



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**CONTROL MICROBIOLÓGICO DE *Nacobbus aberrans*
THORNE & ALLEN, 1944 MEDIANTE *Pochonia chlamydosporia* (GODDARD) ZARE &
GAMS, 2001 EN CHILE (*Capsicum annum* L.)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**INGENIERO AGRÍCOLA
PRESENTA**

PÉREZ HERNÁNDEZ MIGUEL ÁNGEL

**ASESOR: M. C. ALFONSINA JUDITH HERNÁNDEZ
COASESOR: M. C. FRANCISCO FRANCO NAVARRO**

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MEX

2005

m. 351072



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
 FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
 EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Control Microbiológico de *Nacobbus aberrans* Thorne & Allen, 1944
mediante *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams, 2001 en
chile (*Capsicum annum* L.).

que presenta el pasante: Miguel Angel Pérez Hernández
 con número de cuenta: 09411679 - 1 para obtener el título de :
Ingeniero Agrícola

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 22 de Agosto de 2005

PRESIDENTE M.C. María del Yasmín Cuervo Usan

VOCAL M.E. José Leonides Sánchez González

SECRETARIO M.C. Alfonsina Judith Hernández

PRIMER SUPLENTE Ing. Raúl Espinoza Sánchez

SEGUNDO SUPLENTE Ing. Asunción Martínez Vázquez

A GUISA DE DEDICATORIA

Descendiendo de linaje purépecha y otomí era fácil que desde iniciada la vida hubiera afinidad con lo vivo, con los seres que comparten el ADN como identidad en este mundo. Observando las diferencias entre plantas y animales, a la par de cursar las primeras letras, se engendró el hábito de ver la vida como una totalidad, algo más profundo que cielo e infierno. Las lecciones recibidas en el CCH Vallejo borraron todo rastro de pensamiento mágico, estableciendo un perfil de pensamiento lógico y metódico que sirvió para trazar un bien definido camino durante los años de formación en la facultad. Llegó luego el momento de trabajar en la obra central de los profesionistas, la tesis, y confrontar la realidad laboral de quienes nos dedicamos a las ciencias agrícolas como forma de vida; así hasta terminar el proyecto y compartirlo con la comunidad universitaria, ya como un Ingeniero Agrícola perteneciente a la 23ª generación.

Muchas cosas pasaron durante los aproximadamente 27 años que llevo dando vueltas con el globo terráqueo. Derribaron las Torres en el terruño de P. Parker, las Gloriosas conquistaron su Décima Estrella; le hicieron el 2º piso a las avenidas del Monstruo (así se le designa al DF en jerga zapatista), grandes héroes del rock se refritearon a sí mismos o murieron; la explotación del hombre por el hombre toma matices cada vez más cruentos y extiende su poder armamentista por todos los confines del planeta. La conquista del mundo, deseo de muchos emperadores de la antigüedad, ha sido lograda por menos de 20 empresas transnacionales que dirigen el destino del planeta (¡y vaya si es funesto tal destino!); la ciencia avanza al ritmo del interés monetario y no de lo que necesite la humanidad. La población *nice* vive completamente aparte del riesgo de muerte que implica seguir consumiendo alimentos modificados genéticamente, pero felices de poder contar con un sueldo que mínimo pague su comida *light* y las cuentas de la televisión por cable, el gimnasio y la vinatería. El EZLN ha proclamado 6 Declaraciones de la Selva Lacandona, abriendo un espacio alternativo que busca unir a todos los que pensamos que ya se le acabó su cuarto de hora a los que sólo ven cifras y números, en vez de gente y un lugar donde vivir en paz; a nosotros los que andamos correteando el bolillo diariamente y luchando por sacar a México

del vil hoyo en que está sumido. Se agudizan los conflictos bélicos por los recursos energéticos (cada día más escasos), anunciando que las próximas guerras serán por cosas hoy tan menospreciadas como el agua potable. Y todo lo que me hizo falta consignar pero que el espacio tan limitado no permite dar cuenta de ello.

Las cosas sencillas de la vida encierran hermosas enseñanzas. Muy poca gente sabe disfrutar el ocaso de los meses de invierno, la lluvia veraniega, los retoños de Abril y la hojarasca del piso durante el estío. Otra "banda" ni siquiera está consciente de la influencia que logran tener en la vida de los demás, y algunos ya hicieron su gracia y se fueron al Michlán. Tengo la fortuna de conocer por lo menos a uno de cada categoría.

Hablando a título personal, ha sido un honor el recibir toda mi educación en escuelas de gobierno, particularmente en las aulas de la Máxima Casa de Estudios de Latinoamérica, a través de su Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. El grado que hoy ostento ha sido producto de un incommensurable esfuerzo no sólo mío, también de aquellos que siempre me ofrecieron su compañía, apoyo, consuelo, ayuda, dinero, comida, *et cétera*, en la medida de sus posibilidades. La música callejera, de escenarios sobre ruedas, es noble aliada en el afán de conseguir recursos para culminar esta meta y las que vengan. Y nunca debe uno olvidarse de aquella gente maravillosa que con su ejemplo hizo posible que me forjara mis ideas y disciplina; quienes me revelaron el valor de levantarse a trabajar bien día a día, de hacer cosas difíciles y valorar siempre el esfuerzo de todos en los objetivos comunes. Y a riesgo de caer en imperdonables omisiones, ahí va la lista de gente que tiene algún mérito en mi formación profesional: Rosalío Hdz. García, Alejandro "N", Victoria Martínez, Víctor Hdz. , Ricardo Hdz. , Teresa Hdz. , Juan Carlos Mtz. , Belén Z., Daniel Jiménez; Familias Pérez Santiago (Artemio Pérez, Jilotepec) y Hernández González (Bertha Hernández, Zitácuaro); Fabiola, Yolanda, mi esposa Leticia Rodríguez Islas. La honorable señora María de la Luz González Juárez, María Elena, Benito, José y Guadalupe Hernández, familias Chávez Hernández, Hernández Salinas, Becerra Chávez, Navarrete Téllez, Pérez Flores, Martínez Hernández; C. González, Klee K. y Saturnina Cardoza Aguayo Damián.

Los insignes profesores Francisco Reyes Flores, Jorge A. Albarrán, Mario A. Galán, Serafín Martínez Jaramillo, Gloria Herrera, Rocío Azcárraga, Celia Valencia, Tlacatzin (Teótlcentli) Stivalet, Salvador del Castillo Rabadán; y el Ingeniero José Luis Garduño Valdez, maestro de maestros.

Los integrantes del Consejo Estudiantil Universitario (CEU) Vallejo, donde aprendí mis primeras lecciones de política, que el saber es para ayudar al progreso social, además de las muestras de fraternidad y camaradería durante más de 10 años de convivencia.

El Real Yolixpa (Marco G., Sergio F., Alejandro A., Daniel L., Juan L., Salvador G., entre otros).

Los compañeros músicos Pedro I., Carlos Colorado Vera, mi pariente Dámaso Pérez P., Chucho Mtz. Gil y sus hermanos; Olimpo Cárdenas, J. Alfredo Jaramillo Laurido, A. Carrillo; Paul Daniel Frehley, Peter Crisscoulá, John L., George H., Roger W., James H., James Douglas Morrison, Erick Clap.; José Alfredo J., J. Solís; Benny Rotten y sus especímenes, Antonio Lira, Luis Álvarez, Serafín SmSm., Rodrigo G., Amaya LTD.; Carlos Mejía Godoy y los de Palacagüina; Miguel Matamoros y trío, el Sr. S. Rodríguez, José de Molina, Gabino Palomares, Ó. Chávez. Además de Lucio C., Omar Cabezas, Edgar Munguía, Carlos Fonseca; Manuel M. Vélez; G. Vázquez, mis generales P. V. y Emiliano Zapata, tata Lázaro, Ernesto Guevara de la Serna, Fidel Castro Ruz, R. S. G. Vicente y compañía.



El autor



Yeyauhqui Tezcatlipoca



Subcdte. Insurgente Marcos

AGRADECIMIENTOS

El autor de esta tesis quiere brindar un sincero agradecimiento a los Maestros en Ciencias Francisco Franco Navarro y Alfonsina Judith Hernández, porque le brindaron la oportunidad y su confianza para desarrollar este proyecto. Dicho agradecimiento se hace extensivo al personal del centro de Documentación y Biblioteca del Colegio de Postgraduados campus Montecillo, ya que facilitaron en gran medida la búsqueda del material bibliográfico utilizado en la investigación. Por último, justo es agradecer el valioso apoyo económico, material y moral que tuvieron a bien ofrecer a quién esto escribe tanto la familia como numerosas y entrañables personas conocidas en más de 20 años; *así como a esa gente que mediante el pago de impuestos y contribuciones mantienen a TODO el sistema de Educación Pública Nacional.*

A T E N T A M E N T E

CHIKAAZE ZIPACTLI ZE KAZKAKVAVHTLI



"La vida enseña más que el más sabio de los libros y que el más profundo de los pensadores" (1960)

"La educación prende en las masas y la nueva actitud preconizada tiende a convertirse en hábito; la masa la va haciendo suya y presiona a quienes no se han educado todavía." (1965)

"Hacemos todo lo posible por darle al trabajo esta nueva categoría de deber social y unirlo al desarrollo de la técnica, por un lado, lo que dará condiciones para una mayor libertad, y al trabajo voluntario por otro, basados en la apreciación marxista de que el hombre realmente alcanza su plena condición humana cuando produce sin la compulsión de la necesidad física de venderse como mercancía." (1965)

"...ustedes, estudiantes del mundo, no olviden nunca que detrás de cada técnica hay alguien que la empuja, y que ese alguien es una sociedad, y que con esa sociedad se está, o se está contra ella. Y que en el mundo hay los que piensan que la explotación es buena, y los que piensan que la explotación es mala y hay que acabar con ella. Y que, aún cuando no se hable de política en ningún lado, el hombre político no puede renunciar a esa situación inmanente a su condición de ser humano. Y que la técnica es un arma, y que quién sienta que el mundo no es perfecto como debe ser tiene, debe luchar porque el arma de la técnica sea puesta al servicio de la sociedad, y por eso rescatar antes a la sociedad para que toda la técnica sirva a la mayor cantidad posible de seres humanos, y para que podamos construir la sociedad del futuro, désele el nombre que se quiera." (1963)

"Las leyes del capitalismo, invisibles para el común de las gentes y ciegas, actúan sobre el individuo sin que éste se percate. Sólo ve la amplitud de un horizonte que aparece infinito. Así lo presenta la propaganda capitalista que pretende extraer del caso Rockefeller -verídico o no-, una lección sobre las posibilidades de éxito. La miseria que es necesario acumular para que surja un ejemplo así y la suma de ruindades que conlleva una fortuna de esa magnitud no aparecen en el cuadro y no siempre es posible a las fuerzas populares acalorar estos conceptos. De todos modos, se muestra el camino con escolos que, aparentemente, un individuo con las cualidades necesarias puede superar para llegar a la meta. El premio se avizora en la lejanía; el camino es solitario. Además, es una carrera de lobos: solamente se puede llegar sobre el fracaso de otros" (1965)

"Toda nuestra acción es un grito de guerra contra el imperialismo y un clamor por la unidad de los pueblos contra el gran enemigo del género humano: los estados unidos de Norteamérica. En cualquier lugar que nos sorprenda la muerte, bienvenida sea, siempre que ése, nuestro grito de guerra, haya llegado hasta un oído receptivo, y otra mano se tienda para empujar nuestras armas, y otros hombres se apresten a entonar los cantos luctuosos con tableteo de ametralladoras y nuevos gritos de guerra y de victoria." (1967)

CONTENIDO

<u>TEMA</u>	<u>PÁGINA</u>
ÍNDICE GENERAL.	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.	ix
ÍNDICE DE TABLAS.	x
RESUMEN.	1
ABSTRACT.	2

ÍNDICE GENERAL.

<u>TEMA</u>	<u>PÁGINA</u>
1 INTRODUCCIÓN	3
OBJETIVOS.	4
HIPÓTESIS.	4
2 REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 EL NEMATODO FALSO NODULADOR, <i>Nacobbus aberrans</i>	5
2.1.1 Ubicación Taxonómica y Diagnósis	5
2.1.2 Ciclo de Vida	8
2.1.3 Sintomatología en cultivos afectados	11
2.1.4 Rango de Hospedantes	14
2.1.5 Distribución Geográfica	15
2.1.6 Importancia Económica	16
2.1.7 Métodos de Control y Manejo	17
2.2 HONGOS NEMATÓFAGOS COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS	25

2. 2. 1 <i>Pochonia chlamydosporia</i>: Organismo con potencial para el control de nematodos fitoparásitos.	28
2.2.1.1 <i>Reseña Histórica</i>	28
2.2.1.2 <i>Biología</i>	30
2.2.1.3 <i>Antecedentes como agente de control biológico de nematodos agalladores</i>	31
3 MATERIALES Y METODOS	36
3.1 PRUEBAS DE COLONIZACIÓN DE RAÍCES DE CHILE	36
3.1.1 Preparativos	36
3.1.2 Prueba <i>In Vitro</i> de colonización de raíces	38
3.2 PRUEBA DEL POTENCIAL PARASÍTICO DE <i>Pochonia chlamydosporia</i> SOBRE <i>Nacobbus aberrans</i> EN CONDICIONES DE INVERNADERO	40
4 RESULTADOS	45
4. 1 PRUEBAS DE COLONIZACIÓN DE RAÍCES DE CHILE	45
4. 2 PRUEBA DEL POTENCIAL PARASÍTICO DE <i>Pochonia chlamydosporia</i> SOBRE <i>Nacobbus aberrans</i> EN CONDICIONES DE INVERNADERO	46
5 ANÁLISIS DE RESULTADOS	56
6 CONCLUSIONES	60
7 LITERATURA CITADA	61
Apéndice I	74
Apéndice II	76
Apéndice III	83

ÍNDICE DE FIGURAS

TEMA	PÁGINA
Fig. 1 Hembra de <i>Nacobbus aberrans</i> .	6
Fig. 2 Otros estadios de <i>N. aberrans</i> .	8
Fig. 3 Síntomas provocados por <i>N. aberrans</i> .	13
Fig. 4 Microfotografía de <i>Pochonia chlamydosporia</i> .	31
Fig. 5 Aspectos de los preparativos de la prueba <i>In Vitro</i> .	38
Fig. 6 Aspectos de la prueba <i>In Vitro</i> .	40
Fig. 7 Cajas con semillas y raíces colonizadas.	45
Fig. 8 Índice de Agallamiento.	47
Fig. 9 Peso fresco de raíz.	48
Fig. 10 Peso seco de follaje.	49
Fig. 11 Masas de huevos por gramo de raíz.	50
Fig. 12 Estadios Juveniles por gramo de raíz.	51
Fig. 13 Hembras Maduras por gramo de raíz.	52
Fig. 14 UFC por gramo de suelo.	53
Fig. 15 Reaislamientos de <i>P. chlamydosporia</i> .	54
Fig. 16 Aspecto de las plantas en los T2 y T7.	54
Fig. 17 Aspecto de las plantas en el T11.	54
Fig. 18 Comparación entre tratamientos y testigos.	55

ÍNDICE DE TABLAS

<i>TEMA</i>	<i>PÁGINA</i>
Tabla 1. Contenido de clamidosporas en arroz colonizado.	42
Tabla 2. Resultados de la prueba de colonización de raíces.	45
Tabla 3. Resultados del ANOVA para la prueba de potencial parasítico.	46

RESUMEN

La presente investigación está encaminada a contribuir al conocimiento sobre la capacidad de control del hongo *Pochonia chlamydosporia* sobre *Nacobbus aberrans* en hortalizas, siendo el primer reporte sobre el empleo de *P. chlamydosporia* en el patosistema *Capsicum annuum-Nacobbus aberrans*. Se evaluó la capacidad del hongo para colonizar la rizósfera y raíces del cultivo en condiciones *in vitro*, además del potencial parasítico de *P. chlamydosporia* sobre *N. aberrans* a nivel invernadero. Los aislamientos denominados SMB3A y SC1 presentaron el mejor comportamiento en ambas pruebas y continuarán siendo objetos de investigación en trabajos posteriores para así dilucidar su capacidad real como agentes de control microbiológico del nematodo *N. aberrans*.

NOTA: Esta investigación forma parte del proyecto "Microbial Pest Control for sustainable peri-urban / urban agriculture in Latin América (Cuba and México)" de la Comunidad Europea.

ABSTRACT

The present investigation has the purpose of contribute to knowledge of *Pochonia chlamydosporia* ability as biocontrol agent of false root-knot nematode on vegetables (pepper); and is the first report about the usage of *P. chlamydosporia* on the *Capsicum* - *Nacobbus* pathosystem. The ability of five isolates of fungus to colonize roots of pepper on *In Vitro* conditions, besides their parasitic potential over *Nacobbus aberrans* on greenhouse, are tested. Of five isolates, the called SMB3A and SC1 shown the better deportment in both tests; and they will keep employed inn further works to elucidate their real ability as *N. aberrans* biocontrol agents.

1 INTRODUCCIÓN

La necesidad de alternativas al empleo de sustancias químicas como agentes de control de plagas y patógenos está cobrando fuerza a escala mundial, debido a los efectos que dichos productos ocasionan en la salud humana y en la biota del suelo. Respecto al control de nematodos, la rotación de cultivos no siempre ha sido capaz de satisfacer las expectativas monetarias de los productores, lo que obliga a buscar nuevas alternativas; una de las cuales es el Control Biológico. El nematodo *Nacobbus aberrans* es un parásito de importancia económica en varias hortalizas: chile, jitomate, papa; y diversos cultivos como frijol, acelga, espinaca, entre otros; junto con *Meloidogyne* spp. y *Globodera rostochiensis*, *N. aberrans* es una de las especies de nematodos fitoparásitos más importante en México. Aunque en años recientes ha sido objeto de numerosos estudios, todavía es muy poco lo que se conoce sobre los métodos para su control diferentes al químico, ello en comparación con las otras dos especies. Un hongo nematófago, *Pochonia chlamydosporia* (= *Verticillium chlamydosporium* Goddard), ha sido reportado como potencial agente de control biológico de nematodos, principalmente agalladores (*Meloidogyne* spp.) y formadores de quistes (*Heterodera* spp.), siendo objeto de mucho trabajo con el fin de utilizarlo formalmente en la lucha contra estos parásitos.

Para la realización de esta investigación se plantearon los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

Evaluar cinco diferentes aislamientos de *P. chlamydosporia* para seleccionar aquéllos con potencial como agentes de control biológico de *N. aberrans*, basándose en pruebas a nivel laboratorio e invernadero.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar la capacidad de cinco aislamientos de *P. chlamydosporia* para colonizar raíces de chile Ancho cv. San Luis, bajo condiciones de laboratorio.
- Comprobar el potencial parasítico y de control de cada aislamiento mediante su aplicación en suelo naturalmente infestado con *N. aberrans*, utilizando como hospedante plantas de chile var. Ancho San Luis, bajo condiciones de invernadero.

HIPÓTESIS.

Los cinco aislamientos ensayados de *Pochonia chlamydosporia* muestran diferencias entre sí tanto en su capacidad de colonizar la raíz del cultivo estudiado cuanto en su habilidad parasítica contra *Nacobbus aberrans*; estas diferencias permitirán hacer una elección de los mejores aislamientos.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 EL NEMATODO FALSO NODULADOR, *Nacobbus aberrans*

2.1.1 Ubicación Taxonómica y Diagnosis

Reino: Animalia

Phylum: Nemata.

Clase: Secernentea.

Orden: Tylenchida.

Suborden: Tylenchina.

Superfamilia: Tylenchoidea

Familia: Pratylenchidae.

Subfamilia: Nacobbinae.

Género: *Nacobbus*

Especie: *Nacobbus aberrans* (Thorne 1935) Thorne & Allen, 1944.

Etimológicamente, el nombre del género es un patónimo en honor al nematólogo estadounidense Nathan August Cobb (Luc, 1987; Siddiqi, 2000).

Esta especie presenta marcado dimorfismo sexual, característico en adultos. Las hembras inmaduras son vermiformes, esbeltas, de 0.6 a 1 mm de longitud, cutícula anulada, campos laterales con 4 incisuras irregularmente aereoladas. Su área labial es redondeada, fuertemente esclerosada; estilete robusto de 21-25 μm de longitud, con nódulos basales redondeados; esófago con bulbo medio prominente y válvulas conspicuas; glándulas esofágicas grandes y sobrepuestas dorsalmente al intestino. La vulva se sitúa

posteriormente, entre el 90% y el 95% del cuerpo, con labios no prominentes; cola corta, redondeada. Esta hembra inmadura es migratoria en suelo y raíces.

En cuanto a la hembra madura, ésta es sacular, con bulbo medio redondo, válvulas conspicuas y glándulas esofágicas sobrepuestas dorsalmente al intestino. Su región cefálica está esclerosada y es hemisférica, con esqueleto cefálico hexarradiado. La región posterior es ensanchada, útero elongado y torcido, la rama uterina posterior se encuentra atrofiada y obliterada; vulva subterminal y fasmidios postanales poriformes. La cola es corta, con terminación roma, bífida o irregular. Este es el estado parásito sedentario en la raíz, y junto con las hembras inmaduras inducen la formación de agallas (Franklin, 1959; Clark, 1967; Cid del Prado, 1985; Luc *et. al.*, 1990; Siddiqi, 2000; Figura 1).

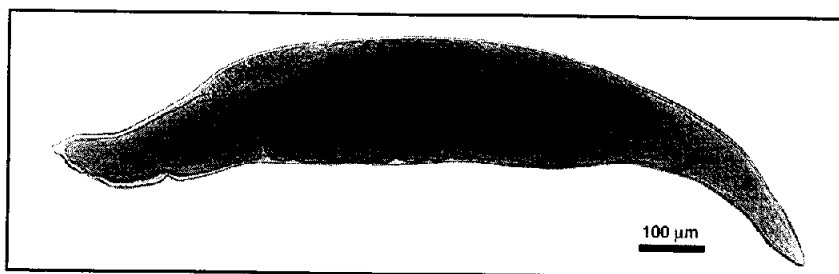


Figura 1. Morfología de una hembra madura de *Nacobbus aberrans*. (Cortesía: M. C. Francisco Franco Navarro).

Respecto a los machos, son vermiformes con esclerotización cefálica bien desarrollada y estilete de 20 a 35 μm de longitud; su región labial más grande que las hembras inmaduras. El esófago es estructuralmente similar al de la

hembra joven, con glándulas esofágicas elongadas y sobrepuestas dorsalmente al intestino. El cuerpo es cilíndrico, cuyo diámetro se reduce conforme se acerca a los extremos, de forma gradual hacia la región cefálica y abruptamente hacia la cola. Campos laterales con 4 incisuras. Fasmidios entre la cola y las espículas, las cuales están ligeramente curvadas hacia el vientre y miden de 25-35 μm de longitud. Labios cloacales típicos y testículo simple, expandido hacia la pared del cuerpo; cola totalmente envuelta por una bursa peloderan. Son migratorios en suelo y raíces (Franklin, 1959; Clark, 1967; Luc *et. al.*, 1990; Siddiqi, 2000; Figura 2 a)).

Los juveniles del segundo estadio (J2) son vermiformes, similares a las hembras inmaduras aunque de menor tamaño y sin los caracteres sexuales aún desarrollados. Es un estadio migratorio muy activo en raíces y suelo (Franklin, 1959; Clark, 1967; Cid del Prado, 1985; Siddiqi, 2000).

Por su parte, los juveniles del tercer estadio (J3) son de tamaño mayor al de los J2 y con primordios genitales que corresponden a las gónadas en los adultos. El juvenil del cuarto estadio (J4) presenta un desarrollo de las gónadas suficiente como para determinar el futuro sexo del nematodo; mientras que la gónada de las hembras es más grande que en los machos y se sitúa cerca de la cola, en los machos la gónada se encuentra alrededor del ano presentando primordios de espículas y bursa evidentes. Tanto los J3 como los J4 son menos activos en comparación con los J2 o las hembras inmaduras, y se les encuentra sobre todo en los tejidos de la raíz. Los J3 y J4 adoptan una típica forma curvada o de letra "C" al ser fijados (Franklin, 1959;

Clark, 1967; Cid del Prado, 1985; Luc *et. al.*, 1990; Siddiqi, 2000; Figura 2 b)). Finalmente, los huevos son ovales, de 80 μm de largo por 37 μm de ancho y corion liso; éstos son depositados gradualmente por la hembra en el interior de una masa o matriz gelatinosa en la que existen huevos con diferentes estados de desarrollo embrionario (Franklin, 1959; Clark, 1967; Cid del Prado, 1985; Luc *et. al.*, 1990;).

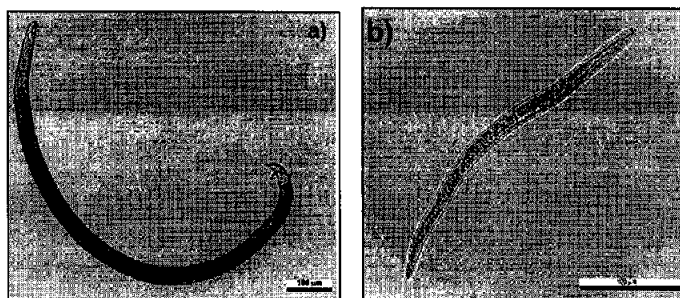


Figura 2 Otros estadios biológicos de *Nacobbus aberrans*. a) Macho b) Juvenil del segundo estadio (J2) (Cortesía: M. C. Francisco Franco Navarro).

2. 1. 2 Ciclo De Vida

Nacobbus aberrans es un nematodo endoparásito migratorio, con una fase adulta sedentaria que vive en las raíces de las plantas hospedantes (Ayoub, 1980; Cid del Prado, 1985; Inserra, 1985; Luc *et. al.*, 1990; Jatala y Bridge 1990; Cristóbal–Alejo *et. al.*, 2001). En función de la temperatura el ciclo de vida de este nematodo es de 25 a 59 días (Prasad y Webster 1967; Cid del Prado, 1985; Inserra, 1985; Luc *et. al.*, 1990; Jatala y Bridge 1990). La hembra inmadura se establece en los tejidos de la raíz induciendo la formación de un lugar especializado para su alimentación o sincitio, el cual

está íntimamente asociado con el agallamiento que ocasiona. Su cuerpo se ensancha y posteriormente extiende la porción posterior de su cuerpo hacia el exterior de la agalla mediante un canal descargando por el ano una masa gelatinosa en la cual deposita sus huevos (Cid del Prado, 1985). En una misma masa suelen encontrarse huevos con distintos niveles de desarrollo (Ayoub, 1980; Cid del Prado, 1985; Inserra, 1985; Luc *et. al.* 1990; Jatala y Bridge 1990).

En el interior del huevo el J1 completa su desarrollo mudando a J2 antes de eclosionar; éste perfora con su estilete la membrana del huevo y eclosiona, penetrando a las raíces en grupo, principalmente hacia la zona de pelos radicales, la zona de elongación y en las raíces secundarias. Una vez dentro de los tejidos, los J2 migran por ellos, regresando al suelo y posteriormente invaden nuevos puntos en la raíz. La segunda muda se efectúa generalmente dentro del tejido de las raíces y los J3 y J4 suelen permanecer dentro de las raíces hasta realizar su tercera y cuarta muda respectivamente, encontrándoseles con menor frecuencia en el suelo (Ayoub, 1980; Cid del Prado, 1985; Inserra, 1985; Luc *et. al.* 1990; Jatala y Bridge 1990; Cristóbal-Alejo *et. al.*, 2001).

La hembra inmadura es activa y penetra las raíces en varios puntos antes de establecerse y volverse sedentaria. Los machos abandonan el sitio donde realizaron la cuarta muda y comienzan a buscar a las hembras para la cópula. Es común encontrar a los machos en la periferia de la agalla e incluso dentro de la masa de huevos, por este hecho se cree que la

fecundación tiene lugar hasta que se desarrolla la agalla y no antes (Ayoub, 1980; Cid del Prado, 1985; Inserra, 1985; Luc *et. al.* 1990; Jatala y Bridge 1990; Cristóbal-Alejo *et. al.*, 2001).

El desarrollo embrionario y corporal de *N. aberrans* está íntimamente ligado a la temperatura, las hembras no producen huevos a 15° C o menos. El ciclo de huevo a huevo se cumple en un mínimo de 36 días a 25° C, y en 43 días a 30° C. La temperatura ambiental óptima para el desarrollo del nematodo es de 25° C, pero a medida que ésta disminuye, el ciclo se prolonga en duración hasta presentarse un estado de quiescencia en los juveniles, los cuales soportan temperaturas de 15 grados bajo cero hasta por 4 meses incluso en ausencia de una planta hospedante. Sobre el desarrollo de agallas, éstas aparecen en 71 días a 15° C, en 36 días a 20° C, en 19 días a 25° C y en 20 días a 30° C. Respecto a la proporción machos-hembras, se sabe que a 30° C la cantidad de machos es mayor (8 machos por cada hembra), mientras que a 25° C, la proporción es de 1:1. (Prasad y Webster 1967; Ayoub, 1980; Cid del Prado, 1985; Inserra, 1985; Luc *et. al.* 1990; Jatala y Bridge 1990; Cristóbal-Alejo *et. al.*, 2001).

Se creía que los huevos tenían la capacidad de sobrevivir en suelos desecados hasta 24 meses, y 4 meses soportando temperaturas de -13° C (Jatala y Kaltenbach, 1979); sin embargo, estudios posteriores (Cristóbal-Alejo *et. al.*, 2001) demostraron que en realidad son los estadios J3 y J4 quienes tienden a mantener su infectividad incluso en ausencia de un hospedante susceptible, esto debido a que pueden quedar protegidos dentro

de los tejidos de residuos vegetales o bien, resisten períodos de anhidrobiosis en el suelo. Esta capacidad de resistencia permite que los nematodos sobrevivientes se conviertan en el inóculo inicial primario en ciclos de siembra consecutivos. En cultivos de hortalizas comerciales (por ejemplo jitomate o chile) puede haber tres generaciones del nematodo durante un ciclo agronómico, traslapadas entre sí y con picos en su densidad poblacional. Estas últimas características (capacidad de sobrevivencia a desecación y comportamiento poblacional) convierten a *N. aberrans* en una especie única dentro de los nematodos fitoparásitos (Ayoub, 1980)

2. 1. 3 Sintomatología en cultivos afectados

La invasión de los J2 provoca lesiones tales como necrosis cortical, formación de cavidades al interior del tejido y destrucción de paredes celulares, aunque no afectan al sistema vascular ni inducen agallamiento (Schuster y Sullivan, 1960; Quimí, 1981 (a) y (b); Cid del Prado, 1985; Inserra, 1985).

Respecto a la actividad parasítica de los J3 y J4, éstos ocasionan necrosis extensiva, así como hipertrofia e hiperplasia de las células epidérmicas de la corteza sin la inducción de agallas (Quimí, 1981 (a) y (b); Cid del Prado, 1985; Inserra, 1985).

En cuanto a las hembras inmaduras, éstas son capaces de estimular el agallamiento de las raíces mientras se hacen sedentarias como resultado de la hipertrofia e hiperplasia del tejido adyacente al punto de alimentación. La

forma de las células en el sitio de alimentación que induce este nematodo es casi esférica y se observa una zona necrosada muy extensa, en contraste con las células gigantes multinucleadas de *Meloidogyne* spp., de forma cuadrada y con necrosis menos extendida. En este punto de alimentación las células tienen forma de huso, hay engrosamiento y disolución de paredes celulares y los núcleos se agrandan y deforman. En el citoplasma se acumulan compuestos de oxalato de calcio así como granos de almidón, las mitocondrias y aparatos de Golgi aumentan su número. Por otro lado hay una estimulación de la mitosis, las células del periciclo se multiplican estimulando la aparición de raíces laterales y el citoplasma se incrementa ocasionando una expansión de la célula hacia todas direcciones; este material será la fuente de alimento del patógeno. Hay fusión celular, los grupos de células interconectadas tienen forma ahusada y miden aproximadamente 2-3 mm de longitud. Como consecuencia de la hipertrofia e hiperplasia los haces vasculares se obstruyen y rompen, aunque se mantiene cierta continuidad vascular tanto en xilema como en floema. Los vasos del xilema llegan a estar completamente rodeados por este tipo de crecimiento celular. Se pueden hallar numerosos plasmodesmos entre los tubos cribosos y las células del punto de alimentación. La agalla se origina entonces como un ligero hinchamiento que al aumentar su volumen se acompaña de raíces secundarias. (Schuster y Sullivan, 1960; Jones, 1981, Castillo, 1984).

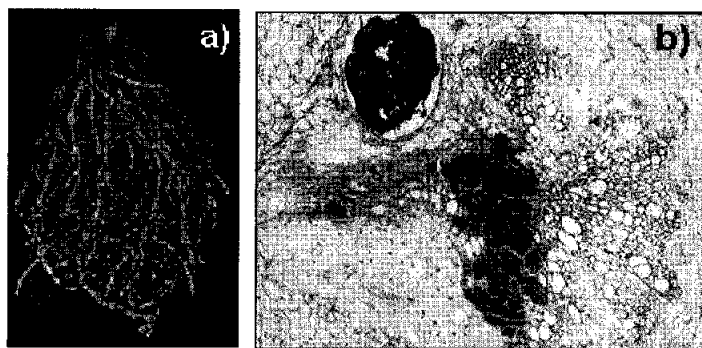


Figura 3. A) Raíz de tomate agallada por *N. aberrans*. B) Microfotografía de tejido agallado por *N. aberrans* en Chile (Cortesía: M. C. Francisco Franco Navarro)

En el campo aparecen manchones de plantas cloróticas de escaso desarrollo, con las hojas curvadas hacia abajo y muy sensibles al marchitamiento por falta de agua. Su sistema de raíces se muestra agallado, pudiendo estar totalmente devastado; y con producción reducida en comparación con las plantas sanas (Cid del Prado, 1985; Silva-Jaramillo, 1989). Existe una merma en el rendimiento de plantas de jitomate y Chile cuando la infestación del suelo es del orden de 0.12 a 12 huevos por centímetro cúbico (Inserra, 1985).

En suma, los daños que provoca el nematodo falso nodulador son: invasión y necrosis del tejido de la raíz, formación de agallas y la obstrucción de vasos conductores; todos estos factores provocan alteración en el balance nutritivo raíz-follaje y disminución en la tasa de formación de biomasa en las plantas.

2.1.4 Rango de Hospedantes

A escala mundial hay reportes de ataque a plantas comprendidas en al menos 9 familias botánicas (Jatala y Bridge, 1990); atacando principalmente a solanáceas (Jatala, 1985). En México se han reportado las siguientes plantas como hospedantes del nematodo:

AMARANTHACEAE: *Amaranthus hybridus* L. (maleza); CHENOPODIACEAE: *Beta vulgaris* L. (remolacha azucarera, betabel), *Chenopodium ambrosioides* L. (epazote), *Chenopodium nattalias* Saff. (huauxontle, choal), *Chenopodium murale* L. (maleza), *Spinacia oleraceae* L. (espinaca); CRUCIFERAE: *Raphanus sativus* L. (rábano); CUCURBITACEAE: *Cucurbita pepo* L. (calabaza); LEGUMINOSAE: *Phaseolus vulgaris* L. (frijol, judía), *Pisum sativum* L. (chícharo); MALVACEAE: *Malva parviflora* L. (maleza); POACEAE: *Fagopyrum esculentum* L. (Trigo sarraceno); POLYGONACEAE: *Rumex crispus* L. (maleza), *Portulaca oleraceae* L. (verdolaga); SOLANACEAE: *Capsicum annum* L. (chile); *C. baccatum* L. (Chile mulato); *Datura stramonium* L. (toloache), *Lycopersicon esculentum* Mill. (jitomate), *Physalis* spp. (tomate verde, miltomate), *Solanum rostratum* L. (maleza) (Caballero y Espinoza; 1987; Montes-Belmont, 1988; Silva-Jaramillo, 1989).

Según Santa Cruz-Ulibarri (1992), en condiciones de campo *N. aberrans* puede atacar a *Datura stramonium* (toloache); *Nicotiana tabacum* var. Sansun, *N. tabacum* var. Xanthi; *N. glutinos* (tabaco para cigarrillos); *Solanum demisum* (maleza), *S. Cardiophillum* (maleza); *Chenopodium album* (maleza), *Ch. murale* (maleza); *Physalis philadelphica* (miltomate) y *Cannabis*

sativa (cáñamo) (MORACEAE); por otra parte, en condiciones de invernadero reporta a *Lycopersicon esculentum* (jitomate), *Beta vulgaris* (betabel), *B. vulgaris* var. *Cycla* (remolacha azucarera), *Capsicum annuum* (chile), *Amaranthus hypocondriacus*, *A. hybridus* (amaranto), *Spinacia oleracea* (espinaca), *Raphanus sativus* (rábano), *Phaseolus vulgaris* (frijol), y *Portulaca oleracea* (verdolaga).

N. aberrans ha sido considerado desde hace tiempo como un complejo de especies o patotipos (Jatala y Golden, 1977; Jatala, 1985) en relación con el tipo de hospedantes que presenta; al respecto, Manzanilla-López *et. al.* (2002) consideran que existen 3 patotipos: la población que ataca betabel (*Beta vulgaris* L.), la que ataca papa (*Solanum tuberosum* L.) y la que daña al frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), mostrando cada una predilección por plantas que sirven como diferenciales. Toledo-Rivera (1990) reporta 3 razas en México: Na1 que ataca jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y papa mas no frijol; Na2 que se reproduce en jitomate y frijol pero no en papa, y Na3 que solo ataca frijol; cabe mencionar que la tres pueden reproducirse en acelga (*B. vulgaris* var. *vulgaris*).

2. 1. 5 Distribución Geográfica

El género está considerado como originario del continente americano (Luc *et. al.*, 1990). Jatala y Bridge (1990) y Ayoub (1980), reportan que *N. aberrans* se distribuye en áreas tropicales y templadas de Argentina, Chile, Perú,

Bolivia, Ecuador, México y Estados Unidos; también ha sido reportado en invernaderos de Inglaterra y Holanda (Inserra, 1985).

Los estados de la república mexicana donde está confirmada su presencia son: Coahuila, Estado de México, Guanajuato, Hidalgo, Morelos, Puebla, Oaxaca, San Luis Potosí, Tlaxcala y Zacatecas (Montes-Belmont, 1988; Hernández, 2001)

2. 1. 6 Importancia Económica

Se sabe que en algunas partes de México una seria restricción para el cultivo de hortalizas como el jitomate o el chile es *N. aberrans*; pero se carece de información estadística suficiente sobre su impacto, a pesar de que en el estado de Puebla existen zonas (Tecamachalco, Tehuacán, Valsequillo, etc.) con altos índices de infestación (Silva-Jaramillo, 1989; Cristóbal-Alejo *et. al.*, 2001).

N. aberrans ataca en México, además de jitomate y chile, al frijol. El jitomate es el cultivo más afectado económicamente hablando debido a la rentabilidad del cultivo, demanda de mano de obra y destino de la producción (exportación y dieta básica del pueblo mexicano) (Hernández, 2001). Manzanilla-López *et. al.* (2002) mencionan que en frijol las pérdidas debidas al nematodo pueden alcanzar un 36% del valor de la producción y en jitomate al menos un 55%. Cristóbal-Alejo (2001) calculó pérdidas de entre 30% y 83.1% en sistemas convencionales de cultivo de *Lycopersicon esculentum* Mill. en la zona de Tecamachalco, Puebla.

Mundialmente existen diversos reportes sobre los daños que provoca este nematodo. En Perú y Bolivia se estiman pérdidas de entre 30 y 90% en el cultivo de papa, siendo *N. aberrans* la máxima restricción fitosanitaria para explotar dicho cultivo (Herrera, 1977; Toledo-Rivera, 1990); en Estados Unidos es la tercera causa de mermas en la remolacha azucarera (Toledo-Rivera, 1990).

2. 1. 7 Métodos de Control y Manejo

El control de nematodos (y en general de cualquier otro patógeno) puede realizarse empleando dos métodos principales: los químicos y los no químicos. Al considerar todas las técnicas posibles de ambos niveles en una sola estrategia de control, se obtiene un programa de Manejo Integrado de Patógenos (MIP), el cual deber ser específico para el lugar, el cultivo involucrado, la especie a controlar y el historial de métodos de control realizados.

En el caso del nematodo falso nodulador, se ha trabajado con un sinnúmero de alternativas, la mayoría en forma aislada y en ocasiones combinadas con otra estrategia de naturaleza similar (métodos culturales + biológicos, resistencia genética + métodos biológicos, etc.) (Verdejo *et. al.*, 2003). Su control es extremadamente difícil en cultivos de bajo valor monetario, debido a que las estrategias de control existentes, particularmente los medios químicos, suelen ser muy costosas y con efectos en el largo plazo (Taylor, 1968).

Algunos reportes relacionados con el control de *N. aberrans* son:

a) Rotación de cultivos. Al respecto, las plantas utilizadas en programas de rotación para contrarrestar a este nematodo son: haba para forraje (*Vicia villosa*), maíz (*Zea mays*), avena (*Avena sativa*), cebolla (*Allium cepa*), pepino (*Cucumis sativus*) (Santacruz, 1992), sandía (*Citrullus vulgaris* L.), col (*Brassica oleracea* L.), melón (*Cucumis melo* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.) y chile mulato (*Capsicum pendulum*) (Zamudio-Guzmán, 1987). Manzanilla-López *et. al.* (2002) consideran que ningún patotipo del nematodo ataca gramíneas ni leguminosas de los géneros *Medicago* (alfalfa) y *Lupinus*. La principal desventaja de la rotación de cultivos ha sido que se necesita más de un ciclo de cultivo para observar efectos de control sobre el nematodo, aunado al ya conocido rango de hospedantes de *N. aberrans*, que suele ser relativamente amplio.

b) Uso de variedades resistentes o control genético. Brunner-De Magar (1967) reportó por primera vez la presencia de *Nacobbus* en México, afectando chile; en su momento experimentó con 90 variedades de chile en búsqueda de una fuente de resistencia, encontrando que *Capsicum pendulum* (= *Capsicum baccatum*) (chile mulato) ofrecía cierto grado de tolerancia al ataque del patógeno. Por su parte, Sosa-Moss y González (1973), realizaron un experimento en laboratorio empleando 5 niveles de infestación de *N. aberrans* en tres variedades de chile: Ancho, Serrano y Pasilla, concluyendo que cualquier nivel de infestación del nematodo

provocaba restricciones en el desarrollo del cultivo; también observaron que los efectos eran más acentuados conforme aumentaba la población de nematodos y que en orden de susceptibilidad, la variedad Serrano resultó la más susceptible, la variedad Pasilla quedó como intermedia, y la variedad Ancho fue la más tolerante al ataque.

En papa, las especies *Solanum tuberosum* var. Andígena y *S. sparsipilum* son importantes fuentes de resistencia para obtener variedades mejoradas (Jatala, 1985).

Zamudio-Guzmán (1987) reportó una variedad de tomate resistente a *N. aberrans*, denominada BG-LY-79.

En frijol hay un reporte correspondiente a Silva-Jaramillo (1989) en el que se encontró que la variedad Negro Puebla era tolerante al ataque del nematodo

c) Manejo de las fechas de siembra. En algunos lugares infestados con *N. aberrans* es factible mover las fechas en las que se siembran los cultivos susceptibles con el fin de aprovechar condiciones adversas para el nematodo, tanto de temperatura como de humedad, las cuales no se presentan sembrando en la fecha óptima. No es posible realizar este manejo de fechas para todos los cultivos debido al ciclo vegetativo y a las condiciones particulares existentes en cada zona, particularmente la disposición de agua. (Caballero y Espinoza, 1987). Los mismos autores reportan que en espinaca es posible reducir el daño provocado por *N. aberrans* al adelantar la fecha de siembra.

d) Cultivos trampa. Se ha encontrado que los cultivos con la propiedad de capturar inóculo de *N. aberrans* en sus raíces son: cebada (*Hordeum vulgare* L.), diferentes zacates como *Bromus unioloides* (Willd.) Raspail y *Distichus humilis* Phil. Estas plantas pueden utilizarse con el fin de limpiar gradualmente suelos altamente infestados con el nematodo (Manzanilla-López *et. al.*, 2002).

e) Cultivos antagonísticos. Se sabe que el crisantemo *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Trev.) Vis., el frijol Jack (*Concanavalia ensiformes* (L.) DC), el frijol terciopelo (*Mucuna deeringiana* Small), una variedad de ruda (*Ruta chalepensis* L.) (Marbán *et. al.*, 1989, citado por Manzanilla-López *et. al.*, 2002) y el zempoalxóchitl (*Tagetes erecta* L.) (Gómez-Rodríguez *et. al.*, 1991), han demostrado ser plantas con potencial para repeler, o en su caso reducir, las poblaciones de *N. aberrans*.

f) Quema de restos de cosecha y material infestado. En lo que concierne a esta alternativa, más que un método de control es una actividad que dentro de las labores del cultivo suele recomendarse con el fin de no incrementar la fuente de inóculo de un ciclo a otro del cultivo (Taylor, 1968; Cid del Prado *et. al.*, 1990)

g) Solarización del suelo. Salgado-Siclán *et. al.* (1990) mencionan que el uso de cubiertas plásticas y estiércol de bovino reduce la población de nematodos en suelo y contribuye a un aumento en el rendimiento de jitomate. Por su parte Yáñez-Juárez (1997) logró reducir en un 68% el inóculo de

nematodo en el suelo empleando un tratamiento de solarización con plástico transparente durante 36 días.

h) Tratamiento de material vegetativo con agua caliente. Este método se usa en la región andina para desinfectar tubérculos de papa (Manzanilla-López *et. al.*, 2002)

i) Aplicación al suelo de enmiendas orgánicas. Entre los ejemplos de enmiendas orgánicas se encuentran los abonos verdes, compostas, residuos de cosechas, harinas y pastas de oleaginosas, azúcares y materiales celulósicos. Sus efectos sobre las poblaciones de nematodos pueden deberse a la estimulación o incremento de poblaciones de parásitos y depredadores de aquellos, acción tóxica directa de los metabolitos de la descomposición microbiana, alteración en los niveles de pH y temperatura, entre otras causas (Montes-Belmont, 1973).

Montes-Belmont (1973) reporta que la adición de restos de cebada y maíz puede reducir la población de nematodos en campo con jitomate. Gómez-Rodríguez *et. al.* (1991) encontraron que al incorporar residuos de *Tagetes erecta* en un campo con jitomate era posible controlar al nematodo, aunque en menor grado que cuando *Tagetes* se asociaba a la hortaliza. Cid del Prado *et. al.* (1997) aplicaron el equivalente a 10 toneladas por hectárea de gallinaza en un terreno naturalmente infestado por *N. aberrans*, logrando disminuir la tasa reproductiva del nematodo y aumentando el rendimiento del jitomate. Posteriormente Franco-Navarro (2003), al incorporar residuos de col a diferentes dosis y fechas de aplicación en un campo infestado por *N.*

aberrans, logró reducir el índice de agallamiento y aumentó tanto la biomasa como altura de planta y el número de frutos respecto al testigo absoluto.

j) Manejo de la fertilización. Márquez y Montes-Belmont (1991) evaluaron en laboratorio el efecto de diferentes dosis de fertilización en el control de *N. aberrans*, hallando que las aplicaciones de urea y sulfato de amonio más Curater reducían los síntomas y aumentaban el rendimiento del chile.

La fertilización nitrogenada como método de control del nematodo también está reportada por Montecinos *et. al.* (1993).

k) Control químico. Caballero-Ramírez (1970) empleó el D-D (1,2 dicloropropeno, nombre comercial Telone II[®] Dow Agrosiences) para combatir al nematodo en Chile. En el mismo cultivo Equihua (1977) menciona al Aldicarb (Temik 15[®] Bayer); mientras que Márquez y Montes-Belmont (1991) reportan el uso efectivo del Carbofuran (Curater[®] Bayer).

En tomate, Zamudio-Guzmán (1987) empleó Fenamifos (Nemacur[®] Bayer) en dosis de 30 g de ingrediente activo por hectárea, mientras que Cristóbal-Alejo *et. al.* (1996) aplicaron Oxamil (Vydate[®] Du Pont).

En papa, Costilla *et. al.* (1978) obtuvieron hasta un 90% de plantas sanas al aplicar Carbofuran (Furadan 30 TS[®] FMC), también ensayaron Malathión 3.6% y Oxamil 24%, aunque con menores resultados. Franco *et. al.* (1993) reportan resultados similares usando Fenamifós y Carbofuran.

l) Manejo Integrado de Patógenos. Cristóbal-Alejo (2001) comparó tres esquemas de control de *N. aberrans* en tomate: Manejo Integrado,

Testigo Tecnificado y Testigo Absoluto (sin controlar), encontrando que en el sistema de Manejo Integrado los síntomas fueron menos evidentes, las plantas tenían mayor desarrollo y un rendimiento superior al de los otros dos esquemas. Calculó también el nivel de pérdida económica, siendo éste de 11.7 para el esquema MIP, 29.4% para el tratamiento tecnificado convencional y 83.1 en el testigo absoluto

m) Control legal. En Argentina, Brasil, Unión Europea, Bulgaria, Colombia, Estados Unidos (particularmente en el estado de California), Hungría, Islandia, Indonesia, Japón, Marruecos, Noruega, Paraguay, República de Corea, Tailandia, Uruguay y la antigua Yugoslavia, existen restricciones cuarentenarias contra *N. aberrans*. Además, en Argentina, Bolivia y Chile se han implementado programas de producción de semilla de papa libre del patógeno (Manzanilla-López *et. al.*, 2002)

n) Control Biológico. El Control Biológico de Plagas y Patógenos se refiere al empleo de parásitos, depredadores, antagonistas o competidores que funcionen como agentes reguladores del número de individuos de la población plaga o blanco hasta límites en que éstos provoquen el menor daño posible a los cultivos (Kerry, 1987; Van Driesche, 1996).

El Control Biológico se basa en la dinámica de poblaciones, tanto de la especie plaga como de la especie biocontroladora, para desarrollar sus estrategias y métodos, pudiendo ser éste de dos tipos: 1) **Inducido**, en el cual la especie biocontroladora se libera en forma masiva en un ambiente en el cual no se encontraba previamente; y 2) **Natural**, mismo que consiste en la

regulación de la población plaga por parte de un biocontrolador sin que éste haya sido introducido previamente (involucra la presencia de poblaciones nativas del biocontrolador). El éxito se observa no sólo en una reducción de los síntomas provocados por la especie blanco, también por una disminución de su densidad poblacional por debajo del nivel de daño económico, o cuando está determinado, del umbral económico para el cultivo en cuestión (Van Driesche, 1996).

El uso práctico del Control Biológico de Nematodos se acentúa en circunstancias en que la población de éstos pueda ser controlada por múltiples técnicas, las cuales contribuyan a evitar altas infestaciones en el suelo, requiriéndose de supervisión profesional. Ante los embates de algún parásito o plaga, el control biológico no es un paliativo del control químico, ya que sus efectos se notan en el largo plazo. Hablando de nematodos fitoparásitos, un buen agente de control biológico de éstos debería ser producido en forma más barata que los productos químicos, además de resultar efectivos contra las especies más importantes tales como nematodos agalladores y formadores de quistes, entre otros (Kerry, 1987).

De acuerdo con Kerry (1987), existen organismos que al interactuar con los nematodos fitoparásitos reducen sus niveles de población por efecto de competencia, depredación o parasitismo. Estos organismos pueden someterse a estudios que delimiten su potencial como agentes de control biológico, tomando siempre en cuenta que deben reunir ciertas características: 1) *rápida colonización o dispersión en el suelo*, 2)

persistencia, 3) elevada virulencia, 4) facilidad para su producción masiva y aplicación en campo, 5) una vida de almacén prolongada, 6) compatibilidad con agroquímicos y métodos de cultivo empleados en el sitio (tradicionales o estándares), 7) inocuidad para el ambiente y el ser humano; todo esto al costo más bajo posible.

2.2 HONGOS NEMATÓFAGOS COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO DE NEMATODOS FITOPARÁSITOS

Deacon (1997) clasifica a estos organismos en dos grupos: 1) hongos atrapadores de nematodos, y 2) hongos parásitos de huevos, quistes o endoparásitos de juveniles y adultos. Los primeros atrapan a sus presas por medio de estructuras especializadas como hifas adhesivas (*Arthrobotris oligospora*), ramificaciones adhesivas del micelio (*Monacrosporium cionopagum*); anillos constrictivos (*Dactylaria brochopaga*, *A. anchonia*, reportadas por Barron, 1977) y no constrictivos (*Dactylaria candida*; reportada por Barron, 1977). Todos estos hongos son organismos saprófitos que pueden alimentarse a partir de nematodos y utilizarlos como una fuente adicional de energía, encontrándose más de un tipo de estas estructuras en diferentes especies de un mismo género. A pesar de ello, las estructuras especializadas y el hecho de que en algunas especies éstas sólo aparecen en presencia del nematodo presa, indican que evolucionaron alimentándose de nematodos. Los nematodos que son presa de este grupo de hongos suelen quedar adheridos al micelio o estructura especializada según el caso,

para posteriormente penetrar sus hifas del hongo por la cutícula hasta la cavidad corporal y forman un bulbo infectivo que sirve para absorber el contenido corporal. El nematodo muere y de su cadáver emergen hifas que esporulan o bien producirán nuevas estructuras especializadas. La infección inicial es casi instantánea y prácticamente irreversible. La sustancia adhesiva involucrada está constituida por compuestos del tipo lecitina que se adhieren con sacáridos específicos de la cutícula del nematodo, suele permanecer libre de partículas de suelo y materia orgánica (Barron, 1977).

Respecto a los organismos endoparásitos o parásitos de huevos y quistes, dependen de los nematodos como principal fuente alimenticia y su densidad poblacional en el suelo está fuertemente ligada a la densidad poblacional de los nematodos (Deacon, 1997). Barron (1977) reporta que los hongos endoparásitos no desarrollan micelio en forma extensiva fuera del organismo huésped, y presentan estados de resistencia cuya función es la diseminación y la sobrevivencia bajo condiciones adversas; un ejemplo de ello es *Catenaria anguillulae*, un hongo con esporas flageladas que se mueven siguiendo un gradiente químico originado por las secreciones del nematodo que sirve de alimento; otro grupo de hongos lo conforman aquéllos que presentan conidias adhesivas como es el caso de: *Meristacrum asterospermum*, *Meria* spp., *Cephalosporium* spp y *Pochonia* spp.

Deacon (1997) comenta que la eficiencia parasítica de este grupo de hongos nematófagos puede ser tan elevada que llegan a tener un impacto significativo como supresores de poblaciones de nematodos; sin embargo, la

mayoría de estos organismos no puede explotarse como agentes de control biológico debido a la variación existente entre diferentes aislamientos de una misma especie y porque a menudo resulta muy difícil cultivarles en medios artificiales. También menciona que *Pochonia chlamydosporia*, al compararse con otros hongos nematófagos (*Paecilomyces*), es más fácil de cultivar en laboratorio pero menos efectivo como agente de control biológico de nematodos, sobre todo si actúa solo.

Por su parte Kerry (1987), cita que las investigaciones se han enfocado principalmente hacia aquellos hongos con estructuras especializadas en la captura de nematodos como anillos constrictores, nódulos adhesivos o redes de micelio; sin embargo, los hongos que parasitan estados larvarios y aquellos que parasitan huevos, como es el caso de *Pochonia chlamydosporia*, muestran aptitudes para su desarrollo formal como agentes comerciales de control biológico de nematodos fitoparásitos. Menciona que es esencial en el éxito de estos agentes potenciales el que puedan desarrollar suficiente micelio como para entrar en contacto con las masas de huevos de nematodos agalladores. En relación con la biota del suelo, este hongo resulta un débil competidor en la rizósfera pero tiene la ventaja de poderse aplicar al suelo en forma de clamidosporas, lo que simplifica el trabajo al no ser necesario adicionar una fuente de energía externa como cuando se aplica micelio al suelo. La virulencia efectiva en el suelo es difícil determinar con precisión, pero con frecuencia se relaciona con la cantidad de inóculo aplicada y las pruebas de laboratorio o *in vitro*, las cuales *por sí solas*

no constituyen evidencia para determinar el potencial parasítico de algún aislamiento, siendo necesario corroborarlas con pruebas de campo o en condiciones de ambiente no estéril. El mismo autor hace hincapié en el hecho de que la producción masiva de agentes fungosos para control biológico depende, entre otros factores, de la estabilidad genética de la especie en cuestión, ya que cada hongo derivado de un solo cultivo monospórico puede ir perdiendo su potencial en forma gradual; además, la alta mutabilidad de los microorganismos puede ocasionar dificultades en su desarrollo, particularmente si son cercanos a alguna especie fitoparásita.

2.2.1 *Pochonia chlamydosporia*: Organismo con potencial para el control de nematodos fitopatógenos

2.2.1.1 Reseña Histórica

El hongo involucrado en el presente trabajo estuvo considerado hasta el año 2001 como perteneciente al género anamorfo *Verticillium*, el cual es extremadamente heterogéneo y abarca organismos que tienen hábitos de vida saprofiticos, fitófagos, entomófagos, nematófagos; además de alimentarse de rotíferos y otros hongos.

El potencial de *P. chlamydosporia* como agente de control biológico de nematodos comenzó a vislumbrarse en la década de los 70's, al aislarse de huevos y quistes de *Heterodera* spp., El científico británico Brian Kerry logró en su momento importantes avances al desarrollar entre los años de 1970 y 1991 medios de cultivo especiales para el estudio de las especies

nematófagas agrupadas bajo la denominación *Verticillium* sección *Prostata*. (Gams, 1988; De Leij y Kerry, 1991)

Gams (1988) fue el primero en proponer una reagrupación de las especies nematófagas de *Verticillium* sección *Prostrata* tomando en cuenta sus mecanismos de infección, pero sin llegar a emitir una conclusión taxonómica formal.

En el año 2000 se realizó un estudio con el fin de reagrupar a los organismos de esa sección en categorías más naturales; para lograrlo, Zare *et. al.* (2000) reunieron aislamientos de las especies involucradas, los sometieron a un análisis de cadenas cortas y largas del ADN y definieron cuatro categorías fundamentales: el grupo A, con especies de hábitos fitoparásitos y saprófitos que forman conidióforos erectos; el grupo B, con especies que forman colonias de color claro y apariencia algodonosa, sin presencia de clamidosporas y de hábitos entomófagos y fungícolas; el grupo C, que abarca organismos saprófitos con conidias adhesivas que pueden ser endoparásitos de nematodos; y finalmente el grupo D, en el cual se reunieron organismos saprófitos capaces de colonizar huevos y quistes de nematodos. Posteriormente Gams y Zare (2001), propusieron una conclusión taxonómica para el estudio, presentando tres nuevos géneros y retomando uno que había caído en desuso: *Lecaniicillium* spp., con especies entomófagas y fungícolas; *Haptocillium* spp., con especies nematófagas productoras de conidias adhesivas, sin clamidosporas; *Rotiferophthora* spp., con capacidad para parasitar rotíferos; y *Pochonia* spp., parásitos de huevos y quistes de

nematodos, con capacidad para formar clamidosporas típicas, de pared engrosada. El género *Pochonia* ya había sido propuesto por Batista y Fonseca en 1965 (Zare *et. al.*, 2001), cayendo en desuso posteriormente.

2.2.1.2 *Biología*

Las colonias de *Pochonia* tienen un crecimiento moderado, alcanzando 15 a 40 cm de diámetro en 10 días. Los conidióforos son por lo general prostrados y poco diferenciados del micelio. Las conidias se agrupan en cabezuelas o cadenas, subglobosas a elipsoidales, isodiamétricas o bien falcadas; producen dictioclamidosporas en el micelio aéreo. En el caso específico de *Pochonia chlamydosporia*, las colonias alcanzan de 20 a 38 mm de diámetro en 10 días, son de color blanco que posteriormente se torna amarillento debido a la producción de clamidosporas. Los conidióforos son prostrados y emiten de 2 a 3 fialidas por nódulo en verticilo; a veces son sencillos. Las conidias son hialinas o de color brillante, mayoritariamente unicelulares, creciendo en cabezuelas recubiertas de una sustancia adhesiva. Clamidosporas típicas. (Domsch y Gams, 1980; Zare *et. al.*, 2001; Figura 4). *P. chlamydosporia* coloniza la rizósfera de las plantas sin provocar lesiones ni penetrar al córtex de la raíz; esta colonización prolonga la vida del hongo en el suelo, le permite parasitar nematodos agalladores y formadores de quistes, y no afecta el desarrollo de las plantas. Se establece más fácilmente cuando se adiciona al suelo en forma de clamidosporas, de ahí que esta

característica facilite su manipulación práctica y científica (De Leij y Kerry, 1991; Bourne *et. al.*, 1994).

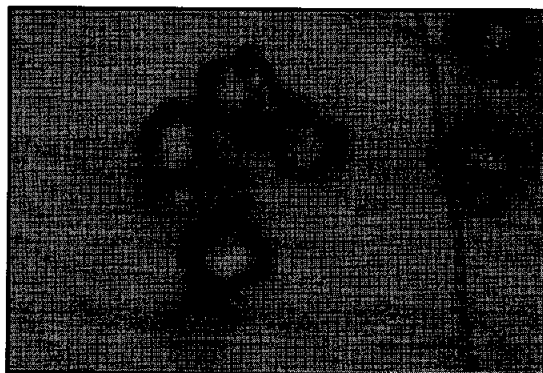


Fig.4 Microfotografía de *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* (Cortesía: M. C. Francisco Franco Navarro).

2.2.1.3 Antecedentes como agente de control biológico de nematodos agalladores

De Leij y Kerry (1991) probaron tres aislamientos del hongo en plantas de tomate crecidas en suelo infestado con *Meloidogyne arenaria*, los tres sobrevivieron bien en el suelo aunque solamente uno logró presentar efectos significativos en la población de nematodos. Probando dos formas de aplicación descubrieron que resultaba más apropiado utilizar clamidosporas al no ocupar una fuente de energía adicional como cuando la inoculación es mediante micelio. Por otro lado, hicieron una prueba para determinar si el hongo afectaba en alguna forma el desarrollo normal del cultivo, encontrando que *P. chlamydosporia* colonizó la raíz sin afectar al cultivo en forma alguna.

Bourne *et. al.* (1994) realizaron pruebas con aislamientos obtenidos de suelo infestado por *Meloidogyne* y *Heterodera* con el fin de determinar la capacidad de cada uno para colonizar la rizósfera en condiciones estériles y su habilidad parasítica en suelo no infestado. Sus resultados mostraron que *entre aislamientos existe una gran variabilidad, que una cepa cuyo comportamiento en laboratorio haya sido exitoso no necesariamente se comporta igual en suelo no estéril y que esta falla puede deberse a una débil capacidad para competir con el resto de la biota del suelo.* El control de nematodos resultó más efectivo cuando las masas de huevos de *Meloidogyne* se encontraban expuestas en la superficie de la raíz o embebidas en agallas pequeñas; así como cuando el parasitismo se daba en etapas tempranas del desarrollo del huevo.

Mousa *et. al.* (1995) probaron diferentes niveles de inóculo, encontrando una relación directa entre la cantidad de hongo aplicada y la supresión de la población de nematodos.

Kerry (1997) estableció una secuencia para evaluar el potencial parasítico de los diferentes aislamientos del hongo, compuesta por dos fases: pruebas *in vitro* y pruebas de campo. Entre las primeras se encuentran las pruebas de parasitismo con huevos y las pruebas de colonización de raíces de plantas susceptibles al nematodo; *debiéndose obtener porcentajes de 80% o superiores en ambos casos para que dichos aislamientos sean considerados como potenciales agentes de control biológico y procedan las pruebas de campo, las cuales pueden realizarse a cielo abierto o en invernaderos.*

Estandarizó la cantidad mínima de inóculo del hongo a utilizar en trabajos de esta naturaleza, debe ser de por lo menos 5 000 clamidosporas por cada gramo de suelo empleado. Dicha metodología ha sido empleada por la mayoría de investigadores que trabajaron o trabajan con *P. chlamydosporia*, incluyéndose el presente trabajo.

Atkins *et. al.* (2003(a)) presentaron los primeros esfuerzos para diferenciar a las dos principales variedades del hongo (*P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* y var. *catenulata*) empleando procedimientos de biología molecular.

Verdejo *et. al.* (2003) experimentaron usando a *P. chlamydosporia* y Oxamil (solos o en combinación) contra *Meloidogyne* sp.; encontrando que la combinación de ambos provocaba mayores efectos sobre el nematodo que su empleo por separado. También se observó que el hongo mantuvo densidades bajas en el suelo durante el tiempo que duró el experimento.

Atkins *et. al.* (2003(b)) probaron diversos sustratos, encontrando que *P. chlamydosporia* var. *catenulata* prosperaba mejor en aquellos con alto contenido de materia orgánica. En sus pruebas de parasitismo *in vitro* obtuvieron porcentajes de 70% usando dicha variedad del hongo.

Flores-Camacho (2003), obtuvo varios aislamientos mexicanos de *P. chlamydosporia* a partir de muestras de suelo y raíces procedentes de varios predios con *N. aberrans* presente. Con dichos aislamientos realizó pruebas de parasitismo *in vitro*, encontrando que algunos eran capaces de parasitar más del 90% de los huevos pertenecientes a tres diferentes poblaciones de

N. aberrans en plantas de jitomate: para la población Montecillo, el aislamiento denominado SC1 con 84% de parasitismo en huevos; mientras que en las poblaciones de Tecamachalco y Zacatecas el aislamiento más efectivo fue el llamado MHCH con 96% y 91% respectivamente. Destacaron también los aislamientos SMB3A (90% de parasitismo sobre la población de Zacatecas y 76% sobre la de Montecillo) y SM4 (94% de parasitismo sobre la población de Tecamachalco).

Doroteo-Mendoza (2004) realizó estudios *in vitro* utilizando los aislamientos reportados por Flores-Camacho (2003), con el fin de determinar su potencial parasítico sobre huevos de dos poblaciones de *N. aberrans*, concluyendo que dos de los cinco aislamientos eran efectivos para el control del nematodo, ya que presentaron un nivel de parasitismo en huevos superior al 78%.

En un experimento realizado por Pérez-Rodríguez (2004), se probaron los aislamientos reportados por Flores-Camacho (2003) en suelo naturalmente infestado con *N. aberrans* bajo condiciones de invernadero, concluyendo que las plantas tratadas con el aislamiento SC1 a una dosis de 15 000 clamidosporas por gramo de suelo presentaron la menor población de nematodos así como menores daños en planta con respecto al testigo y el resto de los tratamientos.

En un estudio sobre la presencia de *P. chlamydosporia* en ambientes perturbados y no perturbados, Vilchis-Martínez de Tarín (2004) obtuvo 34 aislamientos de *P. chlamydosporia*, 26 de ellos pertenecientes a la variedad *chlamydosporia* y 8 a la variedad *catenulata*, siendo éste el primer reporte en

México sobre el hallazgo de algún aislamiento de la variedad *catenulata*. De todos los aislamientos examinó su capacidad parasítica sobre huevos de *N. aberrans*, encontrando una respuesta diferenciada y resaltando a cinco con un nivel de parasitismo mayor al 80%, aunque sin precisar a qué variedad del hongo (var. *chlamydosporia* o var. *catenulata*) correspondían tales aislamientos.

3 MATERIALES Y METODOS

La parte experimental de esta investigación se dividió en dos fases: en la primera se evaluó la capacidad colonizadora de *P. chlamydosporia* en la rizósfera y raíces del chile Ancho San Luis, definida la rizósfera como "región del suelo bajo la influencia física y fisiológica de la raíz de las plantas" (Ferrera-Cerrato, 1989). En la segunda fase se determinó el potencial parasítico de dichos aislamientos bajo condiciones de invernadero utilizando como hospedante plantas de la variedad de chile ya mencionada puestas a crecer en suelo naturalmente infestado con el nematodo falso nodulador.

3.1 PRUEBA DE COLONIZACIÓN DE RAÍCES DE CHILE

3.1.1 Preparativos.

Se utilizaron los cinco aislamientos obtenidos y reportados por Flores-Camacho (2003); éstos son: SC1, SM4, MHCH, SMB3 y SMB3A, cuyas claves ya habían sido previamente asignadas. Se partió de muestras de cada aislamiento mantenidas en cajas Petri con Papa-Agar (PA). Todos los aislamientos se incubaron en medio líquido de Czapek + sales (Apéndice I, inciso 1.4) (Kerry, 1997), con el fin de producir conidios masivamente y hacer las inoculaciones correspondientes a las semillas de chile. A cada matraz con medio se le agregaron 5 discos de medio PA de aproximadamente 5 mm de diámetro, en los cuales había crecimiento de micelio del aislamiento respectivo (21 días de edad). Los matraces fueron colocados en un plato

agitador a 120 rpm y 27° C de temperatura durante 14 días. Transcurrido dicho periodo de incubación, el medio líquido fue filtrado en condiciones estériles y se estimó la concentración de conidias por cada aislamiento, para lo cual se utilizó una cámara de Neubauer®; esta estimación se llevó al cabo para ajustar cada aislamiento a una concentración de 10⁶ clamidosporas en 200 ml. Como diluyente se utilizó alginato de sodio (manucol) 1%. Antes de embeber en las diferentes suspensiones de conidias las semillas de chile, éstas se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio 3.5% bajo agitación constante durante 5 minutos, enjuagándose luego con agua destilada estéril hasta retirar todo resto del hipoclorito. Las semillas desinfectadas se colocaron dentro de las diferentes suspensiones (200 ml), agitándose vigorosamente durante 10 minutos para así asegurar que se adhiriera un mínimo de 10⁵ clamidosporas por semilla (Bourne *et. al.*, 1994). Luego de embebidas las semillas, fueron colocadas sobre mallas de alambre con el fin de que se secan en el interior de la campana de flujo laminar hasta el día siguiente. Una vez secas las semillas, se colocaron 10 semillas en cajas de Petri por cada aislamiento, usando medio Agua-Agar (AA) (Apéndice I, inciso 1.3) y Harina de Maíz-Agar (HMA) (Apéndice I, inciso 1.2), y estableciéndose cuatro repeticiones de cada medio por aislamiento; manteniéndoles a una temperatura de 24° C. Después de 72 horas se contaron las semillas correspondientes a cada tratamiento en cuya testa se encontraba creciendo micelio de *P. chlamydosporia*, con el fin de corroborar

su presencia en las semillas de chile después del proceso de imbibición y asegurar que el hongo permanecía viable.

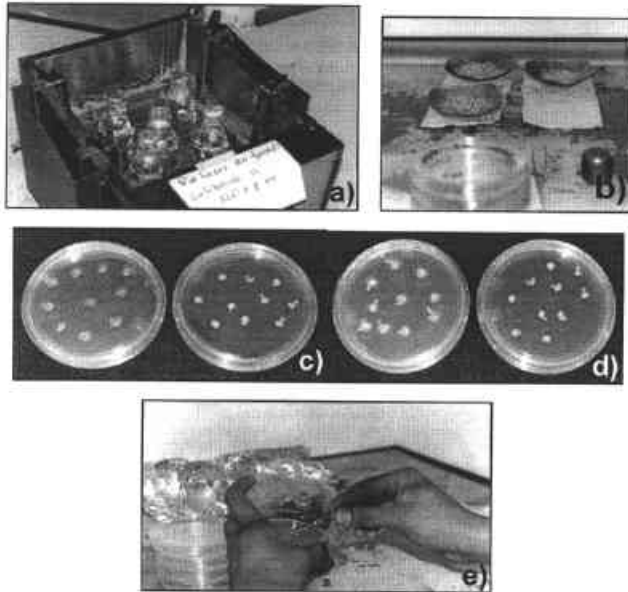


Fig.5 Aspectos de los preparativos de la prueba *In Vitro*. a) Plato agitador, b) Semillas imbibidas en el interior de la campana de flujo laminar, c) Semillas en medio AA, d) Semillas en medio HMA, e) Siembra en las cajas de Petri.

3. 1. 2 Prueba *In Vitro* de colonización de raíces

Para evaluar la capacidad de colonización de raíces de chile por cada aislamiento, se montó un experimento en instalaciones del Colegio de Postgraduados, arreglado completamente al azar con 6 tratamientos y 6 repeticiones:

T1 = semillas de chile con el aislamiento SC1

T2 = semillas de chile con el aislamiento SM4

T3 = semillas de chile con el aislamiento MHCH

T4 = semillas de chile con el aislamiento SMB3

T5 = semillas de chile con el aislamiento SMB3A

T6 = semillas de chile + manucol 1% (Testigo)

Para esta prueba se llenaron tubos de ensaye de 20 cm de longitud por 3.6 cm de diámetro hasta $\frac{3}{4}$ partes de su capacidad con vermiculita (65 g^{-1} tubo), dichos tubos se taparon con un capuchón de aluminio y se esterilizaron en olla de presión a 121° C durante 40 minutos. Una vez fríos, en cada tubo se sembraron tres semillas de chile previamente embebidas. Por cada aislamiento de hongo se utilizaron 6 tubos. Todos los tubos se taparon con cinta transparente, se cubrieron con papel aluminio para evitar la incidencia de luz en el sustrato y se incubaron a 27° C . A los diez días posteriores a la emergencia de las plántulas, éstas fueron extraídas de cada tubo procurando que saliese la raíz completa, y se retiraron los restos de sustrato con agua destilada estéril para posteriormente cortar segmentos de raíces de un centímetro de longitud y sembrarlos en cajas Petri con HMA a razón de 5 fragmentos por caja; por cada tubo se sembraron dos cajas. Las cajas fueron mantenidas a 24° C durante 72 horas y al finalizar ese tiempo se contaron los fragmentos de raíz con micelio de *P. chlamydosporia* creciendo sobre ellas; con estos datos se realizó el cálculo del porcentaje de colonización de raíces para cada aislamiento. De acuerdo con Kerry (1997), sólo los aislamientos

con un porcentaje de colonización mayor al 80% deben ser considerados como potenciales biocontroladores de nematodos agalladores, ello dependiendo de otros atributos (capacidad de producción de clamidosporas, porcentaje de parasitismo de huevos, etc.); en caso tal es pertinente hacer con ellos una prueba de parasitismo en condiciones no estériles.

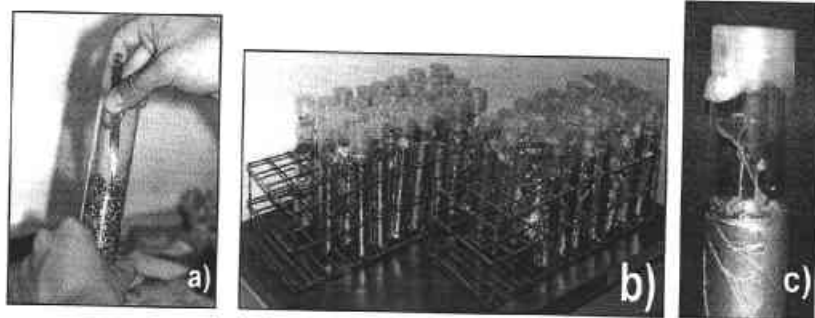


Fig. 6. Aspectos de la prueba *In Vitro*. a) Siembra de semillas en los tubos con vermicultita, b) Montajes almacenados, c) Plántulas al interior de los tubos, previo a su procesamiento.

3.2 PRUEBA DEL POTENCIAL PARASÍTICO DE *P. chlamydosporia* SOBRE *N. aberrans* EN CONDICIONES DE INVERNADERO

Esta segunda fase del estudio se realizó en instalaciones del Colegio de Postgraduados. El experimento se llevó al cabo en invernadero bajo un diseño completamente al azar, en el cual se probaron 5 aislamientos en dos niveles de inóculo (7 500 y 15 000 clamidosporas * g⁻¹ de suelo), además de 2 tratamientos testigos (absoluto y con nematodo solo), con el siguiente arreglo de tratamientos:

- T1 = *N. aberrans* solo (Testigo con nematodo [TCN])
T2 = *N. aberrans* + SC1 (7500 clamidosporas g⁻¹ de suelo)
T3 = *N. aberrans* + SM4 (7500 clamidosporas g⁻¹ de suelo)
T4 = *N. aberrans* + MHCH (7500 clamidosporas g⁻¹ de suelo)
T5 = *N. aberrans* + SMB3 (7500 clamidosporas g⁻¹ de suelo)
T6 = *N. aberrans* + SMB3A (7500 clamidosporas g⁻¹ de suelo)
T7 = *N. aberrans* + SC1 (15 000 clamidosporas g⁻¹ de suelo)
T8 = *N. aberrans* + SM4 (15 000 clamidosporas g⁻¹ de suelo)
T9 = *N. aberrans* + MHCH (15 000 clamidosporas g⁻¹ de suelo)
T10 = *N. aberrans* + SMB3 (15 000 clamidosporas g⁻¹ de suelo)
T11 = *N. aberrans* + SMB3A (15 000 clamidosporas g⁻¹ de suelo)
T12 = Inóculo del hongo esterilizado y suelo sin *N. aberrans* (Testigo absoluto)

Por cada tratamiento se contó con 4 repeticiones, dando un total de 48 macetas o unidades experimentales, en cada una de las cuales se transplantaron 2 propágulos de chile Ancho San Luis.

Para el establecimiento del experimento primeramente se colectó suelo naturalmente infestado con el nematodo, proveniente de una parcela del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. En 44 de las 48 macetas se colocaron 1.6 kg de suelo infestado, mientras que en las otras cuatro se colocó suelo previamente esterilizado con el fin de usarse en el testigo absoluto. Los diferentes aislamientos a probar se aplicaron utilizando como sustrato de crecimiento granos de arroz colonizados masivamente; esta

producción masiva se llevó a cabo en las instalaciones del IFIT-CP, empleando la metodología propuesta por Hidalgo *et. al.* (2000) (citado por Atkins *et. al.*, 2003(a)) modificada por el equipo de trabajo del Laboratorio de Nematología del Colegio de Postgraduados tal y como se relata en Pérez-Rodríguez (2004).

El producto fue sometido a pruebas de calidad con el fin de determinar su viabilidad, así como la concentración de clamidosporas y de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo de producto (Apéndice II, inciso 2.5 y 2.6); la concentración de clamidosporas permitió estimar la cantidad necesaria de arroz colonizado que debía aplicarse en cada tratamiento (Tabla 1). Relativo a la viabilidad de los aislamientos, cuantificado como el porcentaje de germinación de clamidosporas, se encontró un porcentaje superior al 80 % para todos los aislamientos estudiados (Apéndice II, inciso 2.5)

AISLAMIENTO	CONCENTRACIÓN (clamidosporas g ⁻¹ arroz colonizado)	CANTIDAD A APLICAR			
		DOSIS ALTA (15 000 cl g ⁻¹)		DOSIS BAJA (7 500 cl g ⁻¹)	
		POR MACETA	TOTAL TRATAMIENTO	POR MACETA	TOTAL TRATAMIENTO
SC1	3.7 * 10 ⁶	6.4 g	25.6 g	3.2 g	12.8 g
SM4	2.5 * 10 ⁶	9.6 g	38.4 g	4.8 g	19.2 g
MHCH	9.3 * 10 ⁵	25.8 g	103.2 g	12.9 g	51.6 g
SMB3	1.2 * 10 ⁶	20 g	80 g	10 g	40 g
SMB3A	1.46 * 10 ⁶	16.4 g	65.6 g	8.2 g	32.8 g

Tabla 1. Contenido de clamidosporas g⁻¹ de arroz colonizado para cada aislamiento de *P. chlamyosporia*, así como la cantidad a emplear por tratamiento y repetición.

Una vez determinada la cantidad de inóculo a aplicar por unidad experimental, el arroz colonizado se mezcló con 27 gramos de vermicomposta (el equivalente por maceta para igualar con una dosis de 10 ton ha⁻¹), la cual además de servir como vehículo de aplicación para el producto, constituyó un abono necesario para el establecimiento de las plantas de chile. La mezcla se agitó vigorosamente y fue aplicada inmediatamente después del trasplante. Una segunda aplicación se efectuó a los 40 días después del trasplante, respetándose las concentraciones y pesos empleados en la primera aplicación. De manera complementaria, se hicieron 3 aplicaciones quincenales del fertilizante foliar Bayfolan® durante el desarrollo vegetativo de las plantas (28 de Abril, 12 y 26 de Mayo del 2004), en dosis equivalente a 2 L ha⁻¹. El experimento fue levantado transcurridos 60 días, evaluándose las siguientes variables:

- Índice de agallamiento (Apéndice II, inciso 2.7).
- Peso seco de follaje (Apéndice II, inciso 2.8).
- Peso fresco de raíz (Apéndice II, inciso 2.9).
- Número de hembras por gramo de raíz. Para tal efecto, las raíces de las plantas correspondientes a todas las repeticiones dentro de su respectivo tratamiento se agruparon y cortaron en trozos de aproximadamente 1 cm de longitud; de esta muestra compuesta en cada tratamiento se tomaron cinco submuestras de 1 g cada una; posteriormente las raíces se tiñeron mediante

la técnica de Hussey (1987) para la detección y cuantificación de dichas hembras (Apéndice II, inciso 2.3).

- Número de juveniles por gramo de raíz. De la muestra compuesta de raíces de cada tratamiento se tomaron 5 submuestras de 1 g cada una. Cada submuestra fue licuada y procesada como se indica en el Apéndice II, inciso 2.2.

- Número de masas de huevos por gramo de raíz. De la muestra compuesta de raíces correspondiente a cada tratamiento, se tomaron 5 submuestras de 1 g cada una, con el fin de extraer y contar las masas de huevos presentes en el tejido agallado. Al final, se obtuvo un valor promedio correspondiente a cada tratamiento.

- Porcentaje de masas parasitadas (Apéndice II, inciso 2.4).

- Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo de raíz. De la muestra compuesta de raíces correspondiente a cada tratamiento, se tomaron 5 submuestras de 1 g cada una, procediéndose como se indica en el Apéndice II, inciso 2.1.

- UFC por gramo de suelo: Para tal fin, se procedió como se indica en el Apéndice II, inciso 2.1

Los datos recopilados para cada variable fueron analizados usando el paquete SAS SYSTEM; mediante las utilidades que permiten obtener el Análisis de Varianza para cada variable evaluada, y Prueba de Comparación de Medias de Duncan en aquellas que mostraron diferencia significativa entre tratamientos.

4 RESULTADOS

4.1 PRUEBAS DE COLONIZACIÓN DE RAÍCES DE CHILE

Los resultados de las pruebas de colonización de raíces, complementados con los del nivel de presencia de los diferentes aislamientos del hongo en las semillas, se presentan en la Tabla 2.

Aislamiento	<i>P. chlamydosporia</i> en semillas		% de colonización en raíces
	MEDIOS EVALUADOS		
	AA	HMA	
Testigo ó Control	0	0	0
SC1	100%	100%	100 % (60/60)
SM4	100%	100%	85% (51/60)
MHCH	100%	87.5%	90% (54/60)
SMB3	92.5%	90%	100 % (60/60)
SMB3A	100%	100%	95% (57/60)

Tabla 2. Resultados de la prueba de colonización de raíces por parte de cada aislamiento de *P. chlamydosporia* probado. Se anexa el porcentaje de presencia de cada aislamiento en la testa de las semillas



Fig 7. Cajas Petri con semillas y fragmentos de raíces colonizados. a) Semillas del aislamiento SMB3 en medio AA, b) Aislamiento SC1, mostrando crecimiento en ambos medios, c) Fragmentos de raíces colonizadas por el aislamiento SC1

4.2 PRUEBA DEL POTENCIAL PARASÍTICO DE *P. chlamydosporia* SOBRE *N. aberrans* EN CONDICIONES DE INVERNADERO

Los resultados del análisis de varianza para los datos correspondientes a cada variable evaluada se presentan en la Tabla 3.

VARIABLE	VALOR DE F	R ²	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
1. - Índice de Agallamiento	2.72 (NS)	0.4520	10.90
2. - Peso Fresco de Raíz	1.99 (NS)	0.3760	28.89
3. - Peso Fresco de Follaje	1.94 (NS)	0.3703	46.26
4. - Masas de Huevos * g raíz ⁻¹	5.00 (*)	0.6945	36.95
5. - Juveniles * g raíz ⁻¹	1.40 (NS)	0.3896	90.22
6. - Hembras maduras * g raíz ⁻¹	7.59 (*)	0.7752	20.74
7. - Masas de Huevos parasitadas	0	0	0
8. - UFC * g raíz ⁻¹	0	0	0
9. - UFC * g suelo ⁻¹	13.99 (*)	0.8640	112.26

Tabla 3. Resultados del análisis de varianza para la prueba de potencial parasítico

Índice de agallamiento. El T2 (SC1- 7500 clam.) presentó un índice de agallamiento 2% menor que el T1 (testigo con nematodo). Los tratamientos T7 (SC1-15000 clam.) y T11 (SMB3A-15 000 clam.) registraron el menor nivel de agallamiento (4.5), 33% menor que el testigo con nematodo (Figuras 8; Apéndice III, Tabla 1).

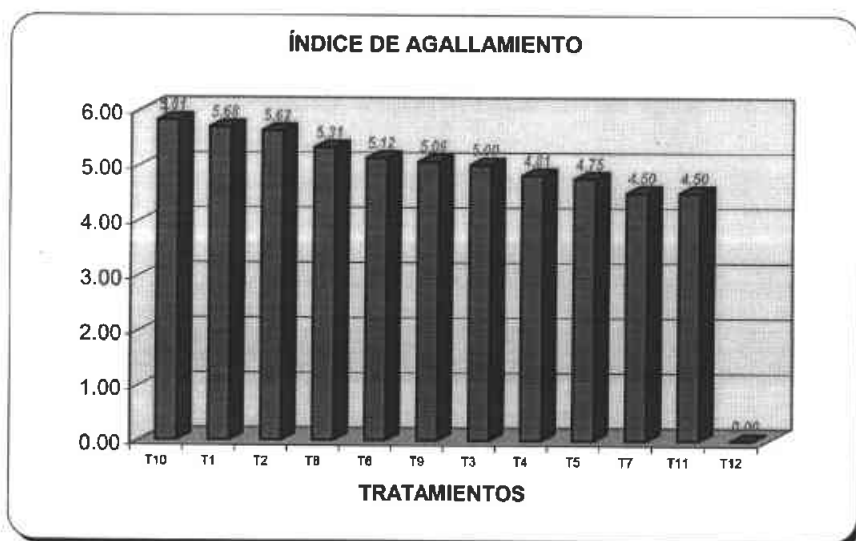


Fig 8. Índice de agallamiento en plantas de chile Ancho (*Capsicum annuum* L.) var. San Luis inoculadas con distintas concentraciones de clamidoporas por gramo de suelo de diferentes aislamientos de *P. chlamydozporia*.

Peso fresco de raíz. Tal y como se esperaba, el tratamiento T12 (Testigo absoluto), presentó plantas con el mayor peso fresco de raíz (28.73 g), un incremento del 900% respecto al de las plantas correspondientes al testigo con nematodo y a los diferentes aislamientos del hongo. Entre éstos sobresalieron los tratamientos T3 (SM4-7500 clam.) con 3.88 g (24.75 % de aumento respecto a T1), y T2 (SC1-7500 clam.) con 3.86 (24 % de aumento respecto a T1) (Figura 9; Apéndice III, Tabla 1)



Fig 9. Peso fresco de Raíz en plantas de chile Ancho (*Capsicum annum* L.) var. San Luis inoculadas con distintas concentraciones de clamidoporas por gramo de suelo de diferentes aislamientos de *P. chlamydozporia*.

Peso seco de follaje. Mientras que en el T2 se obtuvo un valor de 0.89, 78% más que el testigo con nematodo, el T11 tuvo 2% más peso que el T1 y el T12 superó en más de 15 veces el valor presente en las plantas del testigo con nematodo. En los tratamientos T8, T5 y T9 se observaron los valores más bajos de peso seco de follaje, (Figura 10; Apéndice III, Tabla 1)

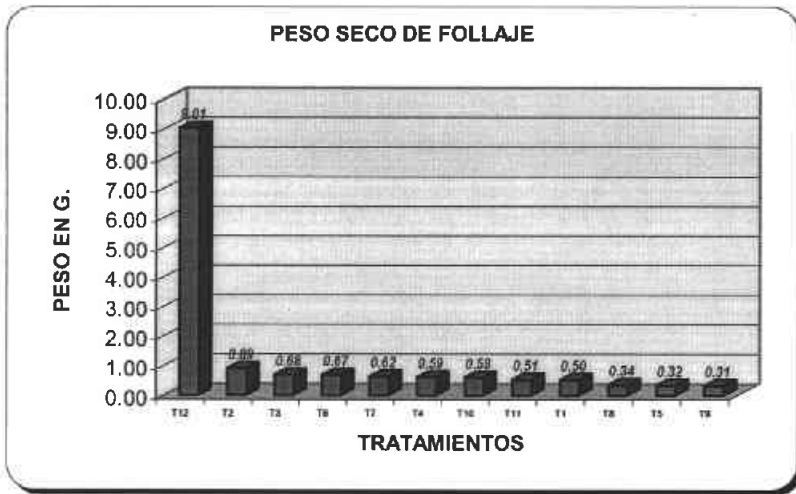
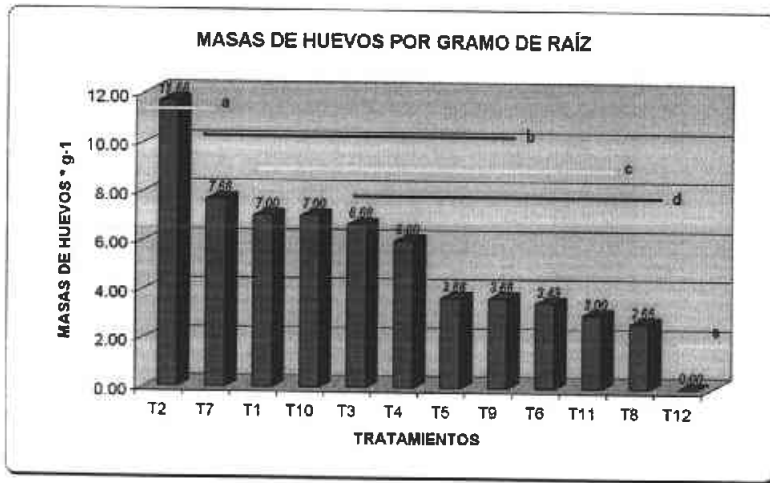


Fig 10. Peso Seco de Follaje en plantas de chile Ancho (*Capsicum annum L.*) var. San Luis inoculadas con distintas concentraciones de clamidoporas por gramo de suelo de diferentes aislamientos de *P. chlamydosporia*.

Masas de huevos por gramo de raíz. Los tratamientos con los valores promedio más altos fueron el T2 con 12 masas, T7 con 8 masas y T1 con 7 masas. Los valores más reducidos corresponden al T8 con 2.66 y T11 con 3 masas. La prueba de medias de Duncan establece que el T2 (SC1 - 7500 clam.) resultó significativamente diferente al resto de los tratamientos con nematodo en lo que a esta variable respecta. (Figura 11; Apéndice III, Tabla 2)



AGRUPAMIENTO DE MEDIAS SEGÚN LA PRUEBA DE DUNCAN

Fig 11. Masas de huevos de *N. aberrans* por gramo de Raíz en plantas de chile Ancho (*Capsicum annuum* L.) var. San Luis inoculadas con distintas concentraciones de clamidoporas por gramo de suelo de diferentes aislamientos de *P. chlamydosporia*.

Juveniles por gramo de raíz. Según el análisis de varianza no existe diferencia significativa entre los tratamientos con nematodo. El valor más alto se observó en el T1 (Testigo con nematodo) y fue de 70 juveniles por gramo de raíz. El T7 tuvo 42, el T2 registró 25.67 en promedio; y el T11 21 juveniles en promedio. El valor más bajo fue el correspondiente al T8, con un promedio de 9.33 juveniles por gramo de raíces (Figura 12; Apéndice III, Tabla 2)



Fig 12. Estadios juveniles de *N. aberrans* por gramo de Raíz en plantas de chile Ancho (*Capsicum annuum* L.) var. San Luis inoculadas con distintas concentraciones de clamidoporas por gramo de suelo de diferentes aislamientos de *P. chlamydosporia*.

Hembras Maduras por gramo de raíz. De acuerdo con el análisis de varianza hubo diferencia significativa entre los tratamientos, la prueba de medias de Duncan arrojó como resultado que en esta variable el T10 (con un promedio de 34 hembras maduras por gramo de tejido radicular) es diferente al resto de los tratamientos con nematodo; de éstos el valor más elevado correspondió al T3 (SM4-15000 clam.), con 19.33 hembras maduras por gramo de tejido; y el más bajo al llamado T5 (SMB3-7500 clam.), con 13.66 hembras maduras por gramo de raíz. (Tabla 3; Figura 13; Apéndice III, Tabla 2)

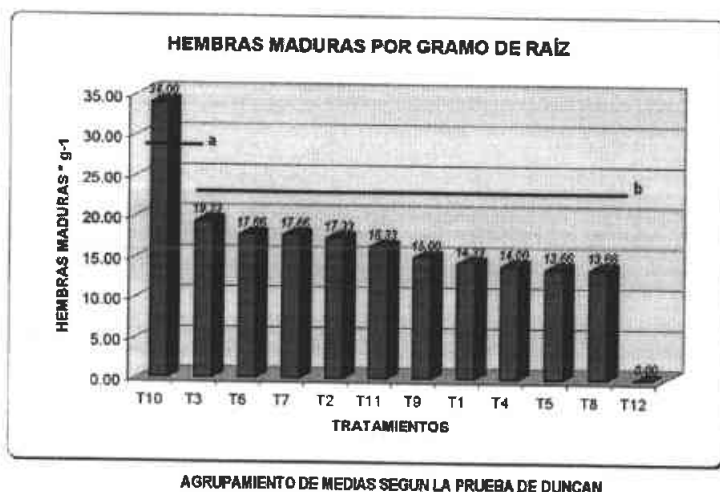


Fig 13. Hembras maduras de *N. aberrans* por gramo de Raíz en plantas de Chile Ancho (*Capsicum annuum* L.) var. San Luis inoculadas con distintas concentraciones de clamidoporas por gramo de suelo de diferentes aislamientos de *P. chlamydosporia*.

Masas de huevos parasitados. Respecto a esta variable, no se detectó crecimiento alguno del hongo en ninguno de los tratamientos (Apéndice III, Tabla 3).

Unidades formadoras de colonias por gramo de raíces. No se observó crecimiento de unidades formadoras de colonias en ninguno de los tratamientos ensayados una vez transcurrido el tiempo de incubación respectivo (Apéndice III, Tabla 3)

Unidades formadoras de colonias por gramo de suelo. Se observó crecimiento de unidades formadoras de colonias solamente en los llamados T11 (SMB3A-15 000 clam), siendo éste significativamente diferente del resto de tratamientos ensayados según la prueba de Duncan; T2 (SC1-7 500 clam) y T7 (SC1-15 000 clam).

Los valores obtenidos fueron: para el T2, 5 666 UFC; para el T7, 2 333 UFC; y para el T11, 22 233 UFC, el número mayor de entre las que resultaron positivas para esta variable (Fig. 7). (Figuras 14 y 15; Apéndice III, Tabla 3).

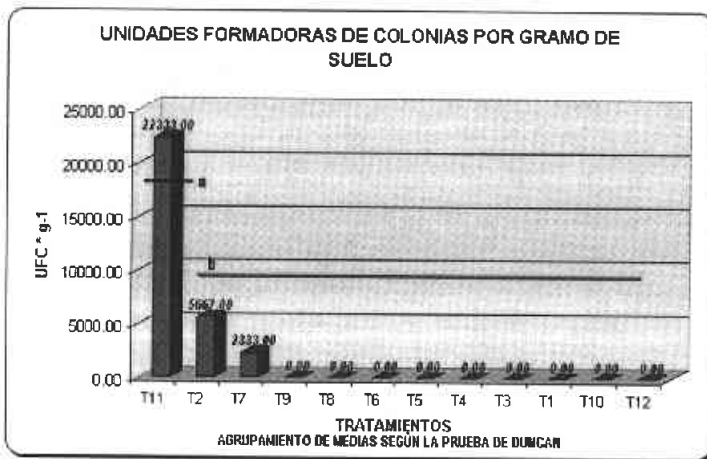


Fig 14. Unidades Formadoras de Colonias por gramo de Suelo en plantas de chile Ancho (*Capsicum annuum* L.) var. San Luis inoculadas con distintas concentraciones de clamidoporas por gramo de suelo de diferentes aislamientos de *P. chlamydosporia*.



Fig 15. Reaislamientos hechos para confirmar la identidad de *P. chlamydsporia* en tres tratamientos ensayados. a) T2, b) T7, c) T11.

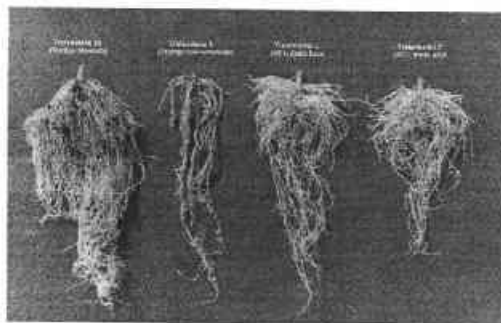


Fig 16. Aspecto de las raíces de plantas en los tratamientos T2 y T7 (Aislamiento SC1).

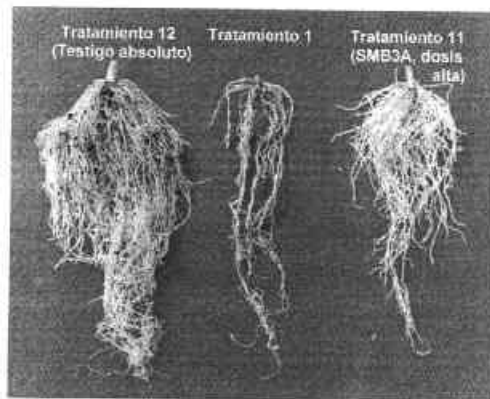


Fig 17. Aspecto de las raíces de plantas en el tratamiento T11 (Aislamiento SMB3A).

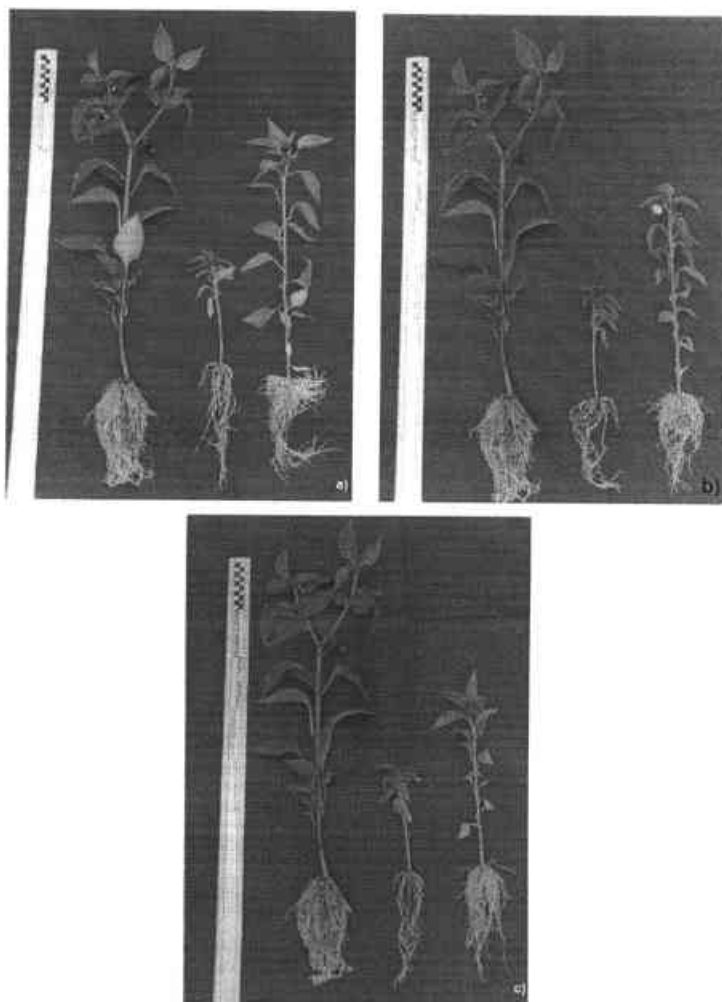
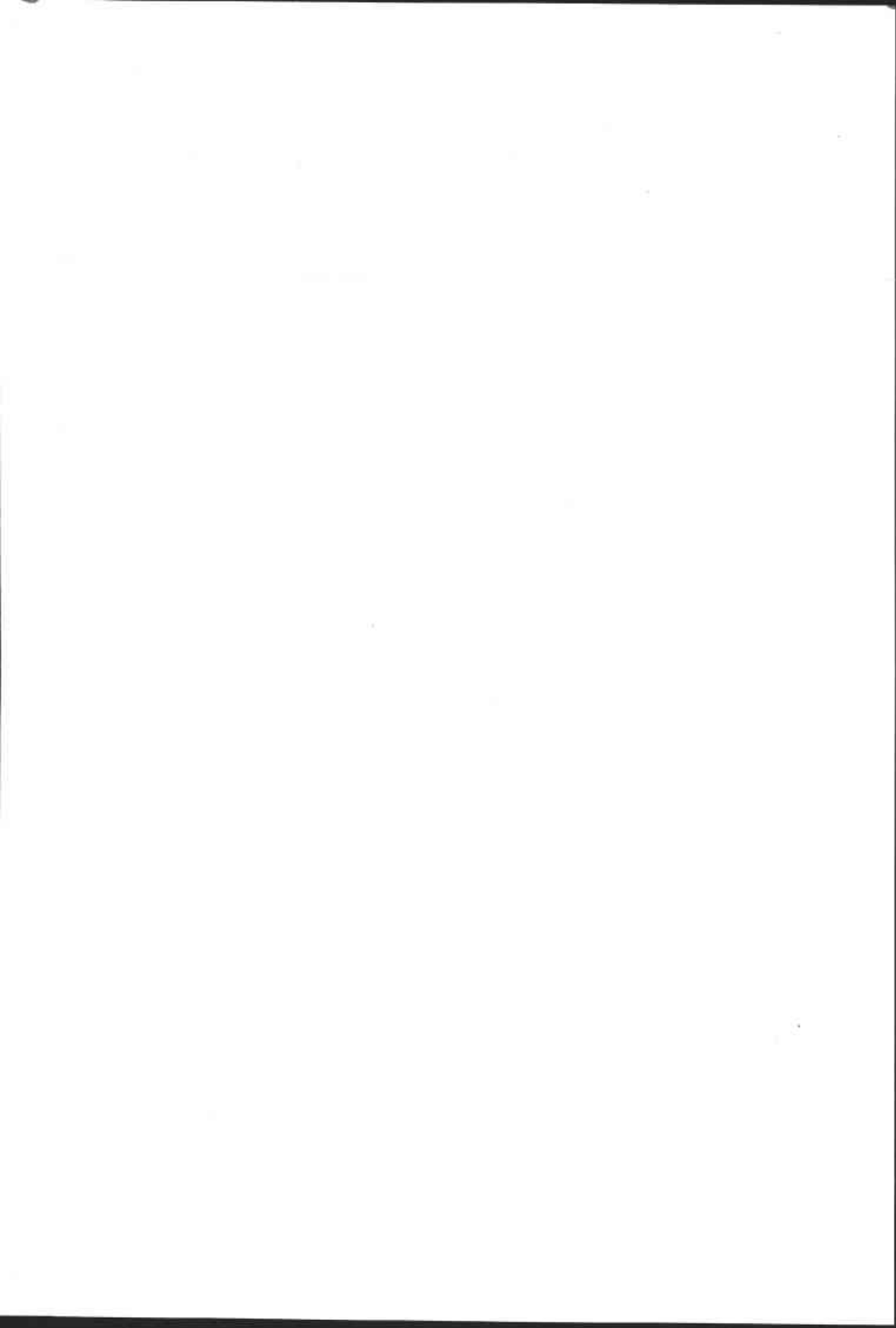


Fig. 18. Comparación entre las plantas de los testigos y los tratamientos T2, T7 y T11; de izquierda a derecha: Testigo absoluto (T12), Testigo con nematodo (T1), tratamiento respectivo.

a) T2, b) T7, c) T11



5 ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados de la prueba *In Vitro* mostraron un alto porcentaje de colonización de la raíz, superior al 80% en los 5 aislamientos analizados; este hecho concuerda con los diversos reportes de pruebas *In Vitro* mencionados en la revisión documental (el lector haría bien en remitirse al capítulo 2.2, p. 25-35 de la presente tesis). Con base en lo anterior, se decidió usar los cinco aislamientos en el bioensayo de invernadero.

Ningún aislamiento fue capaz de colonizar la rizósfera ni las raíces del cultivo utilizado, lo cual fortalece las posturas de Bourne *et. al.*, 1994; y Kerry, 1987, acerca de que el comportamiento del hongo en condiciones no estériles puede ser diferente al observado en pruebas de laboratorio, razón por la cual es imprudente tomar como definitivos los resultados de pruebas *In Vitro*, habiendo la necesidad de corroborarles en campo o invernadero.

De forma tal, en lo que a esta investigación respecta, no hay argumentos experimentales válidos para atribuir a los 5 aislamientos de *P. chlamydosporia* efectos de control sobre el nematodo o alguna influencia sobre las variables evaluadas más allá de la correspondiente al azar, *debido a que fue imposible reaislarles de las raíces del cultivo así como de las masas de huevos del nematodo*. Estos hechos sugieren que el hongo no logró colonizar efectivamente las raíces del cultivo ensayado, lo cual va en contra de las condiciones fundamentales estipuladas por Kerry (1997) para utilizar algún microorganismo de esta naturaleza como agente de control biológico de nematodos agalladores.

Verdejo *et. al.* (2003), reporta que *Pochonia chlamydosporia* mantiene bajas densidades poblacionales en suelo. Tal hecho, junto con su débil capacidad para competir con la biota del suelo y la existencia de suelos supresivos para este hongo (Kerry, 1987) *pueden ser los factores limitantes en su desarrollo* como agente comercial de control biológico de nematodos fitoparásitos, objetivo final de la línea de investigación donde el presente trabajo tiene la función de una prueba de discriminación de aislamientos en función de su comportamiento. Como consecuencia, quien pretenda continuar estos estudios deberá poner especial atención en los factores antes mencionados al momento de planear sus experimentos.

Cabe destacar aquí a los 3 tratamientos que arrojaron resultados positivos en la variable Unidades Formadoras de Colonias por gramo de Suelo, tales tratamientos corresponden al aislamiento SC1 en ambas dosificaciones empleadas en el experimento (ver Materiales y Métodos) y al aislamiento SMB3A en su dosificación alta; mismos que mostraron aspectos relevantes en las demás variables ensayadas (Figs. 16, 17 y 18) como índices de agallamiento bajos, pocos juveniles, masas de huevos y hembras maduras en sus tejidos, así como una ligera tendencia a acumular más materia seca que el resto de los tratamientos con nematodo. Aunque experimentalmente hablando esos aspectos positivos sólo pueden atribuirse a la influencia del azar, *el hecho de que pudieran reaislarse del suelo es un punto a favor de su empleo en otros experimentos* que persigan la elucidación de su capacidad de control sobre nematodos agalladores, ya que tal comportamiento sugiere

que son más competitivos contra la biota del suelo que el resto de los aislamientos usados; y *quizá puedan sobrevivir en el suelo hasta hacer contacto con la rizósfera y raíces del cultivo, colonizándoles y posibilitando una infección sobre los huevos de nematodos que se hallan en ellas.*

El aislamiento SC1 mostró, en ambas dosis, un peso seco de follaje y un índice de agallamiento bajos, además de menos juveniles al interior de sus tejidos con relación al testigo con nematodo; y respecto al trabajo de Pérez (2004), en el presente reporte hay coincidencia en que es posible que la cepa SC1 pudiera comportarse en campo como un buen agente de biocontrol para nematodos agalladores.

El tratamiento 11, correspondiente a la dosificación alta para el aislamiento SMB3A, muestra ventajas sobre los demás tratamientos con nematodo al presentar el menor índice de agallamiento, pocas masa de huevos y el mayor número de unidades formadoras de colonias en el suelo. No se olvide que en esta investigación dichos resultados sólo pueden atribuirse al azar y deben confirmarse por experimentos futuros para considerarlos como absolutamente válidos.

Por lo tanto, se sugiere que en experimentos venideros se utilicen cantidades de inóculo mayores a las empleadas en este trabajo (Mousa *et. al.*, 1995), y determinar por medio del ensayo de diferentes gradientes de dosificación la cantidad óptima de inóculo del hongo a aplicar; además, que se plantee una mayor duración de los ensayos para que el hongo aumente sus posibilidades de establecerse en la rizósfera y raíces de los cultivos que se ensayen

estando así en condiciones de comprobar su real potencial parasítico sobre *N. aberrans*, sustentando la argumentación de que el hongo parasita al nematodo influyendo favorablemente en el rendimiento del chile. Además se necesitará de conocer el comportamiento del suelo hacia el hongo (supresivo o no supresivo); la etapa de desarrollo del cultivo en que se realizará la aplicación (que está en función del ciclo de vida del nematodo), cuantificación de la población inicial y final del nematodo en el experimento y nivel de parasitismo efectivo en condiciones de suelo no estéril; y también formas de aplicación de *P. chlamidosporia* diferentes al sustrato colonizado, como el tratamiento a semillas de chile en solución de clamidosporas antes de colocarlas en el almácigo (esta idea se deriva de los preparativos de la prueba *In vitro* hecha en el presente trabajo, ver Materiales y Métodos, p. 36). Una vez establecida la verdadera capacidad de control de *P. chlamidosporia* sobre *N. aberrans* en chile ancho, procede hacer pruebas en más cultivos atacados por el nematodo (ubicándoles en diferentes ambientes), así como estudios de rentabilidad financiera (producción comercial del agente), cerrando así el ciclo de la investigación.

* * * * *

6 CONCLUSIONES

- En la prueba de Colonización de Raíces, los cinco aislamientos empleados tuvieron presencia viable en semillas de chile y un porcentaje de colonización de raíces superior al 80%
- El aislamiento SC1 en sus dosificaciones alta y baja, así como el aislamiento SMB3A en su dosificación alta, pudieron reaislarse del suelo ocupado en el bioensayo, demostrando una capacidad superior al resto de los aislamientos para competir con la biota del suelo y permanecer viables en el mismo. Esta capacidad permite diferenciarles del resto de aislamientos usados, con lo cual se cumple el objetivo general de la presente investigación.
- El aislamiento SMB3A (en su dosificación alta) presentó las mejores características en comparación con el resto de tratamientos experimentados, incluyendo al aislamiento SC1.

7 LITERATURA CITADA

1. Atkins, Simon D., Leopoldo Hidalgo-Díaz, Ian M. Clark, C. Oliver Morton, Nivian Montes de Oca, Paul A. Gray, Brian R. Kerry. 2003 (a). Approaches for monitoring the release of *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata*, a biocontrol agent of root-knot nematodes. *Mycological Research*. 107 (2): 206-212
2. Atkins, Simon D., Leopoldo Hidalgo-Díaz, Helen Kalisz, Tim H. Mauchline, Penny R. Hirsch, Brian R. Kerry. 2003 (b). Development for a new management strategy for the control of root-knot nematodes (*Meloidogyne spp.*) in organic vegetable production. *Pest Management Science*. 59: 183-189
3. Ayoub, S.M. 1980. *Plant Nematology, an Agricultural training aid*. NemaAid Publications, Estados Unidos de Norteamérica. 196 pp.
4. Barron, G.L. 1977. *The nematode-destroying Fungi*. Topics in Microbiology No. 1. Canadian Biological Publications Ltd., Canada. 140 pp.
5. Bourne, J.M., B.R. Kerry, F.A.A.M. De Leij. 1994. *WORKSHOP: Organisms and methods for Biological Control of Nematodes*. Methods for the

Study of *Verticillium chlamydosporium* in the Rhizosphere. Journal of Nematology. 26(4S): 587-591

6. Brunner-De Magar, Palmira. 1967. Jicamilla del chile causada por un nuevo nematodo y obtención de fuentes de resistencia. Tesis de Maestría en Ciencias (Fitopatología). Colegio de Postgraduados; Montecillo, Texcoco, México. 45 pp.
7. Caballero, E. L.; A. M. Espinoza. 1987. Cuatro fechas de siembra e histopatología de 3 variedades de espinaca *Spinacea oleracea* L. al ataque del nematodo falso nodulador *Nacobbus* sp. Thorne & Allen 1944. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo; Chapingo, Texcoco, México. 64 pp.
8. Caballero-Ramírez, Mario. 1970. Estudios del nematodo nodulador *Nacobbus* sp. (Thorne & Allen) causante de la jicamilla del chile. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Agricultura; Chapingo, Texcoco, México. 61 pp.
9. Castillo P. Gladis, Nahum Marbán-Mendoza. 1984. Histopatología y desarrollo de *Nacobbus aberrans* Thorne & Allen, 1944 en raíces de *Capsicum annum* y *C. Baccatum*. Agrociencia. 56: 85-93.

10. Cid del Prado-Vera, Ignacio. 1985. Ciclo de Vida de *Nacobbus aberrans* (Thorne 1935) Thorne & Allen 1944. En Marbán-Mendoza, N., I.J. Thomason (editores) Fitonematología Avanzada. Colegio de Postgraduados; Montecillo, Texcoco, México. 345 pp.
11. Cid del Prado-Vera, I., K. Evans, R. E. Manzanilla-López, J. Cristóbal-Alejo, E. Franco, C. Carrillo. 1996. Dinámica poblacional de *Nacobbus aberrans* en parcelas con cultivo de tomate, maíz y maleza. Revista Mexicana de Fitopatología. 14:175
12. Cid del Prado-Vera, I., J. Cristóbal-Alejo, K. Evans. 1997. Manejo de poblaciones de *Nacobbus aberrans* en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Nematropica. 27:103-104
13. Clark, S.A. 1967. The development and life history of the false root knot nematode, *Nacobbus serendipiticus* Nematologica. 13: 91-101
14. Costilla, M. A.; S. González-De Ojeda, T. Hesselrot-De Gómez. 1978. El falso nematodo del nudo *Nacobbus aberrans* (Thorne 1935) Thorne & Allen 1944 (Nematoda: Nacobbinae) en cultivos de papa en Tucumán. III Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. Pág. 323 - 340

15. Cristóbal-Alejo, Jairo; I. Cid del Prado-Vera, K. Evans, R.H. Manzanilla-López, E. Franco. 1996. Evaluación de algunas estrategias para el manejo de *Nacobbus aberrans* en el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Revista Mexicana de Fitopatología. 14: 175
16. Cristóbal-Alejo, J. 2001. Estudios epidemiológicos, alteraciones nutrimentales y estadios de sobrevivencia en el patosistema *Lycopersicon esculentum* - *Nacobbus aberrans*. Tesis de Doctor en Ciencias (Fitopatología). Colegio de Postgraduados; Montecillo, Texcoco, México. 90 pp.
17. Cristóbal-Alejo, J; I. Cid del Prado-Vera, N. Marbán-Mendoza, P. Sánchez-García, G. Mora-Aguilera, R. H. Manzanilla-López. 2001. Sobrevivencia de estados biológicos de *Nacobbus aberrans* en condiciones de campo. Nematropica. 31(2): 227-233
18. De Leij, F.A.A.M., Kerry, B.R. 1991. The nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* as a potential biological control agent for *Meloidogyne arenaria*. Revué Nematol. 14 (1): 157 - 164
19. Deacon, J. 1997. Modern Mycology. 3ª edición. Blackwell Science, Edimburgo. 303 pp.

20. Domsch, K.H., W. Gams. 1980. Compendium of soil fungi. Vol. I. Academic Press Ltd, Londres. 859 pp.
21. Doroteo-Mendoza, A. 2004. Evaluation of five mexican isolates of *Pochonia chlamydosporia* (Goddard), Zare, Evans & Gams for the control of *Nacobbus aberrans* (Thorne) Thorne & Allen. Memorias, ONTA XXXVI Anual Meeting. Pág. 57
22. Equihua, P.E.A. 1977. Control químico del nematodo *Nacobbus* sp. Thorne & Allen en el cultivo del chile. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Agricultura; Chapingo, Texcoco, México. 78 pp.
23. Ferrera-Cerrato, Ronald. 1989. Ecología de la Raíz. Sociedad Mexicana de Fitopatología; Montecillo, Texcoco, México. 175 pp.
24. Franklin, M.T. 1959. *Nacobbus serendipiticus* N Sp., a root – galling nematode from tomatoes in England. Nematologica. 4:286-293
25. Flores-Camacho, R. 2003. Búsqueda y aislamiento de algunos hongos nematófagos para el control de *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944 en México. Tesis de Maestría en Ciencias (Fitopatología). Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 89 pp.

26. Franco, J., R. Montalvo, R. Montecinos. 1993. Pérdidas en el cultivo de papa causadas por *Nacobbus aberrans* en Cochabamba. *Nematrópica*. 23: 117
27. Franco-Navarro, F. 2003. Incorporación de residuos de col y *Ricinus comunis* L. para el manejo de *Nacobbus aberrans* (Thorne & Allen 1944) y su impacto en la nutrición del jitomate. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México. 145 pp.
28. Gams, W. 1988. A contribution to the knowledge of nematophagous species of *Verticillium*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*. 94: 123-148
29. Gams, W., Zare, R. 2001. A revisión of *Verticillium* sect. *Prostrata*. III. Generic classification. *Nova Hedwigia*. 72: 329 – 337.
30. Gómez-Rodríguez, Olga, E. Zavaleta-Mejía, F. C. Carrillo. 1991. Efecto del cultivo e incorporación del cempazúchil (*Tagetes erecta* L.) sobre el nematodo falso nodulador *Nacobbus aberrans*. *Memorias, XVIII Congreso Nacional de Fitopatología*. Pág.. 161
31. Herrera, A. E. 1977. Problemática nematológica del cultivo de la papa en el Perú. *Nematrópica*. 7(2): 11

32. Hernández, A. J. 2001. Respuesta de genotipos de frijol a *Nacobbus aberrans*. Tesis de Maestría en Ciencias (Fitopatología). Colegio de Postgraduados; Montecillo, Texcoco, México. 76 pp.
33. Hussey, S.R. 1987. Tinción de nematodos en tejidos vegetales. En Zuckerman, B.M., W.F. Mai & M.B. Harrison. Fitonematología, Manual de Laboratorio. C. A. T. I. E.; Turrialba, Costa Rica. Págs. 231- 234
34. Inserra, R. N. 1985. The false root-knot nematode *Nacobbus aberrans*. Research Bulletin 510. Utah Agricultural Experiment Station & Utah State University, Estados Unidos de Norteamérica. 14 pp.
35. Jatala, Parviz; A. M. Golden. 1977. Taxonomic status of *Nacobbus* species attacking potatoes in South America. *Nematropica*. 7(2): 9-10
36. Jatala, P; Renato. Kaltenbach. 1979..Survival of *Nacobbus aberrans* Thorne & Allen 1944 in adverse conditions. *Nematropica*. 7(2): 11
37. Jatala, P. 1985. El nematodo falso nodulador de la raíz: *Nacobbus* Spp. En Marbán-Mendoza, N., I. J. Thomason (editores) Fitonematología Avanzada. Colegio de Postgraduados; Montecillo, Texcoco, México. 345 pp.
38. Jatala, P., J. Bridge. 1990. Nematode parasites of Root and Tuber Crops. En Luc, M., R.A. Sikora, J. Bridge (editores). Plant Parasitic

Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. C. A. B. I., Inglaterra.

Págs 137 – 180

39. Jones, M. G. K. 1981. Host cell responses to endoparasitic nematode attack: structure and function of giant cells and syncytia. *Ann. Appl. Biol.* 97: 353-372
40. Kerry, B. R. 1987. Biological Control. En Brown, R.H., B.R. Kerry (editores) *Principles and practice of Nematode Control in crops*. Academic Press, Inglaterra. Págs. 233 – 263
41. Kerry, B. R. 1997. A workshop manual for research on *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent for root-knot nematodes. Broom's Barn; Rhotamsted, Inglaterra. 90 pp.
42. Luc, M. 1987. A reappraisal of Tylenchina (Nemata). 7. The family Pratylenchidae Thorne 1949. *Revue de Nématologie*. 10: 203-208
43. Luc, M., D.J. Hunt, J.E. Machon. 1990. Morphology, Anatomy and Biology of Plant Parasitic Nematodes – a Synopsis. En Luc, M., R.A. Sikora, J. Bridge (editores) *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. C. A. B. International, Inglaterra. Págs. 1- 44

44. Manzanilla-López, Rosa Elena, M.A. Costilla, M. Doucet, J. Franco, R.N. Inserra, P.S. Lehman, I. Cid., R.M. Souza, K. Evans. 2002. The genus *Nacobbus* Thorne & Allen 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): Systematics, Distribution, Biology and Management. *Nematrópica*. 32(2): 149 - 227
45. Márquez M., Bernardino, R. Montes-Belmont. 1991. Efecto de la aplicación de nematicidas y fertilizantes en *Capsicum annuum* L. para el control del nematodo *Nacobbus aberrans* bajo condiciones de laboratorio, invernadero y campo. XVIII Congreso Nacional de Fitopatología. Pag.175.
46. Montecinos, R.; J. Franco, R. Montalvo. 1993. La fertilización inorgánica en el manejo integrado de *Nacobbus aberrans* en papa. *Nematrópica*. 23: 127.
47. Montes-Belmont, Roberto. 1973. Influencia de abonos orgánicos en la ecología de *Nacobbus serendipiticus* en tomate. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados; Montecillo, Texcoco, México. 78 pp.
48. Montes-Belmont, R. 1988. *Nematología Vegetal en México*. Sociedad Mexicana de Fitopatología, México. 158 pp.

49. Mousa, E.M., A.M. Basiony, M.E. Mahdy. 1995 Control of *Meloidogyne javanica* by *Verticillium chlamydosporium* on Tomatoes. Afro – Asian Journal of Nematology. 5(1): 113 – 115.
50. Pérez-Rodríguez, I. 2004. Eficiencia de cinco aislamientos del hongo nematófago *Pochonia chlamydosporia* Goddard para el control de *Nacobbus aberrans* Thorne & Allen 1944 en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Tesis de Licenciatura. SEP, SEIT, ITA 29; Xocoyucan, Tlaxcala. 64 pp.
51. Prasad, S. K.; J. M. Webster. 1967. Effect of temperature on the rate of development of *Nacobbus serendipiticus* in excised tomato roots. Nematologica. 13: 85-89
52. Quimí, V.H. 1981 (a). Ciclo biológico y comportamiento de *Nacobbus aberrans* (Thorne 1935) Thorne & Allen 1944. Nematropica. 11(2): 86
53. Quimí, V.H. 1981 (b). Estudio histopatológico del comportamiento de *Nacobbus aberrans* Thorne & Allen 1944. Nematropica. 11(2): 87
54. Salgado-Siclán, M., V. Zamudio-Guzmán, N. Marbán-Mendoza. 1990. Efecto de las cubiertas de polietileno transparente y oscuro sobre el rendimiento de jitomate afectado por *Meloidogyne incognita* y *Nacobbus*

- aberrans* en Tochtepec, Puebla. Memorias, XVII Congreso Nacional de Fitopatología. Pág. 108.
55. Santa Cruz-Ulibarri, Heladio. 1992. Biología de *Nacobbus aberrans* (Thorne 1935) Thorne & Allen 1944 en varios hospedantes en el estado de México. Tesis de Maestría en Ciencias (Fitopatología). Colegio de Postgraduados; Montecillo, Texcoco, México. 45 pp.
56. Siddiqui, Mohammad Rafiq. 2000. Tylenchida, Parasites of plants and Insects. C. A. B. International Publishing; Inglaterra. 833 pp.
57. Silva-Jaramillo, Jaime. 1989. Manejo de *Nacobbus aberrans* (Thorne 1935) Thorne & Allen 1944 asociado al cultivo del frijol en el Valle de Valsequillo, Puebla. Tesis de Maestría en Ciencias (Fitopatología). Colegio de Postgraduados; Montecillo, Texcoco, México. 84 pp.
58. Sosa-Moss, C., O.S. González. 1973. Comportamiento de tres variedades de chile (*Capsicum annum*) a 5 niveles de inóculo de *Nacobbus serendipiticus* (Nematoda: Nacobbidae) Nematrónica. 3: 14 -16
59. Schuster, M.I., T. Sullivan. 1960. Species differentiation on nematodes through host reaction in tissue culture. I. Comparisons of

- Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne incognita* and *Nacobbus batatiformis*.
Phytopatology. 50: 874-875
60. Taylor, A.L. 1968. Introducción a la Nematología Vegetal Aplicada. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia. 131 pp.
61. Toledo-Rivera, Juan Carlos. 1990. Caracterización patogénica de 5 poblaciones de *Nacobbus aberrans* y evaluación del daño que causan a jitomate, chile y frijol en México. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados; Montecillo, Texcoco, México. 64 pp.
62. Van Driesche, R.G. 1996. Biological Control. Chapman & Hall, Nueva York. 539 pp.
63. Verdejo-Lucas, S., F.J. Sorribas, C. Ornat, M. galeano. 2003. Evaluating *Pochonia chlamydosporia* in a double -cropping system of lettuce and tomato in plastic houses infested with *Meloidogyne javanica*. Plant Pathology. 52(4): 521.
64. Vilchis-Martínez de Tarín, K. 2004. New isolates of *Pochonia chlamydosporia* and their parasitism on the false root - knot nematode, *Nacobbus aberrans*. Memorias, ONTA XXXVI Anual Meeting. Pág. 78

65. Yáñez-Juárez, Moisés Gilberto. 1997. Manejo de la marchitez (*Phytophthora capsici* Leo.), agallamiento radical (*Nacobbus aberrans* Thorne & Allen 1944) y virosis del chile (*Capsicum annuum* L.) Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados; Montecillo, Texcoco, México. 61 pp.
66. Zamudio-Guzmán, Vicente. 1987. Evaluación de la resistencia de colecciones y variedades de Tomate a *Nacobbus aberrans* (Thorne 1935) Thorne & Allen 1944 . Tesis de maestría en Ciencias (Fitopatología). Colegio de Postgraduados,; Montecillo, Texcoco, México.88 pp.
67. Zare, R., Gams, W., Culham, A. 2000. A revisión of *Verticillium* sect. *Prostrata*. I. Phylogenetic studies using ITS sequences. *Nova Hedwigia*. 71: 465 - 480.
68. Zare, R., Gams, W., Evans, H.C. 2001. A revision of *Verticillium* section *Prostrata* V. The genus *Pochonia*, with notes on *Rotiferophthora*. *Nova Hedwigia*. 73: 51 – 86

Apéndice I MEDIOS EMPLEADOS

1.1 Medio semiselectivo (Flores-Camacho, 2003)

Material para preparar un litro:

17 g de medio Harina de Maíz - Agar.

17.5 g de NaCl grado técnico.

7.5 mg de colorante rosa de bengala.

Aforar a un litro, esterilizar y agregar:

3 ml de Tritón X - 100.

50 mg de Sulfato de Estreptomicina.

50 mg de Cloranfenicol.

50 mg de Clorotetraciclina,

37.5 mg de Tiabendazol.

37.5 mg de Carbendazim.

1.2 Medio Harina de Maíz - Agar (Flores-Camacho, 2003)

Material para preparar un litro:

17 g de medio Harina de Maíz - Agar.

Aforar a un litro, esterilizar y agregar:

50 mg de Sulfato de Estreptomicina.

50 mg de Cloranfenicol.

50 mg de Clorotetraciclina.

1.3 Medio Agua - Agar + Antibióticos (Flores-Camacho, 2003)

Material para preparar un litro:

8 g de Agar grado técnico.

Aforar a un litro, esterilizar y agregar:

50 mg de Sulfato de Estreptomicina.

50 mg de Cloranfenicol.

50 mg de Clorotetraciclina.

1.4 Medio Czapek Dox Broth + sales (Kerry, 1997)

Material para preparar un litro:

33.4 g de medio Czapek Dox en polvo.

0.6 g de EDTA.

0.25 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

0.05 g de CaCl_2 .

0.2 g de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

0.005 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

0.25 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

0.25 g de $\text{NaSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

0.25 g de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Aforar a un litro y esterilizar.

Apéndice II Técnicas usadas

2.1 Aislamiento de Hongos (Bourne *et. al.*, 1994)

Del suelo:

Mezclar el suelo empleado en las cuatro macetas de cada tratamiento, homogeneizar y obtener una muestra aleatoria de 1 g. Agregar la muestra a un tubo de vidrio con rosca y tapa que contenga 9 ml de medio agua -agar al 0.5%; agitar vigorosamente durante 15 segundos.

Tomar un mililitro de la solución y vaciarlo en otro tubo de vidrio conteniendo 9 ml de medio agua - agar, con lo que se obtendrá una dilución de 10^{-2} . Repetir el procedimiento para obtener diluciones de 10^{-3} .

Tomar alicuotas de 0.2 ml de la solución 10^{-3} , vaciar en cajas de Petri con medio semiselectivo (Apéndice I, inciso 1.1); homogeneizar con varilla de vidrio y dejar incubar durante 10 días a 25° C; pasado este tiempo realizar conteos de unidades formadoras de colonias.

De las raíces de la planta:

Cortar las raíces del tratamiento correspondiente en trozos de aproximadamente 10 mm, homogeneizar y tomar una muestra de 1 g.

En un mortero estéril, seco y limpio se triturará la muestra de raíces, empleando 9 ml de medio agua - agar al 0.5%; posteriormente se tomará 1 ml de este macerado y se vierte en un tubo de vidrio con rosca y tapa para obtener una dilución de 10^{-1} . Repetir el procedimiento para obtener diluciones de 10^{-2} y 10^{-3} .

Se tomarán alicuotas de 0.2 ml de cada solución para vaciarles en cajas de Petri con medio semiselectivo (Apéndice I, inciso 1.1); esparciéndole uniformemente sobre la superficie del medio usando una varilla de vidrio. Incubar durante 10 días a 25° C, pasado este tiempo realizar conteos de unidades formadoras de colonias.

2.2 Licuado de raíces (Franco-Navarro, 2003)

Se toma una muestra de 1 g de raíces de cada tratamiento; se licua y se filtra a través de los tamices de 100 y 200 mallas, colocando el tamizado en un vaso de precipitados de 50 ml. Aforar hasta un volumen uniforme (35 ml en la presente investigación), tomar una alicuota de 5 ml y colocarla en una cámara de contar nematodos. Realizar el conteo al microscopio y extrapolar la cantidad calculada para

5 ml al volumen contenido en el vaso de precipitados (en este caso, multiplicando por 7).

2.3 Tinción de raíces (Hussey, 1987, modificado)

Se cortan las raíces correspondientes a cada tratamiento, se lavan y se fragmentan en pedazos de 10 - 20 mm de longitud. Se toma una muestra aleatoria de 1 gramo, la cual se coloca en un vaso de precipitados de 100 ml. Aforar con agua de la llave hasta 50 ml, agregar 1 ml de solución de fucsina colorante (3.5 ml de fucsina ácida, 250 ml de ácido acético, y 750 ml de agua destilada estéril); calentar en horno de microondas hasta el punto de ebullición y dejar enfriar a temperatura ambiente. Transferir las raíces al tamiz de 200 mallas y enjuagar con agua hasta retirar los residuos del colorante. Una vez enjuagadas se colocarán las raíces en el vaso de precipitados y se agregará glicerina en cantidad suficiente para cubrirlas. Se almacenarán a temperatura ambiente hasta el momento de observarles al microscopio.

2.4 Parasitismo en masas de huevos (Franco-Navarro, comunicación personal 2004)

En cada tratamiento, 30 masas de huevos extraídas de los tejidos afectados fueron desinfectadas con una solución de HgCl (0.001%) agregando esta sustancia a una siracusa que contenía dichas masas, insuflando cuidadosamente por medio de una pipeta Pasteur con tapón de goma y enjuagando con agua destilada estéril, proceso que se repitió tres veces; después fueron sembradas y dejadas incubar durante 10 días a 25° C, pasado ese tiempo se contó el número de colonias de *Pochonia chlamydosporia* emergiendo de las masas de huevos.

2.5 Viabilidad del inóculo usado en el bioensayo.

Tomando un gramo de arroz colonizado por cada aislamiento de *P. chlamydosporia* se hicieron diluciones de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} ; se tomaron alícuotas de 0.2 ml de la dilución 10^{-2} y se vertieron en cajas de Petri con medio Agua-Agar, dejando incubar durante 10 días a 25° C, pasado este tiempo se contó el número de clamidosporas germinadas y se calculó un porcentaje de germinación para cada aislamiento.

2.6 Cantidad de inóculo a aplicar por tratamiento en el bioensayo.

Tomando un gramo de arroz colonizado con cada cepa se hicieron diluciones de 10^{-1} y 10^{-2} , se tomó una gota de la última dilución y se colocó en un hematocitómetro para contar al microscopio el número de clamidosporas presentes en la gota. Se calculó con este dato la concentración de clamidosporas presentes en un gramo del respectivo producto y se procedió a determinar el monto de producto necesario para alcanzar la concentración a emplear en cada tratamiento.

Dosis a emplear = (Concentración necesaria para el tratamiento)*(1600 g de suelo)/Concentración en un gramo de arroz

2.7 Índice de agallamiento.

Se compararon las raíces de cada planta, en cada repetición, con la tabla de índice de agallamiento de Bridge y Page (Luc *et. al.*, 1990), asignando un valor a cada planta de la repetición y promediando éstos para obtener un valor medio por tratamiento, como se detalla en las siguientes figuras

VALORES PARA LA CARTA DE ÍNDICE DE AGALLAMIENTO

0. Sin agallas en las raíces.



0

1. Agallas pequeñas, escasas, difíciles de encontrar.



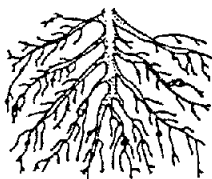
1

2. Solamente agallas pequeñas pero claramente visibles. Las raíces principales limpias.



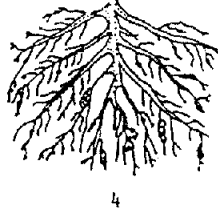
2

3. Algunas agallas grandes, visibles. Las raíces principales limpias.



3

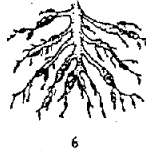
4. Predominan las agallas más grandes pero las raíces principales permanecen limpias.



5. 50% de las raíces infestadas. Agallamientos en partes de las raíces principales. Sistema radical reducido.



6. Agallamiento en las raíces principales.



7. La mayoría de las raíces principales agalladas.



8. Todas las raíces principales agalladas. Pocas raíces limpias visibles.



9. Todas las raíces severamente agalladas. La planta generalmente se está muriendo.



10. Todas las raíces severamente agalladas. Sistema radical destruido. Generalmente la planta está muerta.



2.8 Peso seco de follaje.

El follaje se separó de la raíz, se colocó en bolsas de cartón y se secó en estufa a 40 grados durante 72 horas, transcurridas las cuales se pesaron las plantas y se registró el valor obtenido para calcular un promedio por tratamiento.

2.9 Peso fresco de raíz.

Se pesó la raíz de cada planta al momento de separarla del follaje; se registró el dato y se calculó un promedio por tratamiento.

Apéndice III
Datos originales de las Gráficas de Resultados en las Pruebas de Invernadero.

Tabla 1. Variables de la planta

Tratamiento	Índice de Agallamiento (Media)	Peso Fresco de Raíz (g)	Peso Seco de Follaje (g)
T1 (Testigo con nematodo)	5.68	3.11	0.50
T2 (SC1 dosificación baja)	5.62	3.86	0.89
T3 (SM4 dosificación baja)	5.00	3.88	0.68
T4 (MHCH dosificación baja)	4.81	3.42	0.59
T5 (SMB3 dosificación baja)	4.75	2.34	0.32
T6 (SMB3A dosificación baja)	5.12	3.35	0.67
T7 (SC1 dosificación alta)	4.50	3.11	0.62
T8 (SM4 dosificación alta)	5.31	2.27	0.34
T9 (MHCH dosificación alta)	5.06	2.13	0.31
T10 (SMB3 dosificación alta)	5.81	3.80	0.58
T11 (SMB3A dosificación alta)	4.50	3.04	0.51
T12 (Testigo absoluto)	0.00	28.73	9.01

Tabla 2. Resultados para las variables del nematodo

Tratamiento	Masas de huevos por gramo de raiz	Estadios juveniles (J3 y J4) por gramo de raiz	Hembras maduras por gramo de raiz
T1	7.00	70.00	14.33
T2	11.66	25.67	17.33
T3	6.66	30.33	19.33
T4	6.00	56.00	14.00
T5	3.66	14.00	13.66
T6	3.49	16.33	17.66
T7	7.66	42.00	17.66
T8	2.66	9.33	13.66
T9	3.66	16.33	15.00
T10	7.00	42.00	34.00
T11	3.00	21.00	16.33
T12	0.00	0.00	0.00

Tabla 3. Resultados para las variables del hongo e interacción hongo - nematodo

Tratamiento	Masas de huevos parasitadas	UFC por gramo de raiz	UFC por gramo de suelo
T1	0	0	0
T2	0	0	5667
T3	0	0	0
T4	0	0	0
T5	0	0	0
T6	0	0	0
T7	0	0	2333
T8	0	0	0
T9	0	0	0
T10	0	0	0
T11	0	0	22333
T12	0	0	0