973. Morphology of the terminal areas of white females and cysts of the genus *Heterodera* (s. g. *Globodera*). *Journal of Nematology* 5(4):303-311.

- MULVEY, R. H. 1974. Cone-top morphology of the white females and cysts of the genus *Heterodera* (subgenus *Heterodera*), a cyst-forming nematode. *Can. J. Zool.* 52:77-81.
- MULVEY, R. H. & A. R. STONE. 1976. Description of *Punctodera matadorensis* n. gen., n. sp. (Nematoda: Heteroderidae) from Saskatchewan with list of species and generic diagnoses of *Globodera* (n. rank), *Heterodera*, and *Sarisodera*. *Can. J. Zool.* 54: 772-785.
- MULVEY, R. H. & A. M. GOLDEN. 1983. An illustrated key to the cyst-forming genera and species of Heteroderidae in the Western Hemisphere with species morphometrics and distribution. *Journal of Nematology* 15(1) 1-59.
- MUNDO-OCAMPO, M. 1985. *Cambios celulares inducidos por algunos géneros de la familia Heteroderidae en sus hospedantes*. En: *Fitonematología Avanzada I*. (Marbán, M. N. y Thomason I. J. eds.). Colegio de Posgraduados, México. pp. 37-45.
- MUNDO-OCAMPO, M. & J. G. BALDWIN. 1983a. Host responses to *Meloidodera* spp. (Heteroderidae). *J. Nematol.* 15:544-554.
- MUNDO-OCAMPO, M. & J. G. BALDWIN. 1983b. Host responses to *Sarisodera hydrophyla* Wouts and Sher, 1971. *J. Nematol.* 15:259-269.
- MUNDO-OCAMPO, M. & J. G. BALDWIN. 1983c. Host-parasite relationships of *Atalodera* spp. (Heteroderidae). *J. Nematol.* 15:234-242.
- MUNDO-OCAMPO, M. & J. G. BALDWIN. 1984. Comparison of host response of *Cryphodera utahensis* with other Heteroderidae, and a discussion of phylogeny. *Proced. Helminthol. Soc. Wash.* 51(1):25-31.
- OTHMAN, A. A. & J. G. BALDWIN. 1985. Comparative morphology of *Meloidodera* spp. and *Verutus* spp. (Heteroderidae) with Scanning Electron Microscopy. *Journal of Nematology* 17(3):297-309.

- OTHMAN, A. A., J. G. BALDWIN & A. H. BELL. 1986. Comparative morphology of *Atalodera* spp. and *Thecavermiculatus* spp. (Heteroderidae) with Scanning Electron Microscopy. *Journal of Nematology* 18(3):275-287.
- OWENS, R. G. & H. N. SPECHT. 1964. Root knot histogenesis. *Contrib. Boyce Thompson*. 22(471).
- ROBERTS, P. A. & A. R. STONE. 1981. Host ranges of *Globodera* species within *Solanum* subgenus *Leptostemonum*. *Nematologica* 27:172-189.
- SÁNCHEZ, S. O. 1979. *La flora del Valle de México*. 5ª ed. Herrero, México. 519 pp.
- SEINHORST, J. W. 1959. A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. *Nematologica* 4:67-69.
- SEINHORST, J. W. & Den Ouden, H. 1971. The relation between density of *Heterodera rostochiensis* and growth and yield of two potato varieties. *Nematologica* 17(347).
- SHEPHERD, A. M. 1986. *Extraction and estimation of cyst nematodes*. In: *Laboratory methods for work with plant and soil nematodes* (J. F. Southey). Ministry of Agriculture Fisheries and Food. Reference Book 402. London: Her Majesty's Stationery Office. pp 31-50.
- SOSA-MOSS, C. 1985. *Cyst nematodes in Mexico, Central and South America*. In *Cyst Nematodes* (F. Lamberti & C. E. Taylor eds.). Plenum Press, USA. pp. 397-398.
- STONE, A. R. 1971. Effect of processing on measurements of *Heterodera rostochiensis* larvae. *Nematologica* 17:167-171.
- STONE, A. R. 1972. *Heterodera pallida* n. sp. (Nematoda: Heteroderidae) a second species of potato cyst nematode. *Nematologica* 18: 591-606.

- STONE, A. R. 1975. Head morphology of second-stage of some Heteroderidae (Nematoda: Tylenchoidea). *Nematologica* 21: 81-88.

- STONE, A. R. 1977. Recent developments and some problems in the taxonomy of cyst nematodes, with a clasification of the Heteroderoidea. *Nematologica*. 23: 273-288.

- STONE, A. R. 1985. *Taxonomy and Phylogeny of Cyst Nematodes*. In *Cyst Nematodes* (F. Lamberti & C. E. Taylor eds.). Plenum Press, USA. pp. 1-22

- TAYLOR, D. P., P. CADET & M. LUC. 1978. An unique host-parasite relationships between *Hylonema ivorense* (Nematoda: Heteroderidae) and the roots of a tropical rain forest tree. *Rev. Nematol.* 1:99-108.

- THIÉRY, M., D. FOUVILLE & D. MUGNIÉRY. 1997. Intra –and interspecific variability in *Globodera*, parasites of solanaceous plants, revealed by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and correlation with biological features. *Fundam. appl. Nematol.* 20(5): 495-504.

- THORNE, G. 1961. *Principles of Nematology*. Mc Graw-Hill Book, USA. 553 pp.

- TURNER, S. J. 1998. *Sample preparation, soil extraction and laboratory facilities for the detection of potato cyst nematodes*. In: *Potato Cyst Nematodes. Biology, distribution and control*. (R. J. Marks & B. B. Brodie eds). CAB International, UK. 408 pp.

- WOUTS, W. M. & S. A. SHER. 1971. The genera of the subfamily Heteroderinae (Nematoda : Tylenchida) with a description of two new genera. *Journal of Nematology* 3(2): 129-144.

VII. APENDICE A

(Técnicas de Laboratorio)

A. EXTRACCIÓN DE QUISTES DEL SUELO MEDIANTE EL USO DEL FLOTADOR DE FENWICK (Shepherd, 1986).

- 1.- El primer paso es lavar el Flotador de Fenwick con agua corriente para eliminar la posibilidad de contaminación de muestras.
- 2.- Ya lavado, el flotador se tapa en su parte inferior y se llena con agua hasta el borde.
- 3.- Posteriormente se coloca la muestra de suelo, previamente secada al ambiente, sobre una coladera en la parte superior de éste y en la salida del collar del aparato se colocan los tamices de 20 y de 100 mallas con el fin de recibir los quistes.
- 4.- La muestra de suelo se expone a una corriente de agua hasta que ésta se desborde para que los quistes que flotan se deslicen hacia el cuello del aparato.
- 5.- Los quistes retenidos en el tamiz de 100 mallas se recolectan en un vaso de precipitados de plástico de 250 ml al que previamente se le ha colocado una tira de papel absorbente revistiendo sus paredes y un cierto volumen de agua.
- 6.- Sobre el agua del vaso se coloca una porción del material retenido en el tamiz y se deja reposar unos segundos.
- 7.- Posteriormente, se adiciona una gota de solución jabonosa para romper la tensión superficial del agua y permitir el libre movimiento de quistes y partículas hacia las paredes del vaso.
- 8.- El papel con quistes y partículas adheridas se saca con cuidado y se coloca sobre un vidrio para dejar secar el material al aire libre.
- 9.- Una vez seco el material, éste se vierte sobre un embudo de vidrio para depositar el material en un frasco o en una caja Petri. Parte de la materia orgánica se retiene en las paredes del embudo, no así los quistes.
- 10.- Una mayor depuración del resto de la extracción se logra disgregando la materia orgánica sobre un pliego largo de papel filtro e inclinándolo sobre el mismo embudo de vidrio. Los quistes y demás material que más o menos es esférico, ruedan fácilmente y se recolectan en un frasco, separándose con ello de gran parte de la materia orgánica que queda adherida en el papel filtro.
- 12.- De este material recolectado en el frasco, se van tomando pequeñas muestras que se

colocan en una placa acanalada de color blanco con el fin de revisarlo bajo el microscopio de disección y así separar únicamente los quistes utilizando una aguja de insulina humedecida.

B.- OBTENCIÓN DE HEMBRAS BLANCAS A PARTIR DEL TEJIDO RADICAL Y SUELO DE LA RIZÓSFERA (Cid del Prado, 1998 comunicación personal).

- 1.- Las plantas hospedantes del nematodo deben extraerse con mucho cuidado, evitando el movimiento brusco de la raíz y tratando de retener la mayor cantidad de suelo de la rizósfera.
- 2.- Las raíces se lavan cuidadosamente sobre los tamices de 20 y 100 mallas. En el primero se retienen piedras y material orgánico grande y en el segundo, parte de suelo y hembras blancas que se hallan desprendido de la raíz.
- 3.- Una vez lavadas las raíces, éstas se examinan al microscopio de disección para ver los segmentos donde se hallan hembras blancas aún adheridas.
- 4.- Las hembras blancas se separan directamente de las raíces infestadas empleando un par de jeringas de insulina bajo un microscopio de disección y se colocan en un recipiente con agua para evitar su deshidratación.
- 5.- En cuanto al suelo retenido en el tamiz de 100 mallas, este se colecta en un vaso de precipitados de capacidad acorde con la cantidad de suelo retenida. Este suelo se reparte en varias cajas Petri, mismas que se examinan directamente bajo el microscopio de disección y las hembras blancas, con un pincel fino, se transfieren a un frasco con agua (20 ml).

C. EXTRACCIÓN DE NEMATODOS DEL SUELO MEDIANTE LA TÉCNICA DE TAMIZADO-CENTRIFUGADO (Jenkins, 1964; Hooper, 1986a).

- 1.- Se coloca la muestra de suelo sobre un plástico y se mezcla perfectamente, eliminando a su vez materia orgánica y piedras presentes en dicha muestra.
- 2.- En una probeta de 1 litro se colocan aproximadamente 200 ml de suelo y se afora hasta 1000 ml para luego vaciar la suspensión en una cubeta. La probeta se vuelve a llenar hasta los 1000 ml y se vacía dicho volumen en la misma cubeta.
- 3.- El suelo se mezcla con la mano para desintegrar los terrones y se agita. La suspensión se deja reposar aproximadamente 45 segundos y después se pasa por el tamiz de 60 mallas, recibiendo el tamizado en otra cubeta. Este paso tiene el fin de retener materia orgánica y partículas grandes de suelo. Finalmente, con la manguera se lava el tamiz y el suelo que

queda asentado en la cubeta se elimina.

4.- El material recolectado en la cubeta se resuspende y se dejan transcurrir nuevamente 45 segundos para luego pasar la suspensión por el tamiz de 100 mallas hacia otra cubeta. El material retenido en dicho tamiz se colecta con la ayuda de una piceta en un frasco y lo que quede en la cubeta se agita.

5.- La operación anterior se repite haciendo pasar la suspensión por los tamices, primero de 325 mallas y luego por el de 400 mallas.

6.- El total recolectado en los tamices de 100, 200, 325 y 400 mallas se distribuye en tubos de centrifuga de 500 ml, manteniendo el peso equivalente en tubos opuestos.

7.- A cada tubo se le agrega aproximadamente 1 g de caolín, se agitan y se centrifugan a 2500 rpm durante 5 minutos.

8.- El sobrenadante se descarta y el sedimento se resuspende en una solución de sacarosa al 46 % (densidad de 1.18° Baume) para luego centrifugar a 2500 rpm durante 1 minuto.

9.- El sobrenadante se colecta en un tamiz de 500 mallas y se agrega agua inmediatamente para eliminar el exceso de azúcar y evitar que los nematodos sufran daños por plasmólisis.

10.- Los nematodos se recolectan en frascos de 10 ml o bien en una cámara cuantamenatodos y revisarse la muestra bajo el microscopio estereoscópico.

11.- Si la muestra va a ser analizada posteriormente, ésta puede colectarse en un frasco y guardarse en el refrigerador a 4°C.

D. MONTAJES TEMPORALES DE NEMATODOS PARA LA OBSERVACIÓN DE CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES EN FRESCO.

D. 1. Montaje de estadios filiformes.

1.- Cada ejemplar, bajo el microscopio de disección, se pasa a una gota de agua sobre un portaobjetos limpio utilizando un pescador.

2.- El portaobjetos se calienta pasándolo por la flama de una lámpara de alcohol durante unos segundos para relajar los ejemplares.

3.- Se agrega una gota de solución fijadora Robbins (Formaldehído 37%: 10 partes / Glicerina: 1 parte / Agua destilada: 89 partes) en el centro de otro portaobjetos y se colocan ahí de 2 a 3 especímenes relajados, asegurándose de que se encuentren en el fondo.

4.- A un lado de los individuos se colocan pequeñas calzas de unos 5 mm de largo y un

grosor similar a los nematodos arreglados en la gota, de esta manera se evita aplastar los ejemplares.

5.- Se coloca un cubreobjetos sobre la gota evitando la formación de burbujas y con una pequeña tira de papel ansorbente, bajo el microscopio de disección, se absorbe el exceso de líquido en la preparación.

6.- Los márgenes del cubreobjetos se sellan aplicando esmalte para uñas. Esto evita su desecación durante el proceso de observación y medición.

D. 2. Montaje de hembras blancas.

+ Para el caso de las hembras blancas obtenidas directamente de las raíces, es necesario hacer cortes tanto de cuellos (para el análisis del estilete, los nódulos basales y los detalles del esófago) como de la región perineal.

1.- Se coloca la hembra en una gota de agua sobre un portaobjeto excavado para trabajar bajo el microscopio de disección.

2.- La hembra se limpia con un pincel embebido en agua y con la aguja de una jeringa de insulina nueva se hace una incisión en la parte media del cuerpo para que los huevos y los órganos internos se salgan por ahí y evitar el desplazamiento de los mismos dentro del cuello al hacer presión para cortarlo.

3.- Una vez cortado el cuello, éste se separa con la aguja de la jeringa de insulina y se monta en agua, poniendo en posición equidistante algunas calcitas con el fin de evitar que el cubreobjetos lo aplaste y distorsione.

4.- La región perineal se separa haciendo varios cortes en la región posterior del cuerpo; después se limpia con un pincel embebido en agua para eliminar cualquier material adherido. El montaje de dicho trozo de cutícula, donde se encuentra la región perineal, se realiza siguiendo el mismo procedimiento descrito para el cuello.

5.- Las preparaciones temporales de cuellos y regiones perineales se sellan de la misma manera que para el caso de los estadios vermiformes y huevos.

E. PROCEDIMIENTO PARA TRANSFERIR NEMATODOS A GLICERINA PURA Y OBTENER BUENOS ESPECÍMENES EN LÁMINAS DE COBB (TÉCNICA DE DESHIDRATACIÓN MASIVA) (Seinhorst, 1959 modificado por Tom Burger, 1997).

- 1.- Todos los ejemplares a deshidratar se colocan en un frasco de vidrio de 10 ml con medio volumen de agua, mismo que se calienta a una temperatura aproximada de 65°C.
- 2.- Posteriormente, a dicho volumen de agua se le añade uno igual de formol frío al 4% ya que ello causa cambios dimensionales mínimos y preserva el material en muy buen estado (Stone, 1971).
- 3.- Después de un mínimo de 2 semanas, la mitad de la solución de formol se remueve y se reemplaza con la solución A (Etanol 96%: 20 partes / Glicerina: 1 parte / Agua destilada: 79 partes).
- 4.- Al día siguiente, el líquido de los frascos se remueve y se reemplaza otra vez con la solución A.
- 5.- Inmediatamente después, la suspensión de nematodos se transfiere a una caja Petri de 6 cm de diámetro debidamente etiquetada y se coloca en una cámara con etanol a 40°C.
- 6.- Después de 2 a 3 días el líquido se remueve teniendo cuidado de no absorber los nematodos. Se deja aproximadamente 1 ml y se agrega la solución B (Etanol 96%: 93 partes / Glicerina: 7 partes) hasta llenar prácticamente la caja. Esta se debe dejar en un sitio a temperatura ambiente para que gradualmente se evapore el alcohol.
- 7.- Una vez que la solución B se ha evaporado unos 2/3 de la caja, el líquido remanente se reemplaza con la solución C (Etanol 96%: 80 partes / Glicerina: 20 partes). También en este momento la caja debe dejarse a temperatura ambiente.
- 8.- Ya que se haya evaporado el alcohol de la solución, es decir, ya no huele a alcohol, la caja Petri con la suspensión de nematodos se coloca dentro de una estufa a 40°C durante 2 días.
- 9.- Luego de dicho período, la caja se coloca en un desecador con cloruro de calcio para remover los remanentes de agua. Los nematodos deshidratados pueden almacenarse en una caja Petri o en el desecador.
- 10.- Los nematodos, luego de este procesamiento, se montan en las laminillas de Cobb y se sellan con anillo de cera.

F. MONTAJES PERMANENTES DE NEMATODOS SELLADOS CON ANILLO DE CERA (Maeseneer y d'Herde, 1963, modificado).

- 1.- Se seleccionan, de los ejemplares previamente deshidratados y mantenidos en glicerina pura, aquéllos que se hallen poco alterados y cuyas estructuras internas se observen en buenas condiciones.

- 2.- En el centro de un cubreobjetos de 24X24 mm, colocado en una laminilla de Cobb, se pone una gota de glicerina pura.
- 3.- Bajo el microscopio de disección se coloca la caja que contiene los nematodos ya deshidratados y se transfieren algunos de ellos (1 - 4) con un pescador.
- 4.- Los nematodos se colocan en el fondo de la gota con ayuda del pescador.
- 5.- Posteriormente, se forma un círculo de cera alrededor de la gota con la ayuda de un tubo de cobre de ½" que se calienta a la flama de una lámpara de alcohol y se coloca sobre una caja con cera solidificada. Al colocar el tubo aún caliente sobre el cubreobjetos se forma un anillo con un diámetro aproximado de 1.5 cm. Se deja que el anillo se solidifique.
- 6.- Se procede a colocar el cubreobjetos circular (18 mm) sobre el anillo de cera con una pinza. Debe cuidarse antes de colocar el cubreobjetos, que la preparación no contenga burbujas de aire de ningún tamaño; si existen, se pueden eliminar colocando la preparación sobre una superficie caliente sólo por algunos segundos.
- 7.- Una vez lista la preparación, ésta se coloca sobre una plancha caliente para permitir que el anillo de cera se funda y quede así sellada.
- 8.- La preparación se etiqueta anotando a la izquierda el nombre científico, el número y sexo de los ejemplares y del lado derecho, el hospedante, localidad, nombre del colector y fecha de colecta.

G. CORTE Y MONTAJE DE LA REGIÓN FENESTRAL DE QUISTES.

G. 1. Corte de la región fenestral

- 1.- Se separan los quistes que se hallen en mejores condiciones a partir del material obtenido con el Flotador de Fenwick (Shepherd, 1966). Dicha separación se lleva al cabo utilizando una aguja de insulina de 1 ml humedecida.
- 2.- Los quistes separados se colocan en un microsiracusa o en una caja Petri de 6 cm de diámetro con agua, con el fin de que se remojen por espacio de 20 minutos.
- 3.- Una vez transcurridos los 20 minutos, los quistes a disectar se colocan en una gota de agua en un portaobjetos excavado.
- 4.- Bajo un microscopio de disección los quistes se colocan de manera lateral ya que con frecuencia la región fenestral se encuentra localizada opuesta a la región del cuello. Una vez colocados de esta manera, con una aguja de insulina nueva, los quistes se parten por la mitad

tratando de que dicho corte sea de un solo golpe para evitar que queden bordes.

5.- Tanto los huevos, que se hallan dentro de los quistes, como los restos de la región terminal se remueven usando un pescador para no dañar las estructuras asociadas.

6.- El excedente de cutícula alrededor de la región fenestral se recorta teniendo cuidado de no eliminar la región del ano.

7.- Las regiones terminales fuertemente pigmentadas pueden aclararse un poco embebiendo éstas en una gota de agua oxigenada por espacio de 10 a 15 minutos. Esta solución además permite disgregar parte de la materia orgánica que pudiese haber quedado adherida a la región terminal.

G. 2. Montaje de la región fenestral.

1.- Sobre un cubreobjetos limpio de 24X24 mm, dentro de una laminilla de Cobb, se coloca un pequeño trozo de jalea glicerizada la cual debe ser fundida colocándola sobre una plancha a 60°C.

2.- Una vez fundida la jalea, cada región fenestral se transfiere con la ayuda de un pescador y una aguja de insulina a dicha gota. El corte debe ser colocado de forma invertida.

3.- Ya que se ha puesto el corte en la gota, se coloca un anillo de cera alrededor de la gota tal y como se describe para los montajes permanentes.

4.- Posteriormente, se pone un cubreobjetos redondo de 18 mm de diámetro sobre el anillo y la preparación se coloca sobre la plancha a 60°C para que la cera se funda y así quede, posteriormente, la preparación sellada.

H. MEDICIÓN DE LOS EJEMPLARES MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE LA CAMARA CLARA.

1.- Primeramente, el microscopio debe ubicarse a una distancia tal, que la imagen quede centrada en el espejo que la refleja del microscopio hacia la superficie de dibujo.

2.- Luego el brazo móvil sobre el que se encuentra dicho espejo, se coloca a una distancia de 13.5 cm entre el extremo más distante al espejo y el eje perpendicular que sostiene dicho brazo. Esta distancia es importante ya que es un dato que se debe considerar en la transformación de las unidades de medida y además, es una distancia que ha sido previamente establecida al momento de la calibración de la cámara clara utilizada.

3.- Se coloca la preparación, se enfoca y se regula la iluminación considerando la abertura del diafragma, el condensador, el filtro y la intensidad de luz del microscopio. La iluminación debe permitir observar claramente tanto al espécimen en la superficie de dibujo, como el lápiz con el cual se dibujará sobre el contorno de la imagen.

4.- Se trazan segmentos rectos o curvos según sea el caso, para indicar la longitud de las diferentes estructuras a medir. Cada segmento se marca con una clave para saber de qué estructura se trata.

5.- Una vez marcados, cada segmento se mide utilizando un curvómetro con el cual se obtienen medidas en centímetros. Ahora bien, para transformar los centímetros en micrómetros se debe considerar la siguiente relación:

Objetivo 10X y longitud del brazo de 13.5 cm = 250X de magnificación

Objetivo 45X y longitud del brazo de 13.5 cm = 1000X de magnificación

Objetivo 100X y longitud del brazo de 13.5 cm = 2500X de magnificación

y a partir de dicha relación, se aplica la siguiente fórmula para obtener medidas en micrómetros:

Coeficiente de conversión = (Medida en mm X 1000)/ Magnificaciones = Medida en μm

+ A partir de las medidas obtenidas se pueden calcular varios índices que son importantes en la morfometría de cada uno de los estadios. Estos índices se conocen como Índices de Man.

Índices de Man (Caveness, 1974)

Índice L.- Largo del cuerpo

Índice a.- longitud del cuerpo / ancho mayor del cuerpo

Índice b.- longitud total del cuerpo / longitud de esófago -desde cabeza a la válvula
esófago-intestinal

Índice b'.- longitud total del cuerpo / longitud de esófago -desde cabeza al término de

glándulas esofágicas

Índice c.- longitud del cuerpo / longitud de la cola

Índice c'.- longitud de la cola / ancho del cuerpo a nivel de la cloaca

Índice h.- Longitud de la región hialina

Índice h'.- largo de la región hialina / ancho al inicio de ésta.

Índice O.- (longitud de la desembocadura de la glándula esofágica dorsal a partir de los
nódulos del estilete / longitud del estilete) X100

Índice T.- (longitud del testículo / longitud total del cuerpo) X 100

+ Para dibujar los ejemplares, se siguen el mismo proceso que para la medición de los mismos, excepto que para tal efecto se debe tener un mayor cuidado de dibujar sobre cada detalle y estructura de los mismos. El dibujo debe hacerse bajo el mayor aumento ya que así se pueden evidenciar mejor los caracteres. De cada estadio se elige el mejor ejemplar para dibujarlo. Dada la amplitud de las imágenes, éstas se hacen en varios segmentos que luego se unen y se reducen para su posterior entintado.

I. PROCESAMIENTO DE ESPECÍMENES PARA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.

I.1. 1. Procesamiento de estadios filiformes y hembras blancas (Eisenback, 1991).

1.- Los especímenes se colocan en bolsas hechas con papel seda, tanto para contenerlos como para facilitar el paso y contacto de las soluciones con los organismos.

2.- Cada una de las bolsas se colocan en frascos de 15 ml con agua corriente a una temperatura de 4°C.

3.- El proceso de fijación que se debe seguir es secuencial, iniciando con una concentración baja de fijador que se va incrementando gradualmente. De acuerdo con Eisenback (1991) la fijación secuencial en frío es mejor que la fijación rápida a temperatura ambiente. De esta manera, las bolsas se colocan en un volumen conocido de agua corriente (6 ml), mismo al que se le van añadiendo gotas de una solución al 4% de glutaraldehído y buffer (0.1 M y pH=7.0). Esta solución se añade cada 15 minutos hasta que la concentración de la solución con los especímenes llegue al 2%.

4.- Una vez alcanzada la concentración final, la fijación se continúa por 24 hrs. a 4°C.

5.- Posteriormente, el material fijado se enjuaga haciendo varios cambios de solución buffer

ESTA
SALIR DE LA
TESIS
NO DEBE
BIBLIOTECA

(aproximadamente 6) cada 10 minutos.

6.- Una vez enjuagados los especímenes, éstos se posfijan con una solución de tetraóxido de osmio al 2%. Para ello, las bolsas se transfieren a un frasco que contiene el tetraóxido de osmio y se conservan a una temperatura de 4°C durante una noche.

7.- Después de la posfijación, los especímenes se enjuagan con 3 cambios de buffer frío por 15 minutos cada uno, período durante el cual se deja que las muestras alcancen gradualmente la temperatura ambiental.

8.- El siguiente paso, una vez que las muestras alcanzan la temperatura ambiental, es iniciar el proceso de deshidratación. Para tal efecto, se utiliza una serie de etanoles al 5, 10, 25, 50, 60, 70, 80, 90, 96 y 100%, considerando un período de deshidratación en cada concentración de 20 minutos. Para el caso del etanol al 100% se realizaron dos cambios adicionales de 20 minutos cada uno.

9.- Inmediatamente después del último enjuague en alcohol absoluto, las muestras se colocan en una secadora en punto crítico para remover los fluidos lentamente tanto inter como intracelulares de los especímenes fijados y deshidratados (Eisenback, 1991).

10.- Los nematodos, una vez secos, se montan en portaobjetos para microscopía electrónica de barrido con una cinta de carbón adhesiva por ambas caras. Los nematodos se transfieren de la bolsa al portaobjetos con un pescador muy fino o con una aguja para jeringa de insulina.

11.- Se montan suficientes especímenes de cada estadio en los portaobjetos para que al acomodarlos se cuente con varios ángulos de observación de cada uno de los caracteres en los diferentes especímenes.

12.- Los especímenes montados se cubren después con una capa delgada de oro (aproximadamente 20 nm) para finalmente ser observados en un microscopio electrónico de barrido.

I. 1. 2. Procesamiento de estadios filiformes y hembras blancas utilizando como fijador formol al 4%.

1.- Los especímenes también se colocan en bolsas hechas con papel seda.

2.- Cada una de las bolsas se colocan en frascos de 15 ml con agua corriente a una temperatura de 4°C.

3.- El proceso de fijación también es secuencial. Así, las bolsas se colocan en un volumen conocido de agua corriente (6 ml), mismo al que se le van añadiendo gotas de una solución

al 4% de formaldehído. El fijador se añade cada 15 minutos hasta que la concentración de la solución con los especímenes llegue al 2%.

4.- Una vez alcanzada la concentración final, la fijación se continúa por 24 hrs. a 4°C.

5.- Posteriormente, el material fijado se enjuaga haciendo varios cambios con agua corriente (aproximadamente 3) cada 15 minutos, período durante el cual se deja que las muestras alcancen gradualmente la temperatura ambiental.

8.- El siguiente paso, una vez que las muestras alcanzan la temperatura ambiental, es iniciar el proceso de deshidratación. Para tal efecto, se utiliza una serie de etanoles al 25, 50, 60, 70, 80, 96 y 100%, considerando un período de deshidratación en cada concentración de 20 minutos. Para el caso del etanol al 100% se realizaron dos cambios adicionales de 20 minutos cada uno.

+ Los siguientes pasos son los mismos que se mencionaron en el procesamiento de material con glutaraldehído al 4%.

I. 2. Procesamiento de cortes de regiones terminales de quistes (Hirschmann y Triantaphyllou, 1979).

1.- Los quistes se humedecen en agua durante 15 minutos y se colocan en formol 5% por un espacio de 48 hrs.

2.- Después de las 48 hrs. los quistes se colocan en ácido láctico 45% y se cortan a la mitad con agujas para jeringas de insulina. La mitad que presenta la región terminal de cada quiste se ajusta con pequeños cortes para obtener solamente la región de la fenestra y el ano.

3.- Los cortes se transfieren a glicerina deshidratada y se conservan toda una noche en el desecador con cloruro de calcio.

4.- Al día siguiente, los cortes se colocan en pequeñas tiras de papel filtro en una estufa a 40°C por una hora para drenar el exceso de glicerina que pudieran contener.

5.- Una vez secos los cortes, éstos se montan en portaobjetos para microscopía electrónica de barrido con una cinta de carbón adhesiva por ambas caras. Los cortes se transfieren con un pescador muy fino y una aguja para jeringa de insulina.

6.- Los cortes montados se cubren con una capa delgada de oro de 20 nm de grosor para luego ser observados en un microscopio electrónico de barrido.

J. PROCESAMIENTO DE MATERIAL VEGETAL PARA REALIZAR CORTES HISTOLÓGICOS.

A. Material radical fijado y posteriormente deshidratado e incluido en parafina.

J. 1. Fijación del material

- 1.- Los fragmentos de raíz con las hembras adheridas, y sin ellas, se colocan en frascos de 15 ml con fijador FAA y se dejan en él por espacio de una semana (Cid del Prado *et al.*, 1984).
- 2.- Transcurrido dicho tiempo, se inicia la etapa de deshidratación del material.

J. 2. Deshidratación

- 1.- Los fragmentos fijados se colocan en pequeños sobres de papel seda y se colocan en varios frascos con diferentes concentraciones de etanol. Las concentraciones fueron de 50, 70, 96 y 100%, una solución de etanol 100% + xilol en proporción 1:1 y dos cambios en xilol puro. En cada paso, el material se dejó embeber durante 30 minutos.
- 2.- Posteriormente a la deshidratación, y antes del proceso de inclusión en parafina, se coloca la bolsa con los fragmentos en un vaso con parafina fundida durante una noche en una estufa a $55 \pm 2^{\circ}\text{C}$ para gradualmente iniciar el proceso de inclusión.

J. 3. Inclusión.

- 1.- Al día siguiente, el material se saca de la estufa y se coloca en una plancha caliente para mantener la parafina fundida mientras se van colocando los diferentes fragmentos en pequeñas cajas de inclusión hechas con papel y cuyas dimensiones son de 2 cmX1 cmX1.5 cm.
- 2.- Cada caja se llena con parafina hasta el borde, teniendo cuidado de no hacerlo bruscamente para evitar la formación de burbujas. Aún con la parafina fundida, los fragmentos se colocan en el fondo de dichas cajas tomando en cuenta el tipo de plano del cual se desean realizar los cortes (transversal y longitudinal).
- 3.- Una vez incluidos todos los fragmentos, los bloques resultantes se montan en pequeños trozos de madera que sirven como soportes al momento de sujetarlos al micrótopo. A cada

bloque se le hacen ajustes con una navaja hasta formar una pirámide de tal forma que en la sección más reducida se hallen los fragmentos a cortar.

4.- Cada bloque se monta y se realizan cortes de 10 a 12 μm de grosor con un micrótomo rotatorio. Las tiras resultantes al cortar los bloques, se transfieren a un calentador con agua caliente y grenetina para luego montarlos en portaobjetos de vidrio de 26X76 mm. Luego de montar las tiras, los portaobjetos se dejan secar a temperatura ambiente.

5.- Una vez secos, los portaobjetos se marcan con una clave de acuerdo al bloque al que corresponden para luego iniciar la tinción de los cortes.

J. 4. Tinción.

+ Para la tinción de los cortes se emplea la técnica de safranina-verde rápido (Cid del Prado *et al.*, 1984; Cohn *et al.*, 1984; Heald, 1984), combinación recomendada para raíces y tallos y que además es particularmente buena para el floema (Curtis, 1986).

1.- Los portaobjetos con los cortes se colocan en una estufa a $55 \pm 2^\circ\text{C}$ durante aproximadamente 35 minutos para desparafinarlos.

2.- Transcurrido el tiempo, los portaobjetos se colocan inmediatamente en tres cambios de xilol de 3 minutos cada uno para luego pasarlos por una serie de alcoholes: 100, 96, 70 y 50% por espacio de 3 minutos en cada uno.

3.- Luego del último cambio de alcohol, los portaobjetos se colocan en safranina al 1% y se dejan en el colorante por espacio de 24 hrs.

4.- Transcurridas las 24 hrs, los cortes se pasan por una serie de alcoholes de 50, 70 y 96% por espacio de 3 minutos en cada uno.

5.- Después del cambio en alcohol al 96 %, los portaobjetos se sacan del recipiente y se les agregan unas gotas de verde rápido-solución alcohólica (95%) de tal manera que cubran los cortes. Los cortes se dejan en el colorante por espacio de aproximadamente 30 segundos o hasta que se observe como éste contrasta con la safranina y comienza a reemplazarla en los cortes.

6.- Los cortes se escurren y se colocan en alcohol 96% sólo para enjuagarlos durante 1 minuto.

7.- Los cortes escurridos, se transfieren a alcohol 100% (3 minutos) y por último a tres cambios de xilol de 3 minutos cada uno.

- 8.- Pasado este tiempo, los cortes se sacan del Xilol y se les ponen unas gotas de resina sintética al 60% en tolueno para luego colocarle un cubreobjetos de 24X50 cm.
- 9.- Las preparaciones una vez montadas se colocan en una estufa a $55 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 5 días para permitir la polimerización de la resina.
- 10.- Una vez polimerizada la resina, se limpia el excedente de resina de las preparaciones con un cotonete bañado en xilol para su posterior observación y análisis en el microscopio fotónico.

B. Material radical en fresco.

- 1.- Se toma el sistema radical de plantas recién colectadas y se cortan pequeños fragmentos de las raíces laterales las cuales, por su tamaño, se agrupan en pequeños manojos.
- 2.- Dado que dicho material está fresco, éste se corta con un micrótopo de congelación. Para ello es necesario ir bañando poco a poco con agua la muestra mientras se abre una válvula por la cual escapa CO_2 líquido con el fin de congelar el agua y dar soporte así a la muestra.
- 3.- La muestra se coloca sobre una pequeña plataforma de acuerdo al tipo de corte a obtener y se le gotea agua hasta cubrirla por completo.
- 4.- El micrótopo se ajusta para realizar cortes de $15\text{ }\mu\text{m}$ de grosor para que permitan evidenciar estructuras.
- 5.- Los cortes se colectan de la cuchilla con un pincel, se colocan en una caja Petri con agua y se mantiene en refrigeración.
- 6.- Para montarlos, los cortes primeramente se deben teñir con Fabil durante 5 minutos.
- 7.- Posteriormente, los cortes se enjuagan con agua corriente y se montan temporalmente utilizando glicerina deshidratada como medio de montaje.
- 8.- Una vez montados, los cortes se observan al microscopio fotónico.

VIII. APENDICE B

Cuadro 3. Comparación morfométrica entre los quistes de la especie encontrada en la “Cañada de Contreras” con los de las especies *G. tabacum*, *G. virginiae* y *G. solanacearum*.

CARÁCTER	<i>G. tabacum</i> * (n=131)	<i>G. solanacearum</i> * (n=125)	<i>G. virginiae</i> * (n=125)	<i>Globodera</i> sp. Contreras* (n = 40)
Largo	536 (337-740)	717.6 ± 58.7 (533-907)	767.0 ± 69.2 (537-937)	739.0 ± 35.6 (458.9-935.7)
Ancho	459 (232-645)	496.4 ± 54.9 (375-639)	528.0 ± 65.6 (383-660)	577.9 ± 40.1 (295.6-748.8)
largo/ancho	1.2	-	-	1.3 ± 0.1 (1.1-1.6)
Longitud del cuello	-	154.2 ± 27.6 (98-256)	145.8 ± 31.3 (85-230)	123.6 ± 5.8 (99.9-192.3)
Largo de la fenestra	-	23.7 ± 3.3 (15-32)	19.7 ± 3.0 (13-28)	27.8 ± 1.1 (n=27) (22.0-35.2)
Ancho de la fenestra	-	21 ± 2.4 (12-28)	18.2 ± 2.1 (13-25)	26.1 ± 1.3 (n=27) (20.0-35.6)
Diámetro de la fenestra	-	22.6 ± 2.5 (16-29)	18.7 ± 2.3 (13-25)	27.0 ± 1.0 (n=27) (22.0-35.4)
Distancia del ano al margen más cercano de la fenestra	-	48.0 ± 8.7 (31-84)	52.1 ± 10.1 (28-85)	47.5 ± 4.6 (n=27) (34.0-80.0)
Radio de Granek	-	2.2 ± 0.4 (1.3-3.8)	2.8 ± 0.2 (1.5-4.2)	1.8 ± 0.1 (n=27) (1.3-2.7)
Número de estrias entre ano y fenestra	-	-	-	10.7 ± 0.7 (n=27) (8.0-15.0)
Largo de vulva	-	-	-	13.6 ± 0.5 (n=27) (12.0-14.8)

* Todas las medidas están dadas en micrómetros.

NOTA: Los caracteres que no presentan datos no fueron considerados dentro de la morfometría en la publicación original.

Cuadro 4. Comparación morfométrica entre las hembras blancas de la especie encontrada en la “Cañada de Contreras” con las de las especies *G. tabacum*, *G. virginiae* y *G. solanacearum*.

CARÁCTER	<i>G. tabacum</i> * (n=50)	<i>G. solanacearum</i> * (n=125)	<i>G. virginiae</i> * (n=125)	<i>Globodera sp. Contreras</i> * (n = 50)
Largo	464 (327-688)	632.7 ± 70.0 (411-873)	688.8 ± 78.8 (528-966)	653.4 ± 26.7 (152.0-836.0)
Ancho	310 (206-516)	430.3 ± 81.1 (293-614)	450.0 ± 67.6 (313-614)	487.5 ± 17.7 (368.0-620.0)
largo/ancho	-	-	-	1.35 ± 0.1 (0.4-1.7)
Longitud del cuello	-	144.4 ± 32.5 (58.0-215.0)	152.1 ± 33.0 (59.0-231.0)	136.2 ± 7.9 (76.0-196.0)
Distancia cabeza-mitad del bulbo medio	-	126.3 ± 16.2 (64.0-174.0)	114.8 ± 9.4 (92-138)	87.4 ± 2.9 (n=41) (73.2-106.4)
Largo del bulbo medio	-	42.7 ± 6.1 (22-55)	40.3 ± 3.5 (33-54)	34.6 ± 1.9 (n=41) (24.8-52.4)
Ancho del bulbo medio	-	33.5 ± 6.9 (17.0-50.0)	33.8 ± 2.8 (28-41)	30.1 ± 1.1 (n=41) (24.8-36.4)
Distancia de la cabeza-poro excretor	-	141.7 ± 21.2 (103.0-185.0)	153.8 ± 16.9 (114-207)	144.2 ± 3.7 (n=30) (129.2-169.2)
Altura de la cabeza	-	-	-	2.7 ± 0.3 (n=37) (1.6-4.0)
Ancho de la cabeza	-	-	-	6.8 ± 0.4 (n=37) (4.8-9.6)
Estilete	22.4 (n=10) (18.5-24.1)	26.2 ± 1.7 (21.0-30.0)	25.0 ± 1.6 (21-29)	24.5 ± 0.7 (n=36) (21.6-28.0)
Nódulos del estilete (largo)	-	-	-	2.5 ± 0.3 (n=36) (1.6-4.0)
Nódulos del estilete (ancho)	-	4.9 ± 0.5 (3.0-6.0)	5.7 ± 0.8 (4.0-8.0)	4.3 ± 0.3 (n=36) (2.0-7.6)
Desembocadura de la glándula esofágica dorsal	5.5 (n=20) (3.8-8.0)	6.0 ± 1.4 (3.0-11.0)	6.1 ± 1.8 (3-11)	7.8 ± 0.3 (n=23) (6.0-9.2)
Largo de la abertura vulvar	-	9.4 ± 1.5 (5.0-13.0)	9.2 ± 0.8 (8.0-11.0)	12.6 ± 0.4 (9.6-14.8)
Largo de la fenestra	-	17.3 ± 2.0 (14.0-25.0)	19.3 ± 2.2 (14.0-26.0)	21.6 ± 0.8 (15.2-28.4)

CARÁCTER	<i>G. tabacum</i> (n=50)	<i>G. solanacearum</i> (n=125)	<i>G. virginiae</i> (n=125)	<i>Globodera</i> sp. Contreras (n = 50)
Ancho de la fenestra	-	21.2 ± 2.9 (16.0-29.0)	14.1 ± 1.4 (11.0-18.0)	22.8 ± 0.8 (16.8-28.4)
Distancia vulva-ano	-	-	-	49.3 ± 2.4 (36.0-72.0)
Diámetro de la fenestra	-	-	-	22.2 ± 0.7 (16.4-28.4)
Distancia ano-margen más cercano de la fenestra	-	40.6 ± 7.9 (25.0-64.0)	47.2 ± 6.5 (33.0-64.0)	39.5 ± 2.2 (28.0-60.0)
Número de estrias entre ano y vulva	-	-	-	11.9 ± 0.5 (8.0-15.0)

* Todas las medidas están dadas en micrómetros.

NOTA: Los caracteres que no presentan datos no fueron considerados dentro de la morfometría en la publicación original.

Cuadro 5. Comparación morfométrica entre los machos de la especie encontrada en la "Cañada de Contreras" con los de las especies *G. tabacum*, *G. virginiae* y *G. solanacearum*.

CARÁCTER	<i>G. tabacum</i> * (n=134)	<i>G. solanacearum</i> * (n=115)	<i>G. virginiae</i> * (n=115)	<i>Globodera sp. Contreras</i> * (n = 59)
Largo	1123 (710-1355)	1108.2 ± 103.1 (750-1450)	1163.9 ± 98.3 (850-1325)	1016.8 ± 26.6 (819.2-1186.4)
Ancho	-	26.0 ± 2.0 (22.0-40.0)	27.1 ± 1.7 (23-33)	32.1 ± 1.6 (24.4-44.0)
largo/ancho	33 (n=30) (27-40)	-	43.1 ± 4.0 (27-52)	32.5 ± 1.9 (22.9-41.3)
Distancia cabeza-centro del bulbo medio	-	-	-	83.3 ± 2.7 (63.6-103.2)
Distancia cabeza-poro excretor	10-13 %	14.9%	15.1%	141.4 ± 5.0 (13.9%) (96.4-169.9)
Ancho del cuerpo en el poro excretor	-	-	-	27.7 ± 1.1 (22.4-36.0)
Altura de la cabeza	-	5.7 ± 0.4 (12)	6	6.4 ± 0.4 (4.4-8.4)
Ancho de la cabeza	-	11.4 ± 0.4 (12)	12	11.3 ± 0.3 (8.4-12.4)
Estilete	26 (n=24) (24-27)	26.3 ± 0.9 (24-27)	26.6 ± 1.0 (24-29)	24.2 ± 0.7 (18.8-28.0)
Nódulos del estilete (largo)	-	-	-	2.1 ± 0.2 (1.6-3.2)
Nódulos del estilete (ancho)	-	-	-	4.4 ± 0.1 (3.6-5.2)
Desembocadura de la glándula esofágica dorsal	3.6 (n=214) (2.0-5.5)	2.3 ± 0.7 (1.5-4.0)	3.5 ± 0.9 (2-6)	4.7 ± 0.2 (n=22) (4.0-6.4)
Longitud del testículo	-	-	-	460.6 ± 43.7 (206.0-751.6)
Índice T	67% (65-69%)	-	-	44.9 ± 11.9 (22.5-66.4)
Longitud de las espículas	- (23-34)	32.9 ± 1.6 (29-35)	32.8 ± 1.3 (30-35)	31.1 ± 1.2 (24.4-42.0)
Longitud del gubernaculo	9-12	12.4 ± 1.2 (n=10)	12.5	11.1 ± 0.5 (n=20) (8.8-12.0)

CARÁCTER	<i>G. tabacum</i> (n=134)	<i>G. solanacearum</i> (n=115)	<i>G. virginiae</i> (n=115)	<i>Globodera sp. Contreras</i> (n = 59)
Longitud de la cola	1.9 (n=69) (0.2-3.6)	4.3 ± 1.2 (2-8)	2.7 ± 1.1 (0.5-5.0)	4.1 ± 0.4 (2.4-7.6)
Ancho de la cola	-	-	-	13.9 ± 0.8 (8.4-19.6)
c'	-	-	-	0.3 ± 0.02 (0.2-0.5)
c	1478 (n=29) (284-5325)	-	536.0 ± 104.5 (189-2400)	268.6 ± 26.2 (134.9-459.7)

* Todas las medidas están dadas en micrómetros.

NOTA: Los caracteres que no presentan datos no fueron considerados dentro de la morfometría en la publicación original.

Cuadro 6. Comparación morfométrica entre las larvas del segundo estadio de la especie encontrada en la “Cañada de Contreras” con las de las especies *G. tabacum*, *G. virginiae* y *G. solanacearum*.

CARÁCTER	<i>G. tabacum</i> * (n=20)	<i>G. solanacearum</i> * (n=115)	<i>G. virginiae</i> * (n=115)	<i>Globodera sp. Contreras</i> * (n = 59)
Largo	476 (410-527)	497 ± 32.0 (390-577)	503.7 ± 31.7 (419-592)	484.6 ± 6.9 (441.8-552.8)
Ancho	20.7	21.5 ± 1.5 (16-25)	20.5 ± 1.5 (18-24)	19.2 ± 0.6 (16.0-24.0)
largo/ancho	23 (22-24)	23.1	24.7 ± 1.5 (19.1-27.8)	25.5 ± 0.6 (20.4-31.1)
Distancia cabeza-centro del bulbo medio	-	-	21.1%	67.6 ± 1.2 (54.0-82.6)
Distancia cabeza-poro excretor	21-24%	22%	-	101.5 ± 2.2 (21%) (86.8-139.9)
Ancho del cuerpo en el poro excretor	-	-	-	18.35 ± 0.5 (15.2-24.0)
Distancia cabeza-término glándula esofágica dorsal	-	169 ± 9.8 (135-189)	172 (142-210)	187.7 ± 3.9 (153.2-228.7)
b'	-	-	3.0 ± 0.2 (2.6-3.6)	2.6 ± 0.1 (2.2-3.1)
Altura de la cabeza	-	4.3 ± 0.4 (10)	4	4.3 ± 0.1 (3.2-5.6)
Ancho de la cabeza	-	9.7 ± 0.3 (10)	9	9.2 ± 0.2 (8.0-11.6)
Estilete	24 (22-26)	23.9 ± 0.5 (22-26)	23.7 ± 1.0 (19-28)	22.6 ± 0.5 (18.4-26.8)
Nódulos del estilete (largo)	-	-	-	2.1 ± 0.1 (1.6-3.2)
Nódulos del estilete (ancho)	-	-	-	4.3 ± 0.1 (3.6-6.0)
Desembocadura de la glándula esofágica dorsal	5.5 (4.3-6.8)	5.5 ± 0.6 (5-7)	6.1 ± 0.8 (3-9)	6.8 ± 0.2 (n=42) (5.6-8.0)
O	-	-	-	31.2 ± 1.3 (n=42) (25.0-41.3)
Distancia de la cabeza-primordio genital	-	-	-	270.0 ± 5.6 (n=42) (236.8-304.5)

CARÁCTER	<i>G. tabacum</i> (n=20)	<i>G. solanacearum</i> (n=115)	<i>G. virginiae</i> (n=115)	<i>Globodera</i> sp. Población Contreras (n = 59)
Longitud del primordio genital	-	-	-	16.7 ± 0.6 (n=42) (12.0-20.0)
Primordio genital (%)	-	56%	60%	55.7% (n=42)
Longitud de la región hialina	28 (22-31)	24.1 ± 2.7 (16-30)	27.1 ± 3.3 (19-35)	32.2 ± 1.0 (24.8-41.2)
Ancho al inicio de la región hialina	-	-	-	7.1 ± 0.2 (5.2-8.4)
Longitud de la cola	52 (46-59)	50.3 ± 3.9 (33-60)	50.3 ± 3.8 (34-61)	56.2 ± 1.1 (45.2-66.0)
Ancho de la cola	-	-	-	11.5 ± 0.3 (8.8-13.6)
c'	-	-	-	4.9 ± 0.1 (4.2-6.2)
A	-	-	-	4.6 ± 0.2 (3.3-5.8)
c	10 (8-11)	-	10.1 ± 0.8 (8.6-14.5)	8.6 ± 0.1 (7.5-10.2)

* Todas las medidas están dadas en micrómetros.

NOTA: Los caracteres que no presentan datos no fueron considerados dentro de la morfometría en la publicación original.

Cuadro 7. Comparación morfométrica entre los huevos (embrionados y larvados) de la especie encontrada en la “Cañada de Contreras” con los de las especies *G. tabacum*, *G. virginiae* y *G. solanacearum*.

HUEVOS EMBRIONADOS

CARACTER	<i>G. tabacum</i> * (n=20)	<i>G. solanacearum</i> * (n=125)	<i>G. virginiae</i> * (n=125)	<i>Globodera</i> sp. Contreras* (n = 67)
Largo	-	92.2 ± 6.0 (73-113)	96.4 ± 6.0 (77-111)	113.5 ± 2.3 (94.0-133.0)
Ancho	-	42.5 ± 2.7 (37-52)	41.2 ± 2.5 (35-46)	44.2 ± 0.8 (39.0-50.0)
largo/ancho	-	2.2	2.3	2.7 ± 0.1 (2.0-3.1)

* Todas las medidas están dadas en micrómetros.

NOTA: Los caracteres que no presentan datos no fueron considerados dentro de la morfometría en la publicación original.

HUEVOS LARVADOS

CARACTER	<i>G. tabacum</i> * (n=20)	<i>G. solanacearum</i> * (n=125)	<i>G. virginiae</i> * (n=125)	<i>Globodera</i> sp. Contreras* (n = 66)
Largo	- (92-115)	93.3 ± 6.2 (76-111)	98.8 ± 9.6 (88-111)	115.5 ± 1.9 (100.0-145.0)
Ancho	- (43-50)	42.8 ± 2.1 (37-47)	41.5 ± 2.7 (37-46)	47.8 ± 1.0 (41.0-60.0)
largo/ancho	-	2.2	2.4	2.4 ± 0.1 (2.0-2.9)

* Todas las medidas están dadas en micrómetros.

NOTA: Los caracteres que no presentan datos no fueron considerados dentro de la morfometría en la publicación original.

IX. APÉNDICE C



Fig. 1A-C. A) Localidad donde fueron encontrados los individuos de la población de *Globodera* sp.: “La Cañada de Contreras”, Magdalena Contreras, México, D. F. B) Sitio en la localidad donde suele encontrarse *Jaltomata procumbens*. C) *J. procumbens* mantenida en invernadero. Planta que retoñó luego de haber traído de la localidad únicamente la raíz primaria.



Fig. 2A-D. A y B) Hembras adheridas a las raíces de *J. procumbens*. C y D) Quistes adheridos a las raíces de *J. procumbens*



A



Fig. 3A-C. A) Planta completa de *J. procumbens*. Nótese cómo su raíz primaria está engrosada. B) *J. procumbens* en la localidad. Vista de la flor típica de la especie. C) *J. procumbens* en fructificación

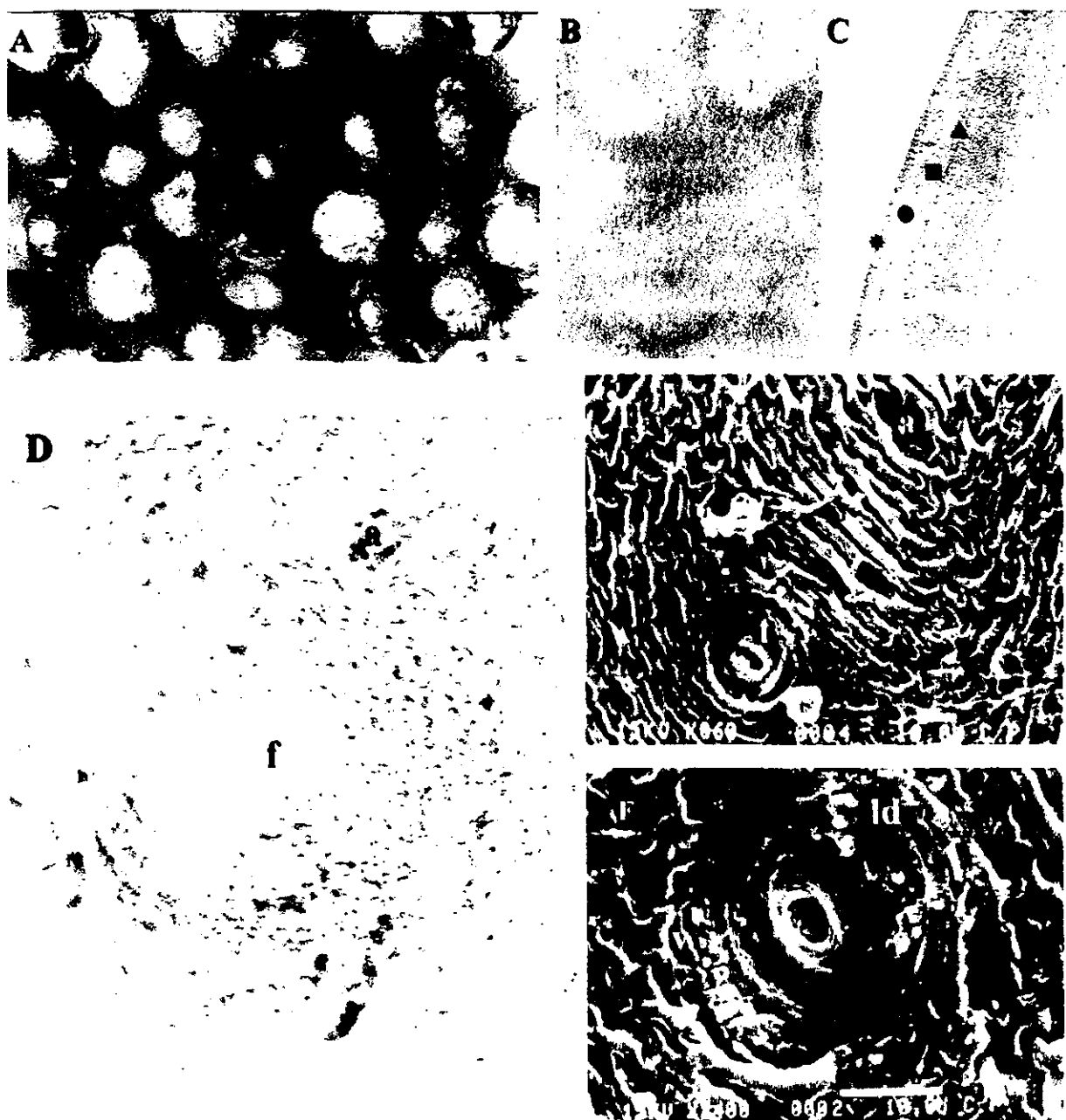


Fig. 4A-F. Quistes de *Globodera* sp. población Contreras. **A)** Forma y color de los quistes. **B)** Patrón longitudinal de las estrias a nivel medio del cuerpo de los quistes (40X). **C)** Capas de la cutícula de los quistes (40X). **D)** Patrón perineal de los quistes, con estrias entre la vulva y la fenestra, paralelas entre sí (100X). **E)** MEB: Patrón perineal donde se observan las estrias paralelas entre la fenestra y el ano. **F)** MEB: Acercamiento donde se observan los tubérculos perineales más conspicuos en el lado dorsal de la fenestra que en el lado ventral. * = capa 1, ● = capa 2, ■ = capa 3, ▲ = capa 4, f = fenestra, a = ano, rd = región dorsal, rv = región ventral.

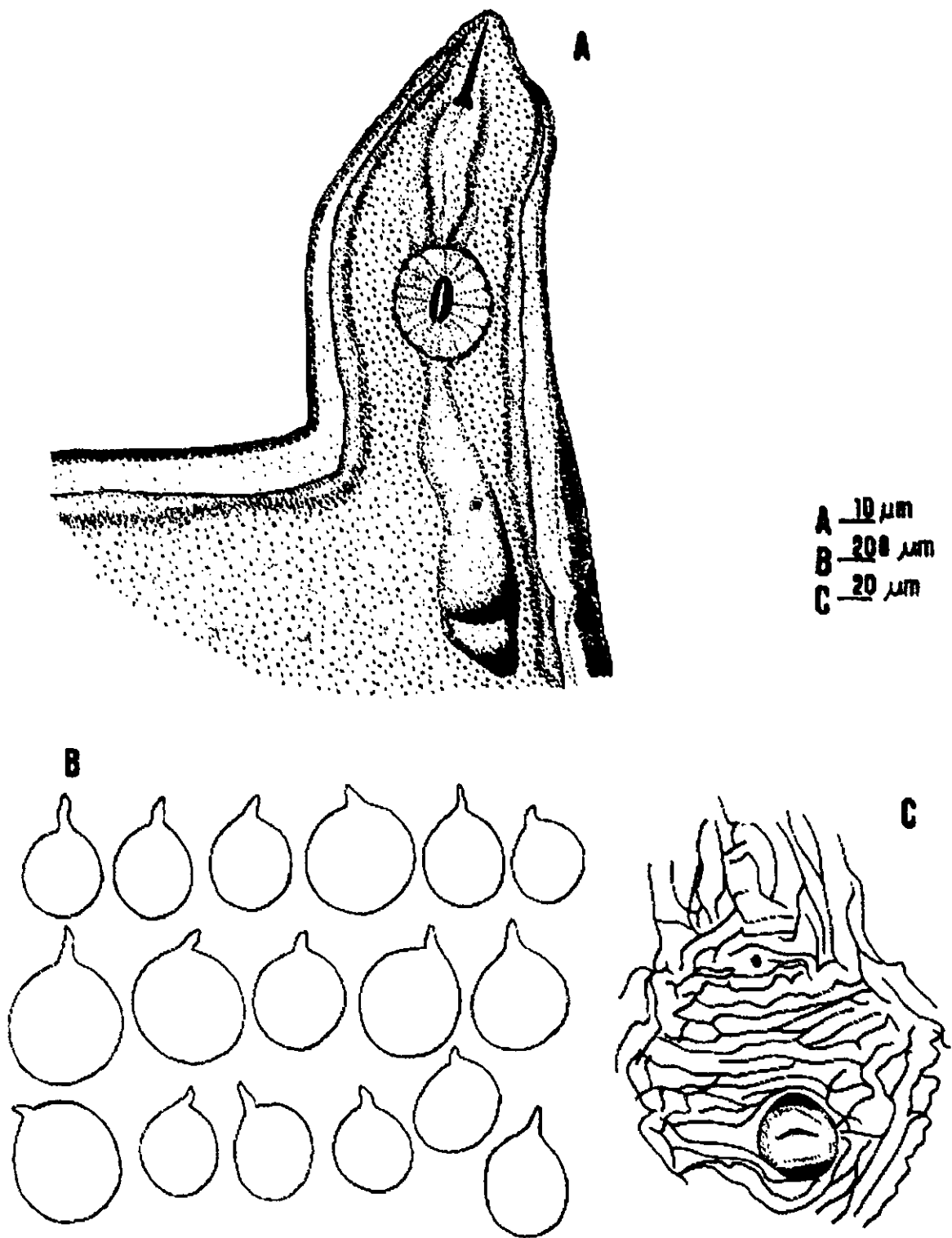
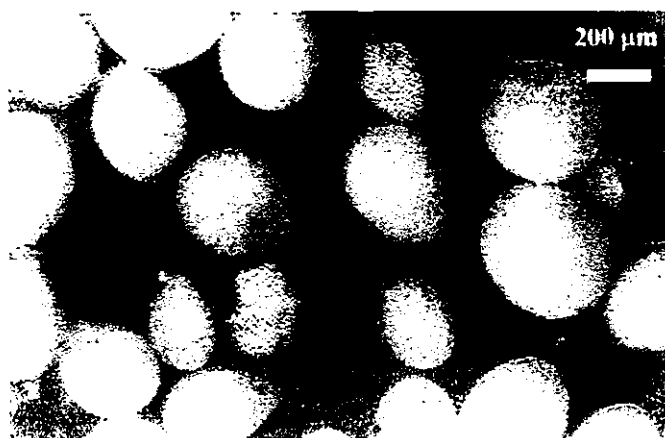
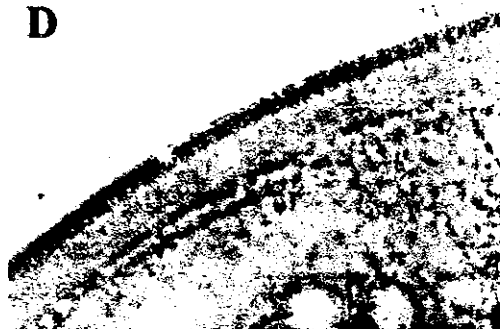


Fig. 5A-C. Hembra de *Globodera* sp. población Contreras. A) Región anterior. B) Morfología general de las hembras. C) Dibujo del patrón perineal de una hembra.



D



E

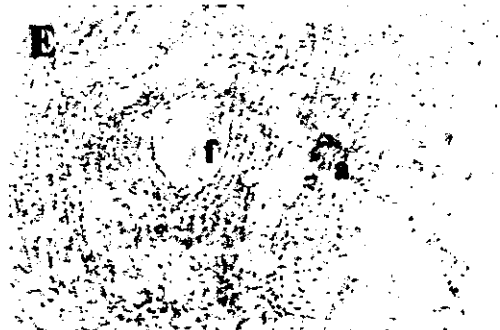


Fig. 6A-F. Hembras blancas de *Globodera* sp. población Contreras. A) Hembras maduras y en proceso de tannizado. B) Región cefálica con dos anillos, cuello y región esofágica de la hembra (16X). C) Patrón de estrias longitudinal a nivel medio del cuerpo (40X). D) Capas que se observan en la cutícula (40X). E) Patrón perineal. Obsérvese que las estrias entre el ano y la fenestra son más o menos paralelas entre sí (40X). F) Cuerpos vulvares arreglados irregularmente por debajo y a partir de la vulva (40X) * = capa 1. ■ = capa 2. bm = bulbo medio. ged = glándula esofágica dorsal. pe = poro excretor. f = fenestra. a = ano

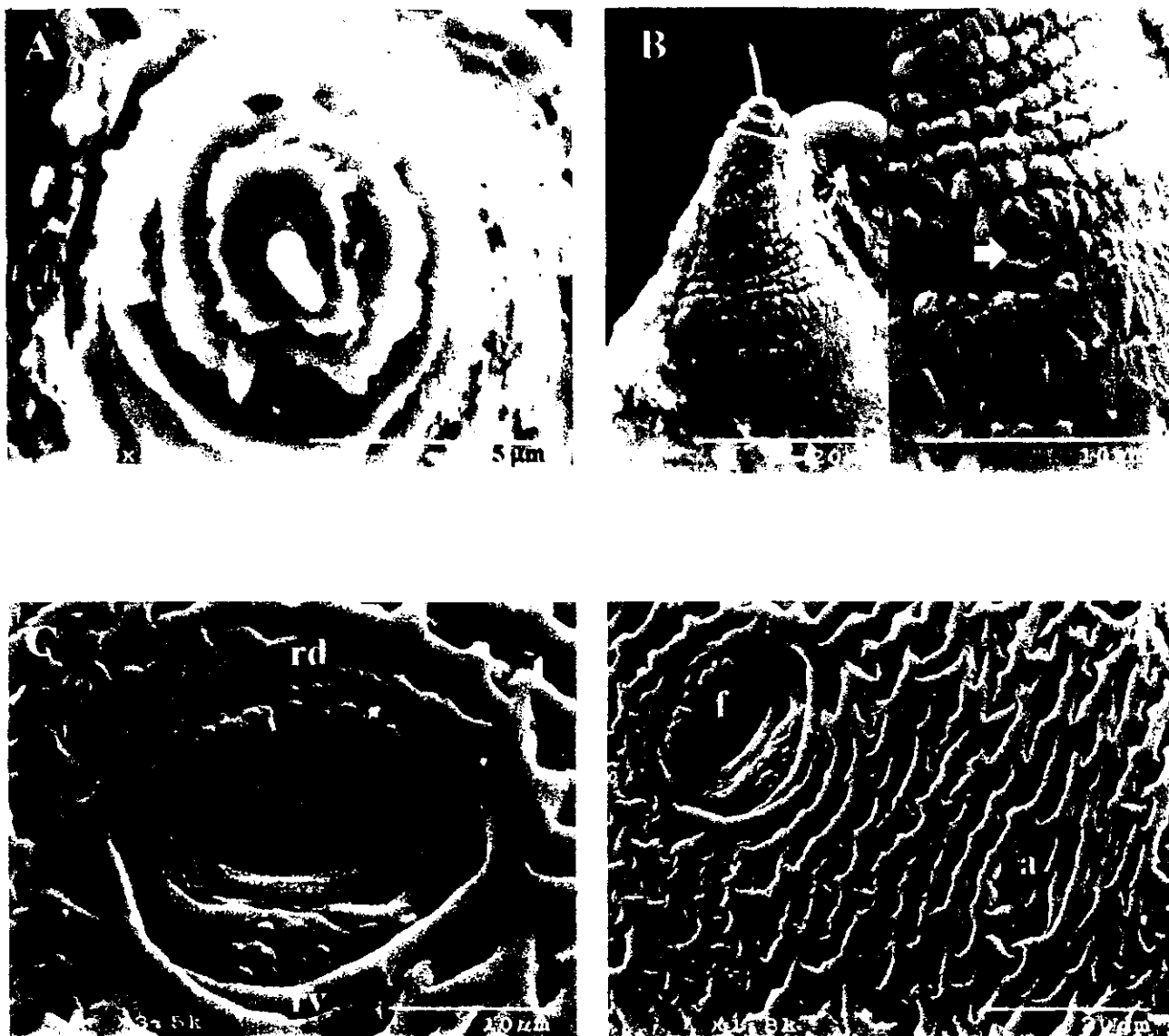


Fig. 7A-D. Fotomicrografías en MEB de hembras de *Globodera* sp. población Contreras. **A)** Vista frontal de la región labial de una hembra madura. **B)** Poro excretor ubicado en la base del cuello de las hembras. **C)** Acercamiento de la región fenestral. Los tubérculos perineales son más conspicuos en la región dorsal que en la ventral. **D)** Patrón perineal de una hembra madura. Estrias paralelas con poca anastomosis entre sí. rd= región dorsal, rv=región ventral, f=fenestra, a=ano.

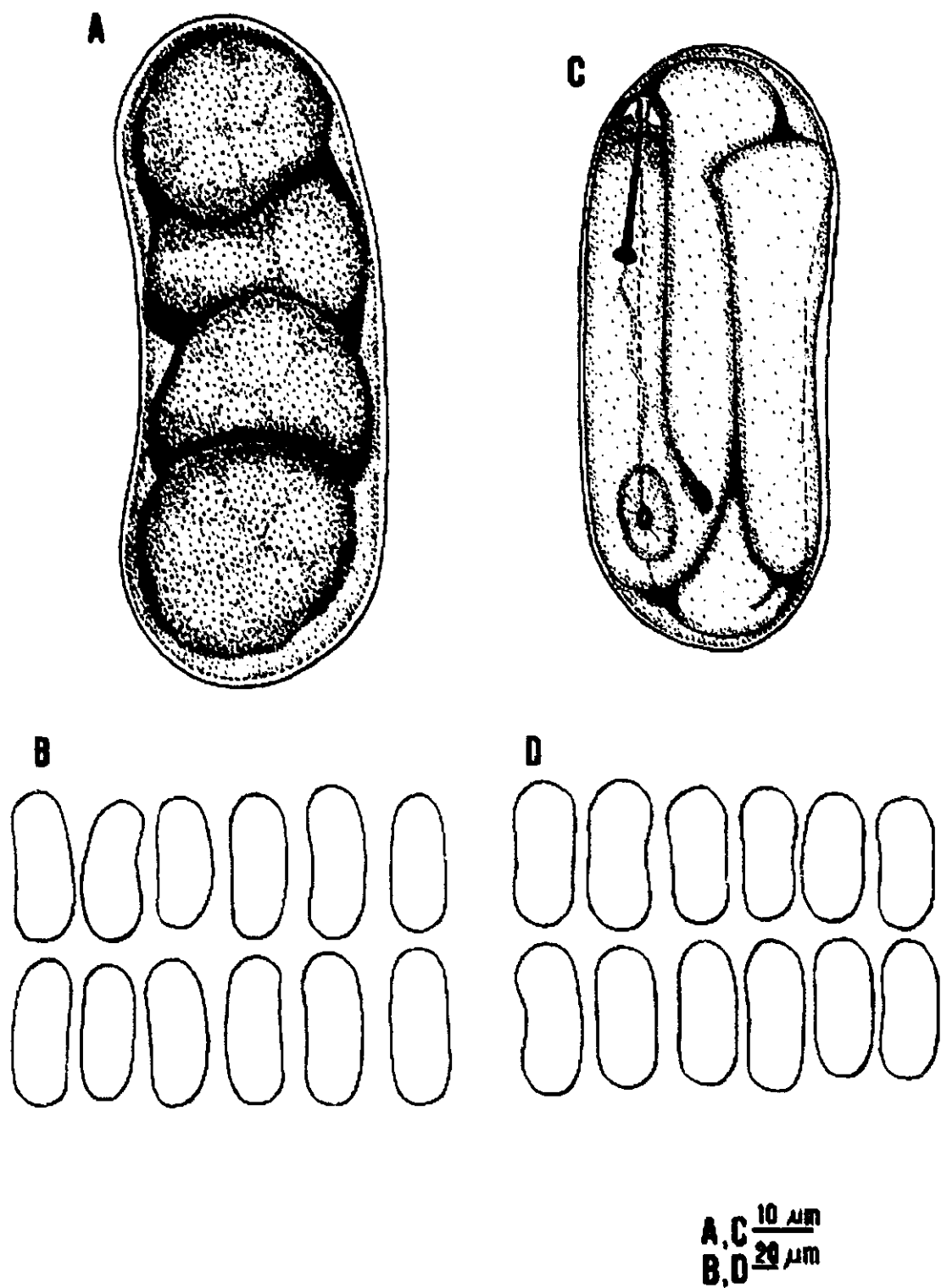


Fig. 8A-D. Huevo embrionado y larvado de *Globodera* sp. población Contreras. **A)** Huevo embrionado. **B)** Variación morfológica entre huevos embrionados. **C)** Huevo larvado. **D)** Variación morfológica entre huevos larvados.

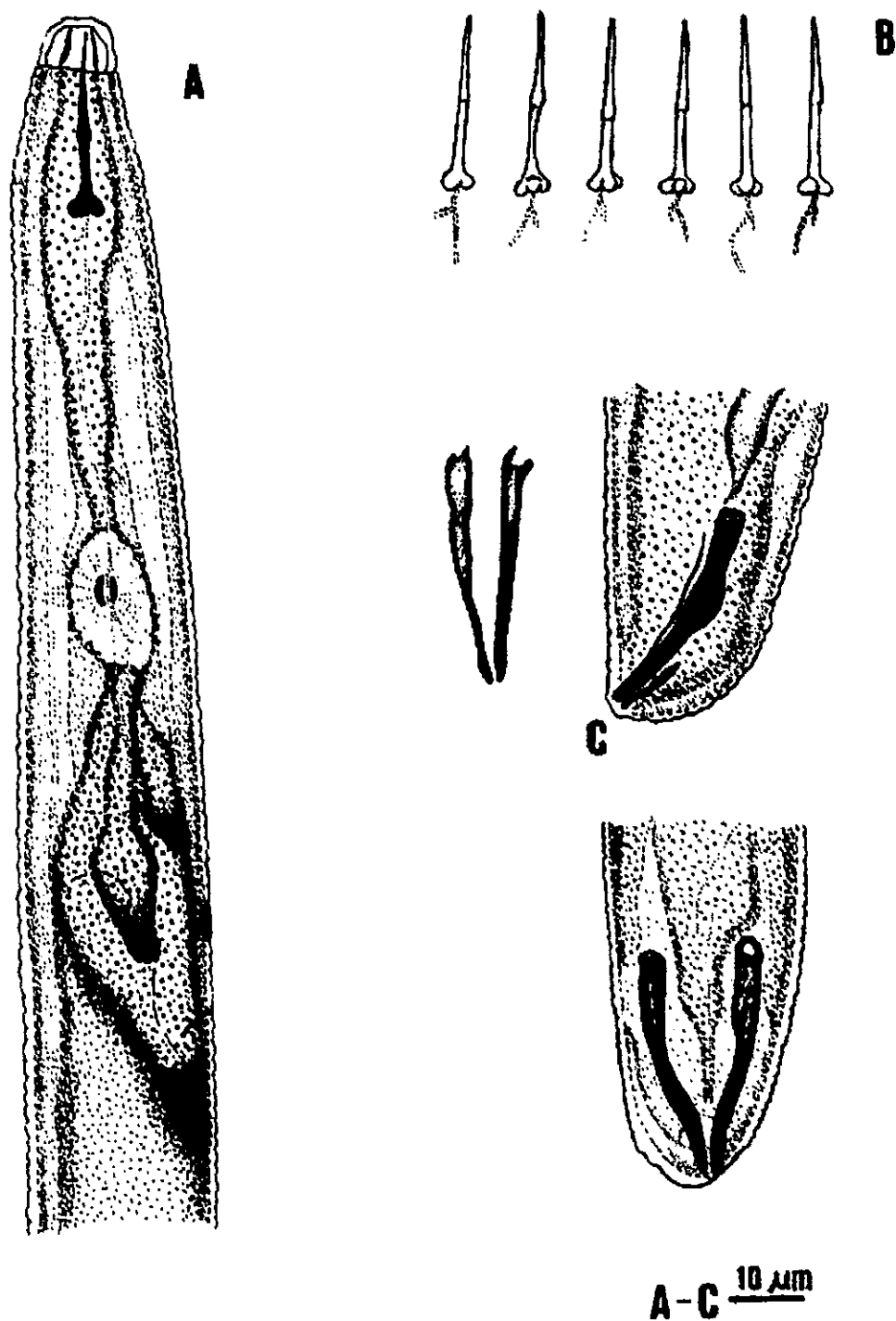


Fig. 9A-C. Macho de *Globodera* sp. población Contreras. A) Región anterior. B) Variaciones en el estilete del macho. C) Morfología de espículas y de la cola de los machos.

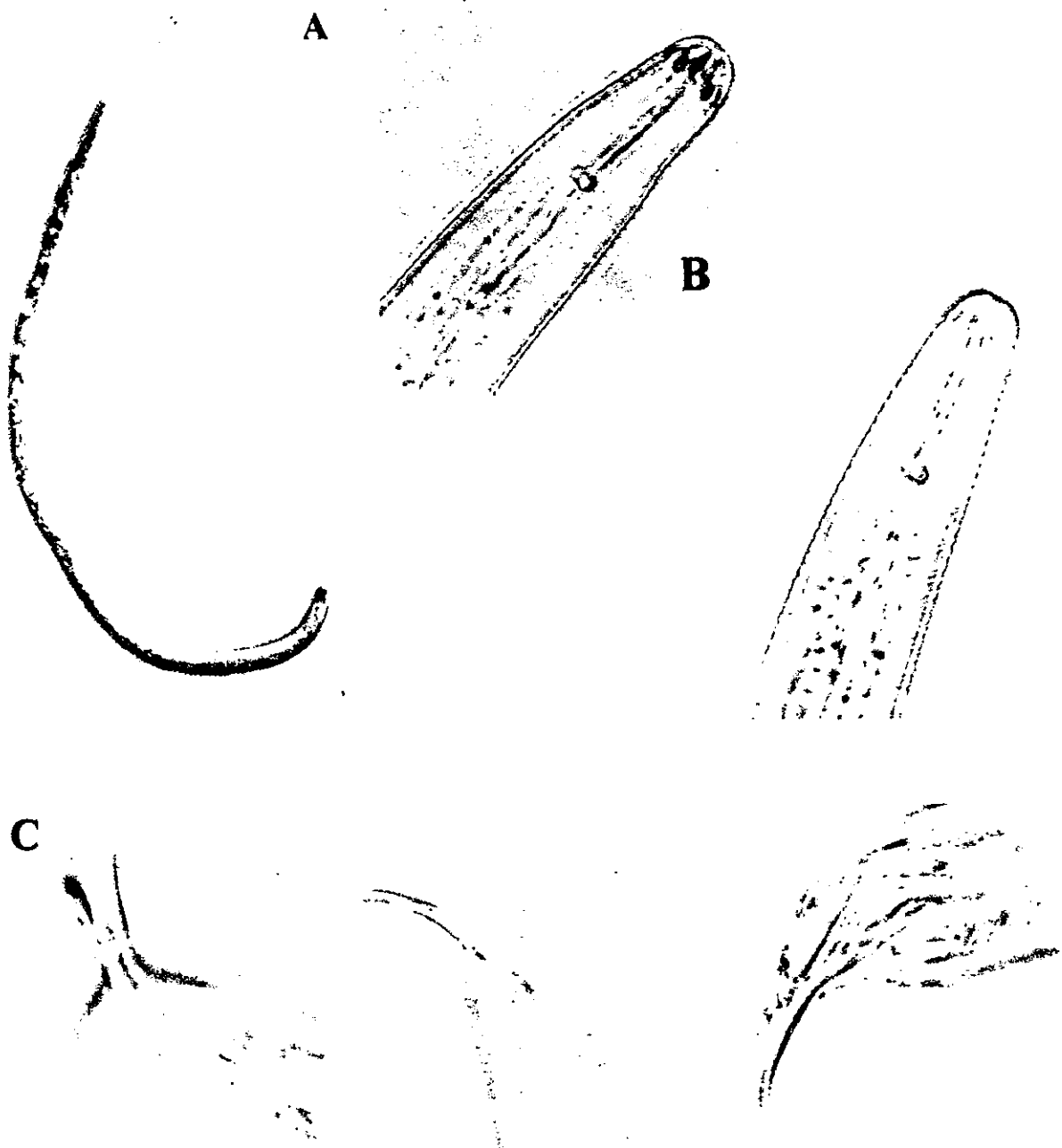


Fig. 10A-C. A) Macho de *Globodera* sp. población Contreras (6.3X). B) Región anterior donde se observa el estilete con nódulos redondeados y dirigidos posteriormente (40X). C) Morfología de las espículas del macho (40X)

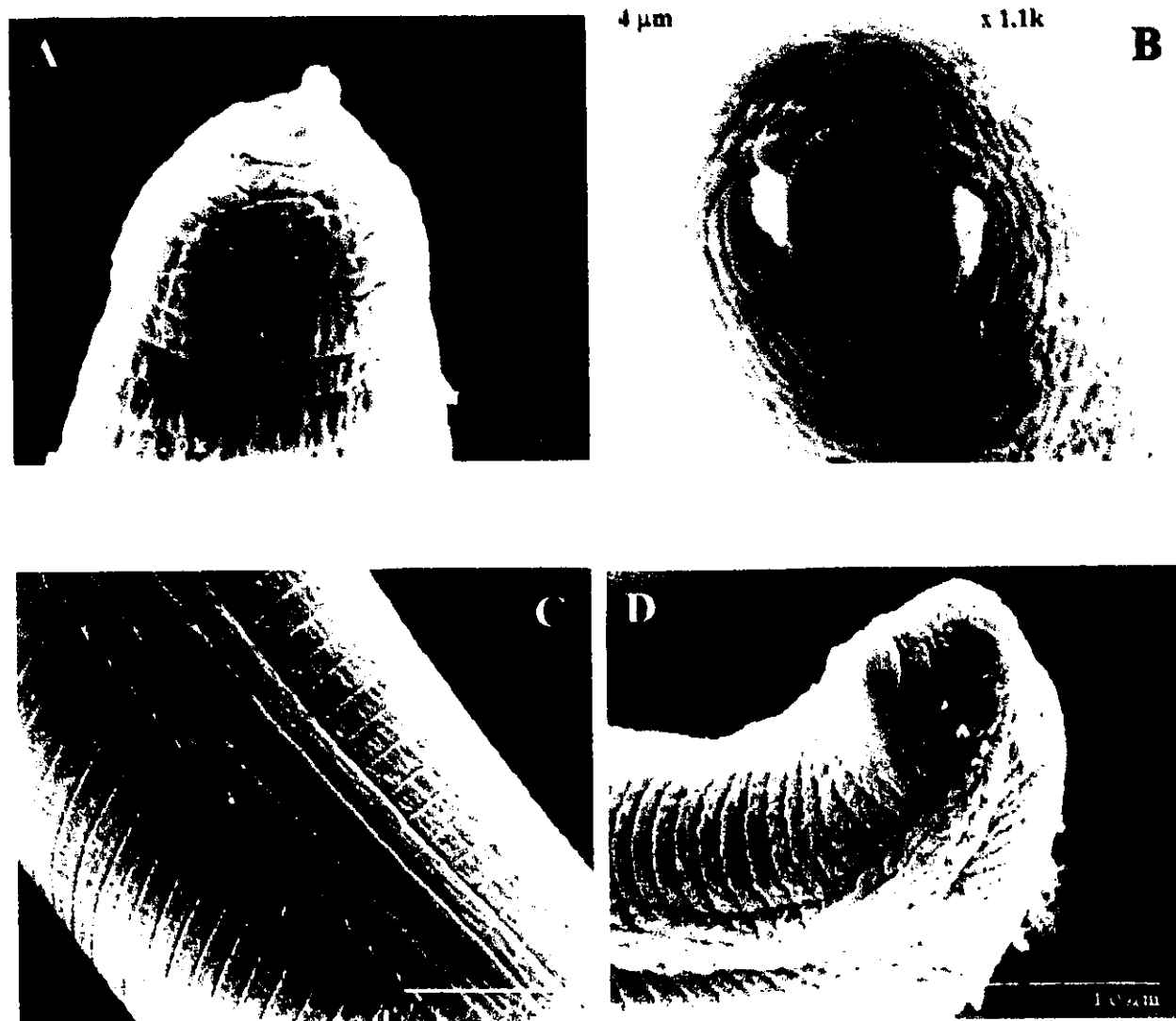


Fig. 11A-D. Fotomicrografías en MEB de machos de *Globodera* sp. población Contreras. **A)** Vista lateral de la región labial. **B)** Vista frontal de la región labial. **C)** Campo lateral a nivel medio del cuerpo con areolaciones regulares en sus bordes. **D)** Cola de un macho con el término del campo lateral muy cerca del término de la cola más o menos redondeada.

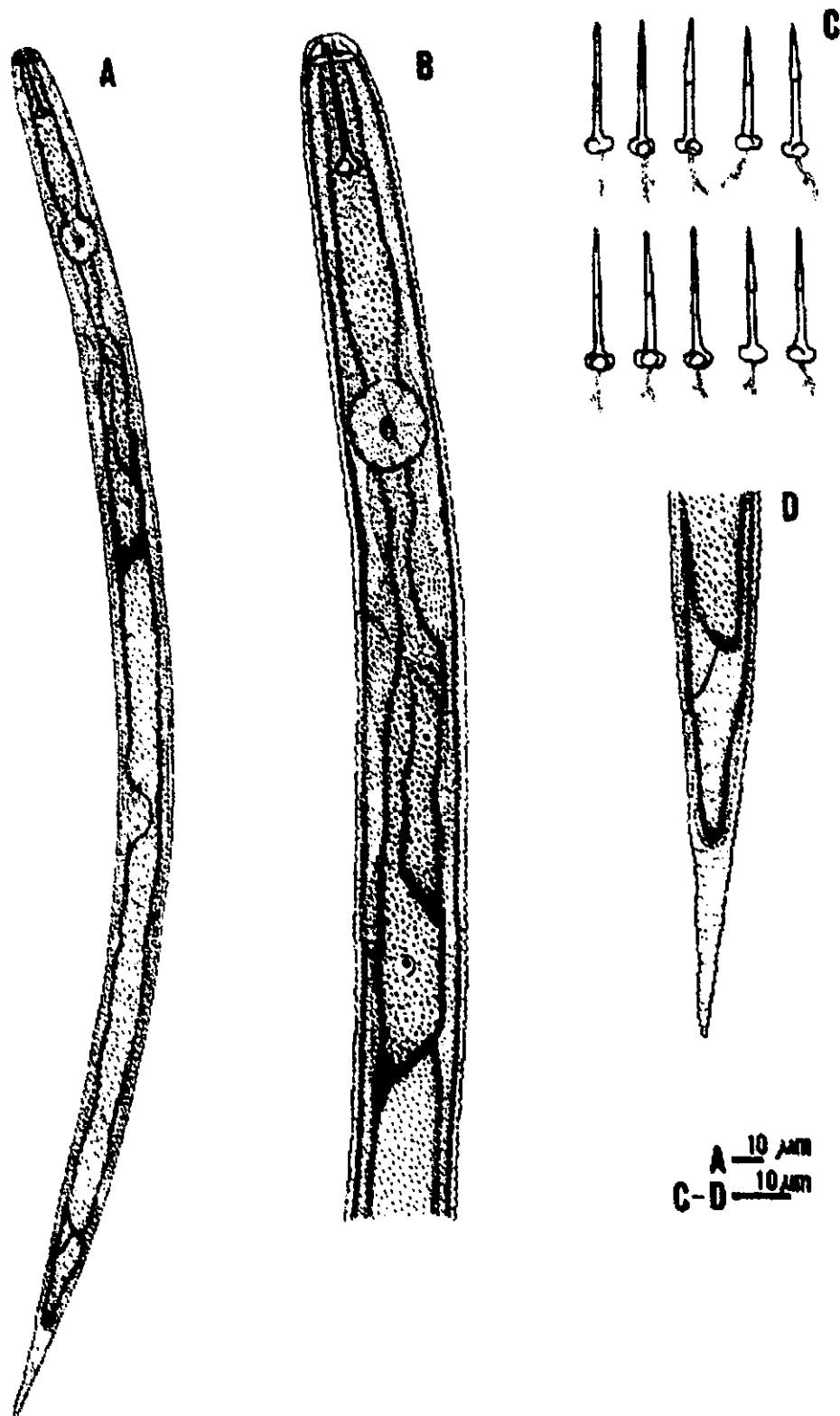


Fig. 12A-D. Larva del segundo estadio de *Globodera* sp. población . Contreras. A) Larva entera. B) Región anterior de la larva. C) Variaciones en el estilete de la larva. D) Cola de la larva.

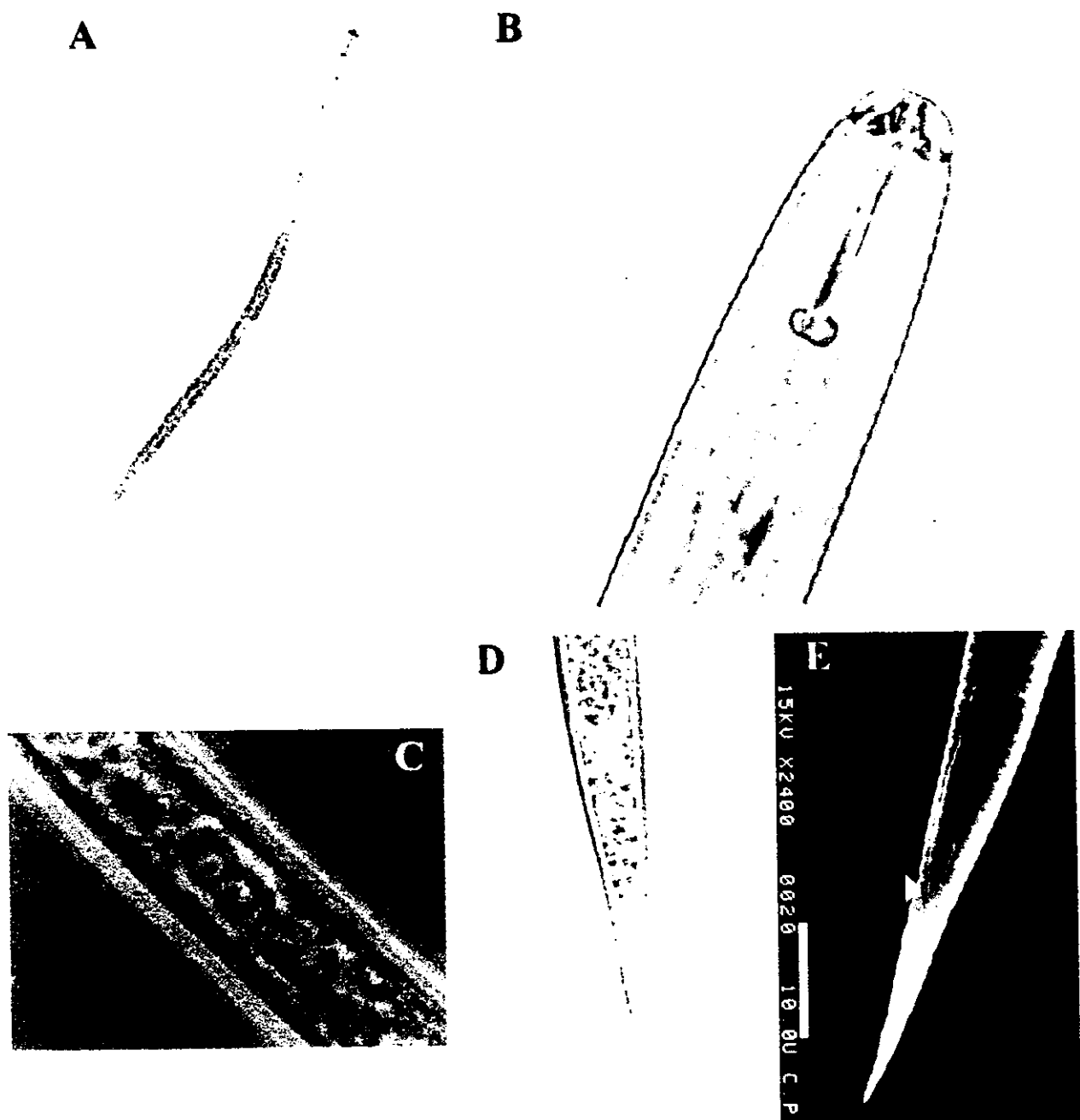


Fig. 13A-E. A) Larva del segundo estadio (*Globodera* sp. población Contreras (16X). B) Región anterior. Estilete con nodulos evidentes, redondeados en su base y nódulo dorsal ligeramente dirigido hacia la región anterior (40X). C) Primordio genital constituido por dos células (40X). D) Cola terminada en punta de lápiz. Región hialina larga (40X) E) MEB de la cola terminada en punta. Con la flecha se indica dónde termina el campo lateral.

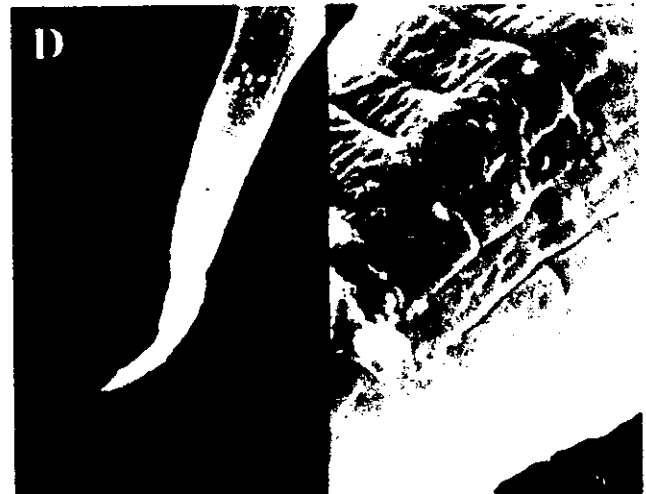
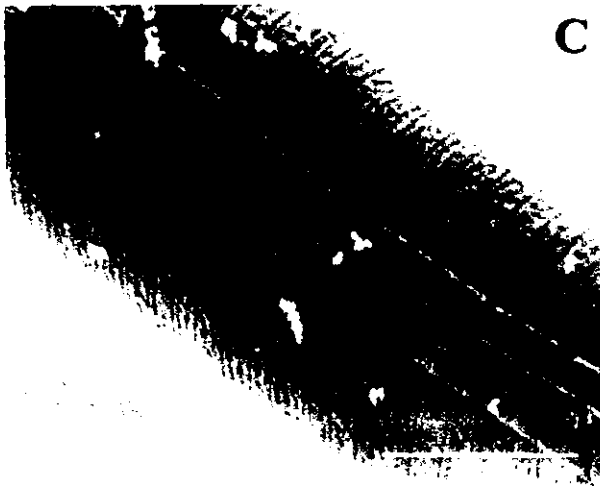
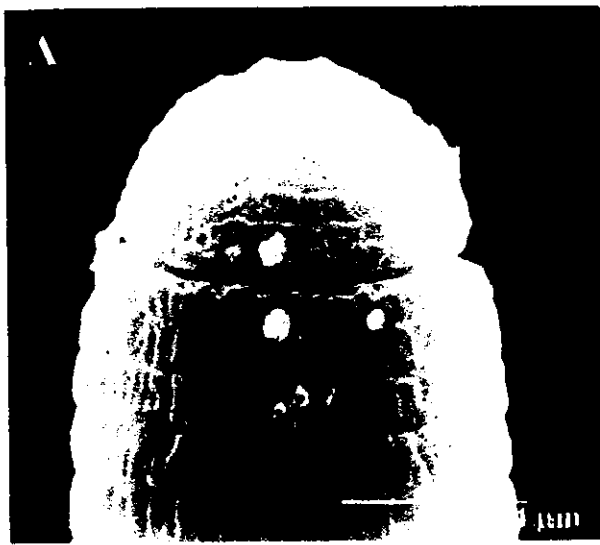


Fig. 14A-D. Fotomicrografías en MEB de larvas del segundo estadio *Globodera* sp. población Contreras. **A)** Vista lateral de la región labial. **B)** Vista frontal de la región labial. **C)** Campo lateral a nivel medio del cuerpo con areolaciones en sus bordes. **D)** Cola de la larva y acercamiento a la región donde se ubica el fasmidio en forma de poro.

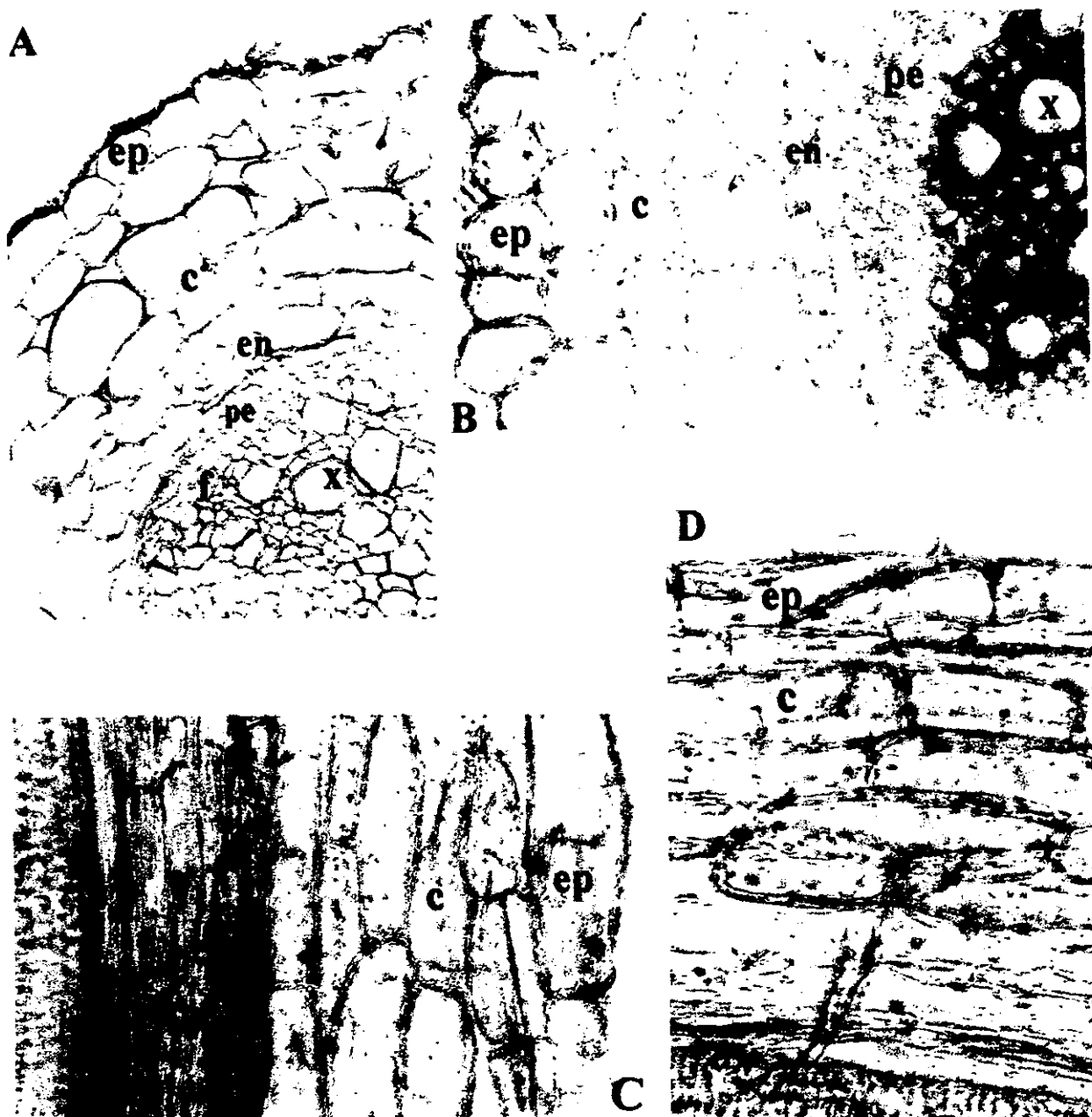


Fig. 15A-D. Cortes histológicos de raíz de *J. procumbens* sin nematodos. **A)** Corte transversal de tejido fijado, deshidratado y teñido con safranina-verde rápido (16X). **B)** Corte transversal de tejido fresco, teñido con Fabil (16X). **C y D)** Cortes longitudinales de tejido fresco, teñidos con Fabil (40X) e=epidermis, c=córtex, e=endodermis, pe=periciclo, f=floema, x=xilema.

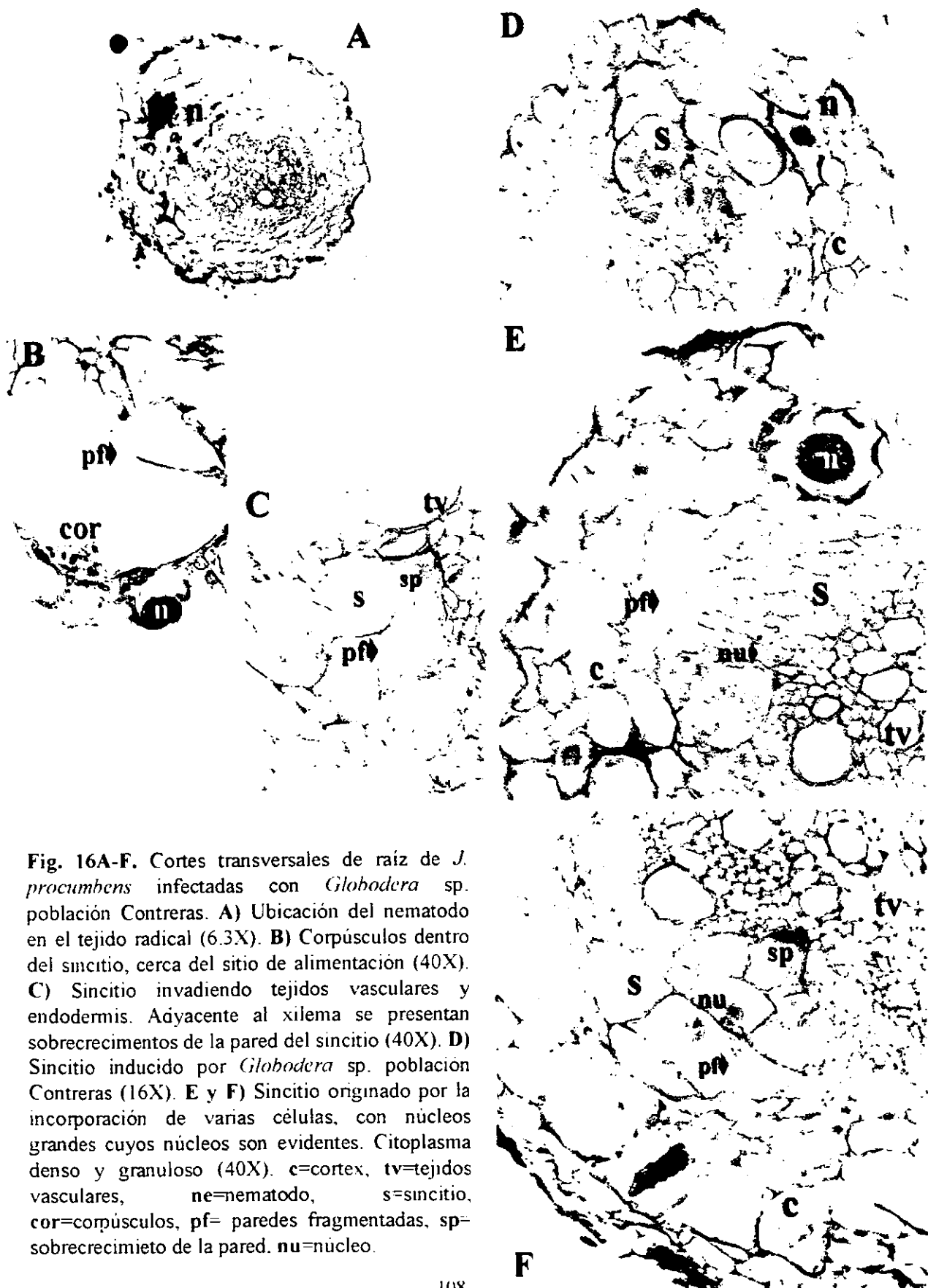


Fig. 16A-F. Cortes transversales de raíz de *J. procumbens* infectadas con *Globodera* sp. población Contreras. A) Ubicación del nematodo en el tejido radical (6.3X). B) Corpúsculos dentro del sincitio, cerca del sitio de alimentación (40X). C) Sincitio invadiendo tejidos vasculares y endodermis. Adyacente al xilema se presentan sobrecrecimientos de la pared del sincitio (40X). D) Sincitio inducido por *Globodera* sp. población Contreras (16X). E y F) Sincitio originado por la incorporación de varias células, con núcleos grandes cuyos núcleos son evidentes. Citoplasma denso y granuloso (40X). c=cortex, tv=tejidos vasculares, ne=nematodo, s=sincitio, cor=corpúsculos, pf= paredes fragmentadas, sp=sobrecrecimiento de la pared. nu=núcleo.

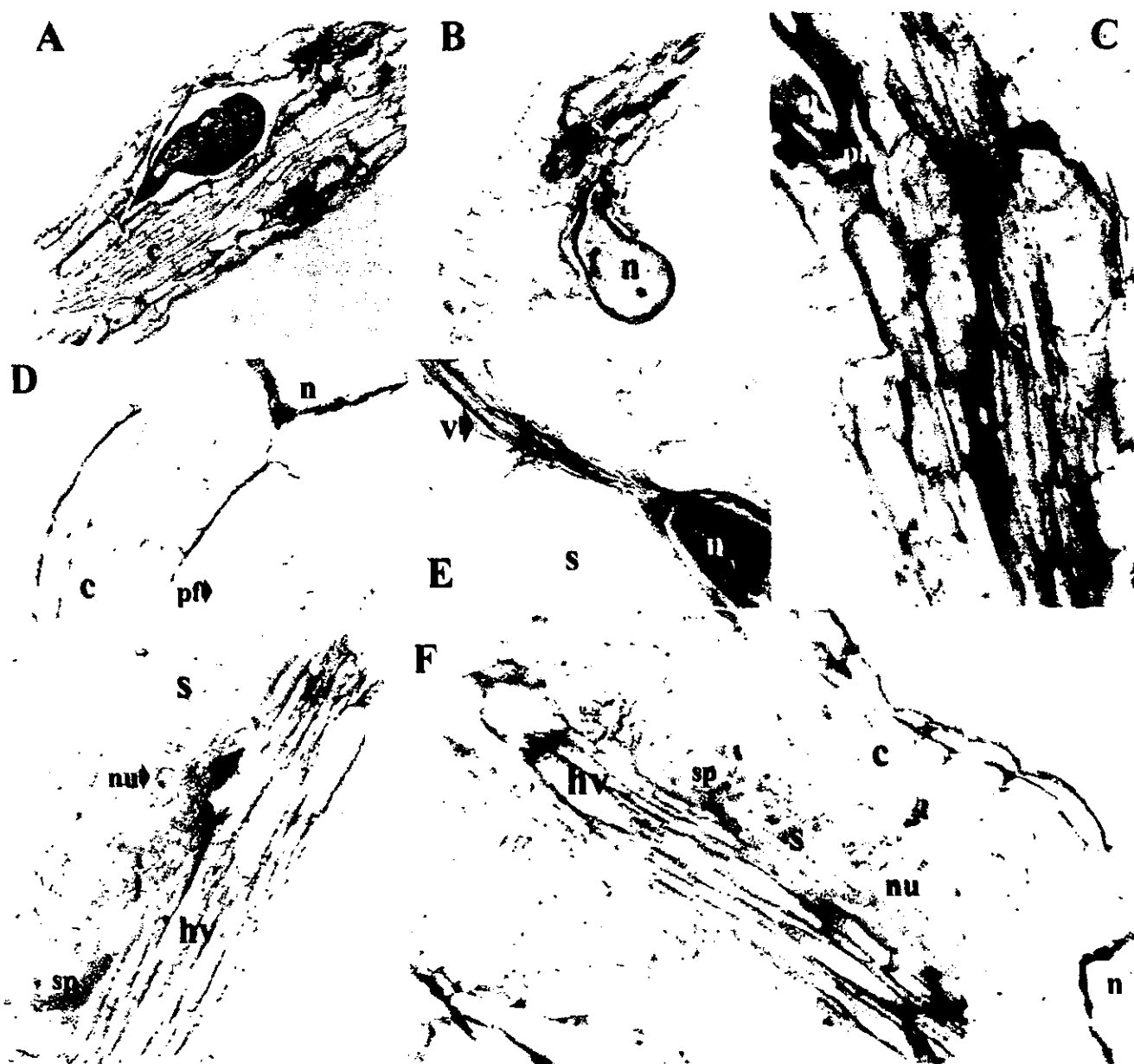


Fig. 17A-F. Cortes longitudinales de raíz de *J. procumbens* infectadas con *Globodera* sp. población Contreras. **A)** Ubicación del nematodo en el tejido radical (6.3X). **B)** Relación del nematodo con el sincitio en la raíz (6.3X). **C)** Sincitio con citoplasma granuloso y paredes necrosadas en el sitio de alimentación del nematodo (16X). **D)** Sincitio formado por varias células con paredes fragmentadas en íntima relación con los haces vasculares del hospedero (16X). **E)** Sitio de alimentación del nematodo. Se observan pequeñas vesículas sobre la pared de la célula colapsada (40X). **F)** Ubicación del sincitio con respecto a los tejidos vasculares. Se observan múltiples núcleos con nucleolos evidentes (16X). **c**=cortex, **tv**=tejidos vasculares, **n**=nematodo, **s**=sincitio, **cor**=corpúsculos, **pf**= paredes fragmentadas, **pn**=paredes necrosadas, **sp**= sobrecrecimiento de la pared, **nu**=núcleo, **v**=vesículas