

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Estudio del Parasitismo de *Metarhizium anizopliae* (Metschnikoff) Sorokin en el Quiste del Nemátodo Dorado de la Papa *Globodera rostochiensis* (Behrens, 1975), Bajo Condiciones de Laboratorio

Por:

GERARDO FRANCO MARÍN

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Estudio del Parasitismo de *Metarhizium anizopliae* (Metschnikoff) Sorokin en el
Quiste del Nemátodo Dorado de la Papa *Globodera rostochiensis* (Behrens,
1975), Bajo Condiciones de Laboratorio

Por:

GERARDO FRANCO MARÍN

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada

Dr. Melchor Cepeda Siller
Asesor Principal

M.C Epifanio Castro del Ángel
Coasesor

Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda
Coasesor

Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación
de la División de Agronomía
Saltillo, Coahuila, México.
Diciembre 2014

AGRADECIMIENTOS

A mi hermosa **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO** la cual llevare en el corazón para siempre, que me dio todo y abrió sus puertas del conocimiento. A mi maravillosa **ALMA TERRA MATER**, nido de muchos que como yo eligieron esta extraordinaria escuela y que con mucho orgullo, amor, pasión y respeto representaré.

Al Dr. Melchor Cepeda Siller; Por brindarme su apoyo incondicional para ser un alumno de bien, por su atención brindada y por confiar en mi para realizar este trabajo.

A la Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda Por su valiosa aportación, paciencia y atención para que yo pudiese realizar esta tesis.

Al M.C. Epifanio Castro del Ángel Por su ayuda y colaboración para la culminación de este trabajo tan importante para mí.

DEDICATORIA

A Dios

Le agradezco a Dios Padre, por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

A mi Madre

Porque siempre me has dado fuerza y un apoyo incondicional inigualable en el momento que lo necesite para mirar siempre hacia adelante y por eso hoy quiero dedicar este logro A ti madre que a lo largo de mi vida has velado por mi bienestar y educación siendo mí apoyo en todo momento. Depositando tú entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad. Es por ti y gracias a ti que soy lo que soy hoy en día, tu tenacidad y lucha insaciable han hecho de ti el gran ejemplo a seguir y destacar, no solo para mí, sino para nuestra familia en general.

Porque sé que Hoy termina una etapa y empieza otra en mi vida. Y sé que me has preparado para un mundo de competitividad. Quiero que sepas que eres mi mayor fuente de inspiración. Siempre deseare dibujar esa sonrisa y ver ese tan maravilloso de felicidad en tu rostro. Gracias mami siempre te llevo en mi corazón.

¡GRACIAS MAMA DOMY!

A mi Padre

Papá, gracias por tu apoyo, por la orientación que me has dado, por iluminar mi camino y darme la pauta para poder realizarme en mis estudios y mi vida. Agradezco los consejos sabios que en el momento exacto has sabido darme para no dejarme caer y enfrentar los momentos difíciles, por ayudarme a tomar decisiones que me ayuden a balancear mi vida y sobre todo gracias por el cariño tan grande que me das.

¡GRACIAS PAPÀ!

A Mis Hermanas

Marisol

Mireya

Mónica

Nuestras vidas año con año van a ir tomando rumbos diferentes, cada uno de nosotros buscara su propio bienestar, pero quiero que sepan que cuentan conmigo siempre, mi apoyo será incondicional, nuestros lazos de hermandad deben de ser siempre y en todo momento sinceros, sin que nada ni nadie interfiera en ellos.

Por otra parte les agradezco profundamente ese cariño que siempre han tenido hacia mí sin importar nada a cambio, y que si estoy aquí es por ustedes para que el día de mañana no les falte nada.

A Selene P. B.

Por su gran apoyo y cariño en los momentos más difíciles de mi carrera, por esas alegrías, lagrimas, tristezas y anhelos, Gracias.

A los Profesores del Departamento de Parasitología

Doy las más sinceras gracias a mis maestros por su apoyo y comprensión durante mi estancia.

A mis Amigos y Compañeros

Por su valiosa amistad y compañerismo compartido durante nuestra etapa de universitarios.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Pág.

AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIAS	II
ÍNDICE DE CONTENIDO	IV
ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS	VII
RESUMEN	VIII
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	2
HIPÓTESIS	2
REVISIÓN DE LITERATURA	3
El Cultivo de la Papa.....	3
Origen del Cultivo.....	3
Morfología.....	3
Clasificación Taxonómica.....	4
Hongos Entomopatógenos.....	5
Diversidad de Hongos Entomopatógenos.....	5
Mecanismo de Acción de los Hongos Entomopatógenos.....	5
<i>Metarhizium anisopliae</i> (Metschnikoff) Sorokin.....	7
Generalidades de <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metschnikoff) Sorokin.....	7
Ubicación Taxonómica.....	8
Ciclo de vida.....	8
Nematodos Fitopatógenos.....	9
Generalidades de Nematodos.....	10

Daños Causados por los Nematodos	10
Nematodo Dorado de la Papa <i>Globodera rostochiensis</i> (Behrens, 1975).....	11
Origen.....	12
Ubicación Taxonómica.....	12
Descripción Morfológica.....	13
Ciclo Biológico.....	13
Epidemiología.....	13
Sintomatología que se Presenta en la Planta.....	14
Mecanismo de dispersión.....	14
Hospederos.....	14
Superficie Sembrada en México.....	15
Impacto Económico de la Plaga.....	15
Distribución Nacional.....	15
Distribución Nacional de Hospederos.....	15
Estatus Cuarentenario de la Plaga en México.....	16
Prevalencia y Distribución Mundial de <i>Globodera rostochiensis</i> (Behrens, 1975).....	16
Control Biológico.....	16
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
Localización del Área de Estudio.....	18
Material Utilizado.....	18
Cultivo del Hongo.....	18
Preparación de Quistes de <i>G. rostochiensis</i> (Behrens, 1975).....	19
Conteo de Esporas.....	19
Procedimiento de Conteo de Esporas.....	20

Diseño Experimental.....	21
RESULTADOS.....	22
DISCUCIÒN.....	25
CONCLUSIONES.....	25
ANEXOS.....	26
BIBLIOGRAFÍA.....	28

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Tabla 1. El porcentaje de parasitismo se determinó mediante la fórmula: % de parasitismo= [(Total de Quistes parasitados por Cotesia/Total de Quistes recuperados) X100].....	22
Figura 1. Mecanismo de Infección de Hongos Entomopatógenos (Tanada y Kaya 1993).....	6
Figura 2. Región anterior de juvenil J2 del Nematodo Dorado de la Papa (<i>G. rostochiensis</i>) Créditos: a Ramírez – Suarez. CNRF-DGSV. SAGARPA.....	12
Figura 3. Cultivo de Papa, mostrando manchones, producto se la infección del Nematodo Dorado de la Papa (<i>G. rostochiensis</i>). Créditos: Agriculture and Food Science in Northern Ireland.....	14
Figura 4. Prevalencia y distribución mundial de <i>Globodera rostochiensis</i> Créditos: Modificado de CABI, 2007.....	16
Figura 5. Retículo de la cámara de Neubauer y cuadrados utilizados para el conteo de conidias.....	20
Figura 6. Conteo de conidias en uno de los cuadrantes centrales de la cámara de Neubauer.....	20
Figura 7. Se observa que en la R1 y R2 hubo menor grado de parasitismo a diferencia de las otras repeticiones en Quistes de <i>G. rostochiensis</i>	22
Figura 8. Se observa que en la R3 hubo menor grado de parasitismo a diferencia de las otras repeticiones en Quistes de <i>G. rostochiensis</i>	23
Figura 9. Se observa que en la R1 hubo menor grado de parasitismo a diferencia de las otras repeticiones en Quistes de <i>G. rostochiensis</i>	23
Figura 10. Se observa que el grado de parasitismo alcanzo el 100 % en Quistes de <i>G. rostochiensis</i>	24
Figura 11, Se Muestran los Datos obtenidos del Porcentaje de Parasitismo en Quistes de <i>G. rostochiensis</i> Abiertos.....	24

RESUMEN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es una planta nativa de los Andes y es considerada uno de los cultivos más importantes en Sudamérica. Sus tubérculos son ampliamente incorporados en la dieta de los habitantes del continente y es uno de los cultivos que genera mayor cantidad de empleo en el sector rural, sin embargo existen plagas y enfermedades que limitan la producción en el cultivo como es el caso del Nemátodo Dorado de la Papa (NDP) (*Globodera rostochiensis*) que constituye a nivel mundial uno de los problemas fitosanitarios más serios en el cultivo. Su capacidad de enquistamiento lo provee con un sistema de defensa que incrementa las dificultades para su control. El NDP representa una amenaza en la movilización de tubérculo – semilla, lo que ha dado origen a la aplicación de medidas cuarentenarias en el interior y fuera del país, para evitar su dispersión. La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Fitopatología, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo Coahuila, la cual consistió en evaluar el efecto de parasitismo que tiene el hongo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin sobre el quiste del Nemátodo Dorado de la Papa *Globodera rostochiensis* (Behrens, 1975). evaluando a diferentes concentraciones de Hongo (1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 y 1×10^9) en quiste cerrado y en quiste abierto para determinar y obtener el porcentaje de parasitismo que tiene sobre el quiste.

Palabras Clave: Cultivo de la Papa, *Solanum tuberosum*, Nematodo Dorado de la Papa, *Globodera rostochiensis*, Quiste, *Metarhizium anisopliae*, Hongos Entomopatógenos.

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es la hortaliza de mayor importancia a nivel mundial y nacional (FAO, 1996). Como alimento ocupa el cuarto lugar en consumo después del trigo (*Triticum estivum* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), y maíz (*Zea mays* L.) (Brack, 2004; INEGI, 2001; Mc Laughlin, 2005).

Se reporta que *Solanum tuberosum* se domesticó en Sudamérica, específicamente en Bolivia, entre los lagos Titicaca y Poopó hace unos 10,000 a 7,000 años, aunque los primeros vestigios se encontraron en el cañón de Chilca, al sur de Lima en Perú que datan de una antigüedad de hace 10,500 años. Y aunque existe controversia y opiniones muy diversas en cuanto al origen de la papa, sin duda se estima que el altiplano peruano-boliviano es el centro de origen de este importante cultivo (Luján, 1996; Andrade *et al.*, 2002, p.21; Cortez & Hurtado, 2002, p.9; Del Cid, ND).

La papa *Solanum tuberosum* es el más importante hospedero del Nemátodo dorado, aunque el tomate *Lycopersicon esculentum* y la berengena *Solanum melonogena* pueden ser afectados (Evans *et al.*, 1993, CABI 2000). Otros hospederos en los cuales se puede encontrar el Nemátodo incluyen *Solanum sarachoides*, *S. dulcamara*, *S. rostratum*, *S. triflorum*, *S. elaeagnifolium*, *S. xantii*, *S. integrifolium*, algunas especies del género *Lycopersicon* y *Datura stramonium* (Evans *et al.*, 1993; Spears, 1968; Stone, 1973). En estudios realizados sobre el rango de hospederos se han determinado alrededor de 90 especies de *Solanum* como potenciales hospederos del nemátodo dorado. (Spears, 1968, Smith *et al.*, 1997).

En la República Mexicana la papa se cultiva en 24 estados, dada la diversidad de condiciones climáticas, México cuenta con una superficie sembrada de 69 118.38 ha de las cuales se cosechan 67 383.87 ha con una producción de 1 807 851.81 ton. Cuyo valor de producción es de aproximadamente 10 727 558 miles de pesos (SIAP, 2013). Los principales estados del país con mayor producción de papa para consumo son: Sinaloa, Sonora, Chihuahua, Puebla y el Estado de México, cuyo valor de producción es de aproximadamente 10 679 026 miles de pesos (SIAP, 2013).

El nematodo dorado de la papa *Globodera rostochiensis* forma parte del complejo de nematodos formadores de quistes en papa junto con el nematodo del quiste blanco *G. pallida*. Es un endoparásito sedentario que ocasiona problemas a nivel mundial en solanáceas, destacando en relevancia el cultivo de la papa *Solanum tuberosum* L. (Núñez *et al.*, 2003).

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar alternativas de control biológico con el hongo *Metarhizium anisopliae* contra el Nematodo Dorado de la papa *Globodera rostochiensis*, bajo las condiciones de laboratorio.

Objetivo específico

Evaluar el efecto de *Metarhizium anisopliae* en medios de cultivo sólidos para el control del Nematodo Dorado de la papa *Globodera rostochiensis*.

Hipótesis

Metarhizium anisopliae causará un control sobre el nematodo dorado de la papa, en uno de los medios utilizados.

REVISIÓN DE LITERATURA

El Cultivo de la Papa

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.), constituye uno de los alimentos más útiles al hombre, siendo que es excedida solamente por el trigo, arroz y maíz en la producción del mundo (Ross, 1986).

En México el cultivo de la papa es considerado como uno de los más importantes, debido a que dentro de las hortalizas ocupa el segundo lugar, solo superado por el jitomate (García *et al.*, 1990).

Origen del Cultivo

La papa (*Solanum tuberosum* L.), es una planta originaria de América, por lo que es posible encontrarla a través de gran parte del territorio donde la mayoría de los campesinos han tenido algún contacto con ella. Aunque la historia de la papa puede trazarse en el centro de origen del lago Titicaca (Bolivia – Perú) y en el norte del Perú diez siglos atrás. La adaptabilidad de la papa a diversas condiciones de temperatura, fotoperiodismo, suelos entre otros y de producir desde los 80 o 90 días en adelante, han hecho que se haya estudiado, en especial fuera de América y que hoy aparezca junto al trigo y maíz con muchos antecedentes bibliográficos (Montaldo, 1984).

La papa ha conquistado los lugares más remotos del planeta y si bien es cierto que no en todas partes del mundo se le somete a intensa explotación y cultivo, por lo menos ya es aceptada en Asia, África, Oceanía y otros lugares (Centro de Estudios Agropecuarios, 2002).

Morfología

La papa es una planta suculenta, herbácea y anual por su parte aérea y perenne por sus tubérculos (tallos subterráneos) que se desarrollan al final de los estolones que nacen del tallo principal, y a veces de varios tallos, según el número de yemas que hayan brotado del tubérculo.

Los Tallos son de sección angular y en las axilas de las hojas con los tallos se forman ramificaciones secundarias.

Las Hojas son alternas las primeras hojas tienen aspecto simple vienen después de las hojas compuestas imparipinadas con tres pares de hojuelas laterales y una hojuela terminal entre las hojuelas laterales hay hojuelas en segundo orden.

Las Flores son hermafroditas, tetracíclicas, pentámeras; el cáliz es gemocépalo lobulado; la corola de color blanco a púrpura con cinco estambres anteras de color amarillo más fuerte o anaranjado que por supuesto producen polen.

Las Raíces se desarrollan principalmente en el verticilo en los nudos del tallo principal su crecimiento es primero vertical dentro de la capa de suelo arable, luego horizontal de 25 a 50 cm, la planta de papa posee un sistema radicular fibroso y muy ramificado (Montaldo, 1984).

Clasificación Taxonómica

Báez (1993) y Mier (1986), ubican al cultivo de la papa dentro de los siguientes niveles taxonómicos:

Reino.....	Plantae
Subreino.....	Embryophyta
División.....	Spermatophyta
Tipo.....	Angiospermae
Clase.....	Dicotyledonea
Subclase.....	Gamopetala
Orden.....	Tubiflora
Familia.....	Solanaceae
Tribu.....	Solaneae
Género.....	<i>Solanum</i>
Especie.....	<i>tuberosum</i>

Hongos Entomopatógenos

El término entomopatógeno se ha definido por varios autores de distintas maneras, algunos lo definen como a aquellos microorganismos (bacterias, hongos, nematodos y virus) que son capaces de atacar insectos (Devotto *et al.*, 2000), o como los que reducen las poblaciones de insectos plaga en niveles que no causan daño económico a los cultivos (Tanzini *et al.*, 2001), o bien los que son un medio de control en la reducción de poblaciones de insectos vectores de enfermedades (Scholte *et al.*, 2004) también los han definidos como parásitos obligados o facultativos de insectos con una alta capacidad de esporulación, sobrevivencia y sus mayores ventajas están en la manipulación, adaptación a diferentes ambientes especificidad y capacidad de penetración directa a través del tegumento (Allendes 2007)

Diversidad de Hongos Entomopatógenos

Se conocen aproximadamente 100 géneros y 700 especies de hongos entomopatógenos. Entre los más importantes están: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Eryniopsis*, *Akanthomyces*, *Fusarium*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Paecilomyces* y *Verticillium*, (Monzón 2001; Asaff *et al.*, 2002; Puchetea, 2006). A nivel mundial, las dos especies más frecuentes y estudiadas de hongos entomopatógenos son *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, debido a su eficiencia y facilidad de multiplicación, (Allendes, 2007; Rodriguez *et al.*, 2006), por lo cual estos pueden servir de agentes entomopatógenos, contra organismos patógenos causantes de enfermedades o de organismos que sirven como vectores de otros microorganismos, que causan daños a plantaciones, animales y al propio ser humano (Sholte *et al.*, 2004).

Mecanismo de Acción de los Hongos Entomopatógenos

En general las fases que desarrollan los hongos sobre sus hospedantes son: germinación, formación de apresorios, formación de estructuras de penetración, colonización y reproducción. El inóculo o unidad infectiva está constituida por las estructuras de reproducción sexual y asexual, es decir las esporas o conidias.

El proceso se inicia cuando la espora o conidia se adhiere a la cutícula del insecto; luego se produce un tubo germinativo y un apresorio, este se fija en la cutícula y con el tubo germinativo o haustorio (hifa de penetración) se da la penetración al interior del cuerpo del insecto en la que participa un mecanismo físico y uno químico, el primero consiste en la presión ejercida por la hifa, la cual rompe las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula.

El mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente proteasas, lipasas y quitinazas, las cuales causan descomposición del tejido en la zona de penetración. Después de la penetración la hifa se ensancha y ramifica dentro del tejido del insecto colonizando completamente y a partir de la cual se forman pequeñas colonias y estructuras del hongo, lo que corresponde a la fase final de la enfermedad del insecto, (Monzón, 2001)

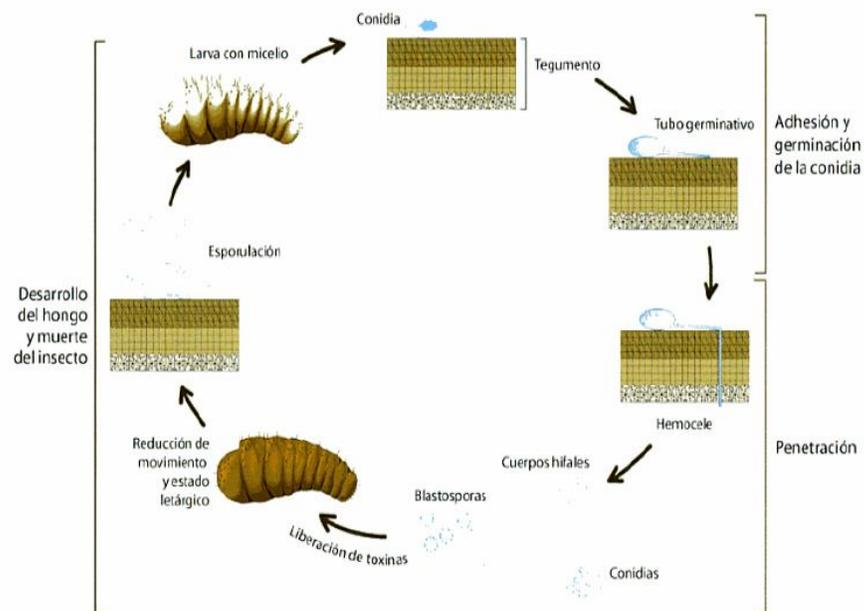


Figura 1. Mecanismo de Infección de Hongos Entomopatógenos (Tanada y Kaya 1993)

Metarhizium anisopliae

A nivel mundial, las dos especies más frecuentes y estudiadas de hongos entomopatógenos son *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, debido a su eficiencia y facilidad de multiplicación, (Allendes, 2007; Rodriguez *et al.*, 2006), por lo cual estos pueden servir de agentes entomopatógenos contra organismos patógenos causantes de enfermedades o de organismos que sirven como vectores de otros microorganismos que causan daño a plantaciones, animales y al propio ser humano (Sholte *et al.*, 2004).

El hongo invade activamente al hospedero a través de la cutícula por presión mecánica, debido a apressorium formación y degradación por la acción sinérgica de las enzimas hidrolíticas tales como proteasas, lipasas y quitinasas (St. Leger *et al.*, 1986, Pinto *et al.*, 1997 y Bittencourt *et al.*, 1999).

M. anisopliae es un hongo imperfecto que es caracterizado por la formación de micelio septado con producción de conidias de aproximadamente 0.5 a 0.8 micras de diámetro o formas de reproducción asexual, en conidióforos que nacen a partir de hifas ramificadas, *M. anisopliae* comprende dos fases: una patogénica y otra saprofítica. La fase de patogénesis ocurre cuando el hongo entra en contacto con el tejido vivo del huésped y la saprofítica cuando el hongo completa su ciclo aprovechando los nutrientes del cadáver del insecto. El *M. anisopliae* es parásito facultativo, el cual posee conidias que constituyen la unidad infectiva del hongo. Las técnicas de biología molecular han logrado una separación más allá de las clásicas variedades de *Metarhizium anisopliae* var. *Anisopliae* y *Metarhizium anisopliae* var. *Major*. Es el agente causal de las muscardinas verdes (Alves *et al.*, 1989).

Generalidades de *Metarhizium anisopliae*

M. anisopliae ataca naturalmente más de 300 especies de insectos de diversos órdenes. Entre las plagas afectadas por este hongo se encuentran algunos lepidópteros y chinches plagas de diversos cultivos. Los insectos muertos por este hongo son cubiertos completamente por micelio, el cual inicialmente es de color blanco pero se torna verde cuando el hongo esporula (Sandino 2003). Debido a las características de la especie y/o de la cepa, ámbito de hospedantes, patogenicidad, virulencia, y condiciones ambientales, existen cepas específicas utilizadas para el control de diferentes plagas. Es importante destacar que se ha descrito que cada

aislado específico de *Metarhizium* tiene un rango de hospederos corto. Además, fue el primer hongo producido en masa en todo el mundo y utilizado en el control de plagas de insectos desde hace más de 100 años. Recientemente, la investigación científica enfocada a estudiar a este entomopatògeno, así como su empleo comercial se ha incrementado, debido en parte a la importancia que ha cobrado mundialmente en la preservación del ambiente y de los ecosistemas (Roberts y Leger 2004).

Clasificación Taxonómica

Reino.....Fungi
División.....Mycota
Subdivisión.....Eumycota
Clase.....Deuteromycetes
Subclase.....Hyphomycetes
Orden.....Hypocreales
Familia.....Clavicipitaceae
Genero.....*Metarhizium*
Especie.....*anisopliae*

(Roberts y Leger 2004).

Ciclo de Vida de *Metarhizium anisopliae*

En general los hongos entomopatògenos desarrollan las siguientes fases sobre su hospedante: germinación, formación de apresorios, formación de estructuras de penetración, colonización y reproducción.

El proceso se inicia cuando la espore o conidia se adhiere a la cutícula del insecto, luego desarrolla un tubo germinativo y un apresorio, con éste se fija en la cutícula y con el tubo germinativo o haustorio (hifa de penetración) se da la penetración al interior del cuerpo del insecto. La germinación ocurre aproximadamente a las 12 horas post-inoculación y la formación de apresorios se presenta de 12 a 18 horas post-inoculación (Vicentini y Magalhaes, 1996). En la

penetración participa un mecanismo físico y uno químico, el primero consiste en la presión ejercida por la estructura de penetración, la cual rompe las áreas esclerosadas y membranosas de la cutícula. El mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales causan descomposición del tejido en la zona de penetración, lo que facilita el ingreso del hongo. Después de la penetración, la hifa se ensancha y ramifica dentro del tejido del insecto, colonizando completamente la cavidad del cuerpo del insecto, esto sucede en 3 ó 4 días después de la inoculación. A partir de la colonización se forman pequeñas colonias y estructuras del hongo, lo que corresponde a la fase final de la enfermedad del insecto, ocurre 4 ó 5 días después de la inoculación (Hajek y Leger, 1994). Otra forma mediante la cual el hongo puede causar la muerte del insecto, es mediante la producción de toxinas. Los hongos entomopatógenos tienen la capacidad de sintetizar toxinas que son utilizadas en el ciclo de la relación patógeno-hospedante. Entre estas toxinas se han encontrado dextruxinas, demetildextruxina y protodextruxina, las cuales son sustancias de baja toxicidad, pero de mucha actividad tóxica sobre insectos, ácaros y nematodos (Sandino, 2003). Las destruxinas afectan varios organelos tales como mitocondria, retículo endoplásmico y membrana nuclear, paralizando las células y causando disfunción del intestino, túbulos de Malpighi, hemocitos y tejido muscular. La esporulación ocurre en 2 a 3 días, dependiendo de las condiciones de temperatura y humedad relativa del ambiente.

La infección por el entomopatógeno puede ser afectada principalmente por la baja humedad relativa y por la falta de habilidad para utilizar los nutrientes disponibles sobre la superficie de la cutícula ó por la falta de factores necesarios para el reconocimiento de un hospedero susceptible o sitio de infección penetrable. El reconocimiento de un hospedero susceptible involucra signos químicos y topográficos. También puede fracasar la invasión del hongo por la presencia de compuestos inhibitorios tales como fenoles, quinonas y lípidos en la superficie de la cutícula (Hajek y Leger, 1994).

Nematodos

Son organismos microscópicos de cuerpo vermiforme que presentan en su parte anterior la boca, que continúa con el tubo digestivo, esófago, intestino, sistema nervioso, sistema reproductor y termina en su parte posterior con un sistema excretor y cola. Su ciclo de vida comprende 5 fases bien diferenciadas: huevo, cuatro estadios juveniles con muda entre cada uno de ellos y diferenciación a adulto. Los nematodos entomopatógenos están asociados simbióticamente con una

bacteria que mata rápidamente al insecto hospedador, por lo que son altamente efectivos como insecticidas biológicos (Gaugler, 2002).

Generalidades de Nematodos.

La palabra nematodo, proviene de los vocablos griegos *nema* que significa “hilo” y *eidés* u *oidos*, que significan “con aspecto de”, siendo definidos como animales filiformes con cuerpo sin segmentos, más o menos transparentes, cubiertos de una cutícula hialina, la cual está marcada por estrías u otras marcas; son redondeados en sección transversal, con boca, sin extremidades u otros apéndices, muchos son parecidos a lombrices o con forma de anguila.

Las hembras de algunas especies cuando llegan al estado adulto son abultadas con forma de pera o esfera (Siddiqi, 2000; Agrios, 2005; Perry & Moens, 2006).

Aunque los nematodos sobreviven en casi todos los hábitats, son esencialmente acuáticos. La mayoría de ellos son microscópicos y miden entre 300 y 1000 μm de largo y entre 15 y 35 μm de ancho; su tamaño los hace invisibles a simple vista, pero pueden ser fácilmente observados con la ayuda de un microscopio o estereoscopio (Luc *et al.*, 2005; Perry & Moens, 2006).

Los nematodos fitoparásitos, según el género, tienen en la región anterior (cabeza) un estilete hueco (estomatoestilete u odontoestilete) también llamado “lanza”, pero hay algunos con estilete sólido modificado (onquioestilete). El estilete es usado para perforar o penetrar las células de las plantas y a través de él extraer los nutrientes, causando enfermedades en diferentes cultivos (Maggenti *et al.*, 1987; Mai *et al.*, 1996; Luc *et al.*, 2005; Perry & Moens, 2006).

Por su naturaleza, los nematodos fitoparásitos son patógenos, pero sus interacciones con otros agentes causantes de enfermedades dificultan medir su verdadero impacto en el rendimiento de los cultivos y su estimativo a gran escala (Sasser & Freckman, 1987).

En general, los nematodos fitoparásitos causan pérdidas anuales entre 11 y 14% en cultivos de importancia económica como leguminosas, granos, banano, yuca, coco, remolacha azucarera, caña de azúcar, papa, hortalizas y varios frutales, equivalentes a \$80 billones al año (Sasser & Freckman, 1987; Agrios, 2005).

Daños Causados por los Nematodos.

Según Agrios (2005), el daño mecánico directo causado por los nematodos mientras se alimentan es muy leve. La mayoría de daños parece ser causados por la secreción de saliva introducida en los tejidos de las plantas durante el proceso de

alimentación. Ellos perforan la pared celular, introducen saliva dentro del citoplasma, extraen parte del contenido celular, y se movilizan en unos pocos segundos.

El proceso de alimentación causa una reacción en la células de las plantas afectadas, resultando en la muerte o debilitamiento de los extremos de las raíces y yemas, formación de lesiones y rompimiento de tejidos, abultamientos y agallas, arrugamiento y deformación en tallos y hojas. Algunas de estas manifestaciones son causadas por la descomposición del tejido afectado por las enzimas del nematodo, la cual, con o sin la ayuda de metabolitos tóxicos, causa desintegración del tejido y muerte de las células (Agris, 2005; Luc *et al.*, 2005; Perry & Moens, 2006; Castillo & Vovlas, 2007).

Otros síntomas son causados por alargamiento anormal de la célula (hipertrofia), por supresión de la división celular, o por la estimulación de proceso de división celular de una manera controlada y que resulta en la formación de agallas (hiperplasia) o de un gran número de raíces laterales en o cerca de los sitios de infección (De Waele & Davide, 1998; Agris, 2005; Perry *et al.*, 2009).

Los síntomas ocasionados por los nematodos fitoparásitos, generalmente no pueden ser distinguidos de los ocasionados por otros organismos habitantes del suelo como hongos, bacterias, protozoarios, insectos, etc., o los ocasionados por condiciones ambientales adversas. Generalmente, los daños causados por los fitonematodos en las raíces son reflejados en los tejidos aéreos como crecimiento deficiente de tallos, clorosis de hojas y aun la muerte de plantas, etc.; debido a una reducida absorción de agua y nutrientes por las raíces secundarias, lo cual influye en el potencial de agua en las hojas, conductividad estomatal, transpiración y conductividad (Seinhorst, 1981).

Nematodo Dorado de la Papa *Globodera rostochiensis* (Behrens, 1975).

El nematodo dorado de la papa, *Globodera rostochiensis* (Behrens, 1975). Es un endoparásito sedentario que provoca problemas a nivel mundial en el cultivo de papa, *Solanum tuberosum* L., debido a los daños que causa en las raíces (Núñez *et al.*, 2003).

Los nematodos formadores de quistes, *Globodera rostochiensis* (Behrens, 1975). Y *G. pallida* Stone, son los nematodos fitopatógenos más importantes en el cultivo de la patata. Son dos especies muy similares, que suelen ocupar el mismo nicho ecológico, pero que han evolucionado de manera diferente, debido a una adaptación diferente a la temperatura y a los días largos, que han podido ser seleccionados con las prácticas de cultivo (Turner y Evans, 1998).

Los daños producidos por los nematodos del género *Globodera* en patata, afectan principalmente a la actividad de las raíces puesto que al reducirlos hacen que el volumen de suelo que la planta explora para absorber agua y nutrientes sea mucho menor; influyendo sobre todo en la absorción de nitrógeno, potasio y fósforo (Trudgill, Evans y Phillips, 1998).



Figura 2. Región anterior de juvenil J2 del Nematodo Dorado de la Papa (*G. rostochiensis*) Créditos: a Ramírez – Suarez. CNRF-DGSV. SAGARPA.

Origen

El centro de origen del nematodo se ubica en las montañas de los Andes en Sudamérica, de donde fueron introducidos a Europa en tubérculos de papa, posiblemente a mediados del siglo XIX (EPPO, 2010).

Ubicación Taxonómica

Reino.....	Animalia
Phylum.....	Nemata
Clase.....	Secernentea
Subphylum.....	Uniramia
Subclase.....	Diplogasteria
Orden.....	Tylenchida
Suborden.....	Tylenchina
Superfamilia.....	Tylenchoidea
Familia.....	Heteroderidae
Subfamilia.....	Heteroderinae
Género.....	<i>Globodera</i>
Especie.....	<i>rostochiensis</i> (Siddiqui, 2000)

Descripción Morfológica

Hembras

Las hembras adultas son de aproximadamente 500 μ de circunferencia sin su cono. (CABI, 2011).

Los quistes contienen huevos, y están formados por una cutícula endurecida formada por la hembra. Los quistes nuevos muestran un orificio vulvar intacto; pero quistes viejos, particularmente aquellos que han estado en el suelo por varias temporadas, pierden todos los signos de sus genitales y presentan un sólo orificio en la cutícula que muestra la posición de la fenestra (CABI, 2011)

Machos

El macho tiene un tamaño de 0.89 -1.27 mm, es de forma vermiforme con una pequeña cola y sin bursa o ala caudal. Presenta cuatro incisiones a la mitad del cuerpo (tres de ellas terminan en la cola). Alrededor de la cabeza tiene 6-7 ánuos. El estilete es fuerte y con una prolongación en forma de embudo que le sirve de guía (CABI, 2011).

Ciclo Biológico

Su ciclo de vida toma aproximadamente 45 días, tiempo durante el cual los machos mudarán y llegarán a convertirse en vermiformes, viven en la raíz del hospedante y fertilizarán tantas hembras como sea posible antes de morir (Evans, 1970). La parte posterior de la hembra queda como una protuberancia fuera de la corteza de la raíz lista para aparearse. Las hembras secretan feromonas que atraen a los machos para la fecundación (Mugniery *et al.*, 1992).

Los adultos y juveniles de *G. rostochiensis* se pueden diseminar a través de bulbos, tubérculos, cormos, rizomas, raíces y tallos. Los quistes y los huevos son las etapas más persistentes del ciclo de vida de *G.rostochiensis*, cada nuevo quiste contiene cerca de 500 huevos (Perry y Beane, 1988).

Epidemiología

La temperatura óptima para la eclosión de *G. rostochiensis* es de 15 °C con una alta proporción de adultos (Evans, 1968). Los juveniles penetran en la raíz del hospedante justo entre las puntas de las raíces, y se movilizan hacia arriba hasta que reciben una señal específica, de tipo química, para comenzar a alimentarse en el sitio. Los machos juveniles del segundo estadio penetran en las células del periciclo de la planta, mientras que las hembras penetran las células procambiales (Golinowski *et al.*, 1997).

Sintomatología que presentan en la planta

El nematodo dorado ataca las raíces de las plantas hospedantes; éstas muestran síntomas consistentes con pudrición de raíz o alteración vascular. Las partes aéreas de la planta muestran un retraso en el crecimiento, aspecto débil, además de una leve clorosis y marchitez. Los síntomas del nematodo se pueden diferenciar de otros posibles en raíz, por la presencia de quistes en la superficie de la misma. Los quistes parecen de color crema a dorado durante la época de crecimiento y durante la cosecha será de color dorado a negro. Las infecciones en el tubérculo son raras debido a que el nematodo prefiere alimentarse inmediatamente detrás de la punta de raíz o de la prolongación de raíces activas (Utah University, 2010).



Figura 3. Cultivo de Papa, mostrando manchones, producto de la infección del Nematodo Dorado de la Papa (*G. rostochiensis*). Créditos: Agriculture and Food Science in Northern Ireland.

Mecanismos de dispersión

Este nematodo no cuenta con un mecanismo de dispersión natural, y sólo puede moverse a cortas distancias viajando como juveniles atraídos hasta las raíces en el suelo. Se dispersa hacia nuevas áreas como quiste sobre tubérculos de papa, viveros, suelo, bulbos, papas para consumo o procesos (EPPO, 2010).

Hospedantes

Los principales hospederos se encuentran restringidos a especies de Solanaceae, particularmente en papa, tomate y berenjena (CABI, 2011).

Superficie Sembrada en México.

México cuenta con una superficie sembrada de papa (papa y semilla) de 61,069 hectáreas, de las cuales se cosechan 60,241 con una producción de 1,670,148 toneladas, cuyo valor de producción es de aproximadamente 7,844,706 miles de pesos (SIAP, 2008)

Importancia Económica de la Plaga

El nematodo enquistador de la papa es la plaga más importante en el cultivo de papa en áreas con bajas temperaturas. El daño se relaciona con el número de huevos por unidad de suelo y se refleja en el peso del tubérculo producido. Varias infestaciones con *G. rostochiensis* y *G. pallida* pueden resultar en un menor rendimiento de la planta (Oerke *et al.*, 1994).

Distribución Nacional

En México, este organismo fue detectado por primera vez en 1971 en un lote de producción de papa de aproximadamente de una hectárea en el estado de Guanajuato. Este descubrimiento dio lugar a la Cuarentena Interna no. 17 el cual implicó el muestreo para la detección de *G. rostochiensis* a nivel nacional en todos los estados productores de papa, prohibiendo la movilización de tubérculo semilla a lo largo y ancho del país. Hasta 2009 de manera oficial el nematodo se encuentra distribuido en nueve estados de la república los cuales son: Guanajuato, Nuevo León, distrito Federal, Hidalgo, Tlaxcala, Puebla, Veracruz y el Estado de México (SIAP, 2013).

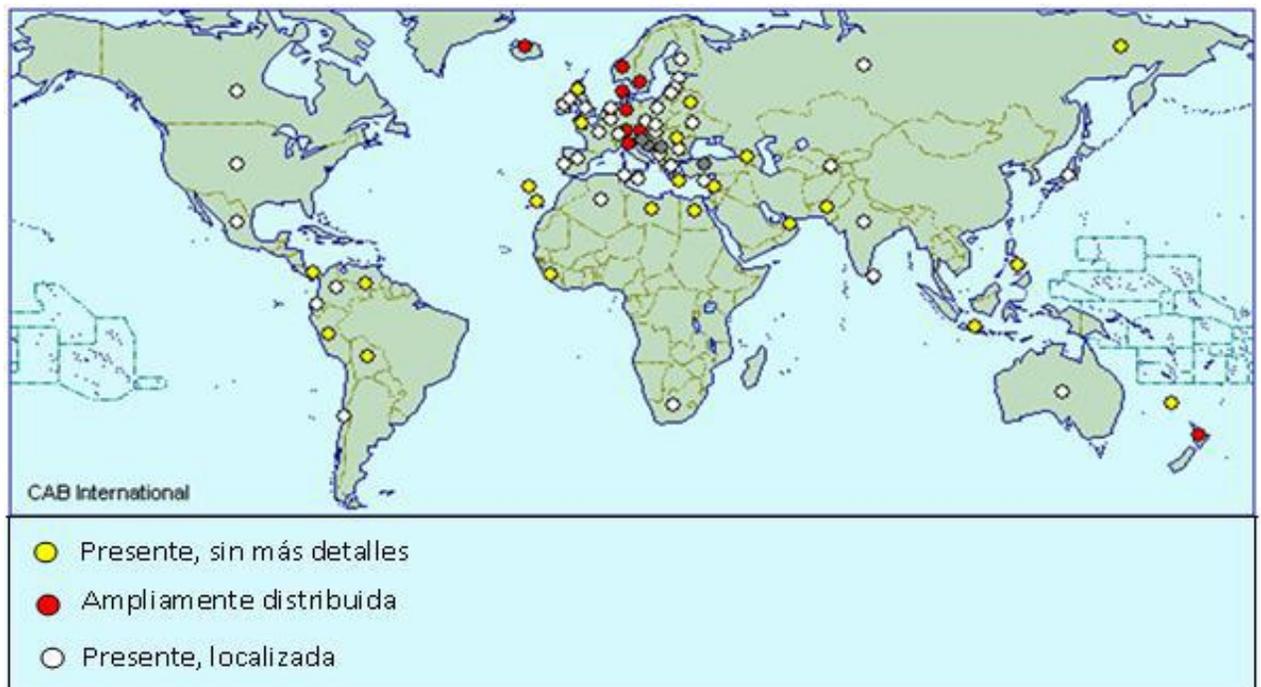
Distribución Nacional de Hospedantes

México cuenta con una superficie sembrada de papa (papa para consumo y semilla) de 69 118.38 ha, de las cuales se cosechan 67 383.87 ha con una producción de 1 807 851.81 ton, cuyo valor de producción es de aproximadamente 10 727 558 miles de pesos (SIAP, 2013). Los principales estados del país con mayor producción de papa para consumo son: Sinaloa, Sonora Chihuahua, Puebla y el Estado de México, cuyo valor de producción es de aproximadamente 10 679 026 miles de pesos (SIAP, 2013).

Estatus Cuarentenario de la Plaga en México

De acuerdo a la NIMF N° 8, se considera al nematodo *G. rostochiensis* como una plaga Presente, sujeta a control oficial (NOM-025-FITO-2000). Mientras que la NIMF N° 19 se lo considera como una plaga cuarentenaria presente.

Figura 4. Prevalencia y distribución mundial de *Globodera rostochiensis* Créditos: Modificado de CABI, 2007.



Control Biológico

El control biológico es un método que emplea organismos vivos para reducir la densidad de la población de otros organismos plaga. Una plaga es cualquier organismo que produce un daño o reduce la disponibilidad y la calidad de un recurso humano (Hajek, 2004).

Para el manejo de plagas existen varios métodos alternativos: el uso de productos de síntesis química (plaguicidas); cultivos genéticamente modificados resistentes a plagas; control biológico; o bien la combinación de una o más de estas tácticas, el manejo integrado de plagas. El empleo de químicos como los plaguicidas no siempre es la mejor estrategia para combatir una plaga específica debido a que

frecuentemente está asociado a efectos negativos. Los estallidos de plagas secundarias como consecuencia de la mortandad de los enemigos naturales que la controlaban (resultado de la baja especificidad del plaguicida) y/o la adquisición de una resistencia al plaguicida por parte de la plaga. Es así, que el uso del control biológico, al no dejar residuos químicos y al actuar de manera más específica y permanente sobre la población problema, fue ganando terreno como alternativa viable en el manejo de la salud vegetal.

Los organismos que son utilizados comúnmente como enemigos naturales en el control biológico de invertebrados, se clasifican en cuatro categorías: parasitoides, depredadores, patógenos y competidores. Estos agentes de control provienen de una gran variedad de grupos taxonómicos, incluyendo a los insectos, ácaros, nematodos y microorganismos, tales como las bacterias, los virus, los hongos y los organismos unicelulares. Estos agentes de control, al pertenecer a distintos grupos poseen diferentes propiedades biológicas y comportamentales. Estas diferencias hacen que unos u otros sean más o menos exitosos como biocontroladores en una estrategia de control determinada (Bale *et al.*, 2011).

En el desarrollo del control biológico, que para Téllez-Jurado *et al.* (2009) se define como una práctica agrícola en constante crecimiento que busca la destrucción total o parcial de patógenos e insectos plaga frecuentemente mediante el uso de sus enemigos naturales, los hongos entomopatógenos según Samson *et al.* (1998), son los primeros agentes biológicos en ser utilizados para el control de plagas, porque según Asaff *et al.* (2002), son capaces de producir enfermedad y muerte de los insectos. Estos microorganismos infectan a los artrópodos directamente, a través de la penetración de la cutícula y ejercen múltiples mecanismos de acción, confiriéndoles una alta capacidad para evitar que el hospedero desarrolle resistencia.

Sin embargo Meyling Eilenberg (2007) afirma que para su utilización como control biológico es necesario prácticas agrícolas en donde se manipule el ambiente para beneficiar las poblaciones de entomopatógenos, donde el conocimiento de los aspectos ecológicos del hongo son necesarios, tales como la humedad relativa, temperatura, patogenicidad, virulencia y hospederos a los que a los que infecta activamente.

Lacey *et al.* (2001) afirma que entre los aspectos básicos se encuentran el aislamiento del hongo, cultivo, pruebas biológicas y predicción de los efectos sobre las poblaciones de plagas en el medio ambiente, así como un desempeño predecible sobre cambios de las condiciones medioambientales y una mayor eficiencia de producción.

Para Butt *et al.* (2001). La producción de hongos para el control de plagas implica una amplia investigación donde se involucran disciplinas como la patología, ecología, genética y fisiología, además de técnicas para la producción masiva, formulación y estrategias de aplicación.

MATERIALES Y METODOS

Localización del Área de Estudio

La presente investigación se llevó a cabo en las cámaras de investigación y en el laboratorio de fitopatología del departamento de parasitología ubicado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro localizada en la Calzada Antonio Narro # 1923, en la Colonia Buenavista, Saltillo, Coahuila de Zaragoza.

Medios Utilizados

Agar con extracto de papa y Dextrosa deshidratado comercial (PDA). Agar con extracto de papa y dextrosa 39 gr marca Bioxon en 1000 ml de H₂O.

Es un medio de cultivo muy usado que sirve para aislar todo tipo de hongos. *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Lecanicillium (Verticillium)* y *Metarhizium*, los más importantes hongos parásitos de Insectos, al igual que los parásitos de plantas y los hongos saprofitos estos crecen y esporulan bien en este medio.

Cultivo del Hongo

A continuación se describe el procedimiento utilizado para la reproducción de este Hongo.

1. Se pesaron los reactivos necesarios para preparar 1000 ml de medio poniéndolos en un matraz.
2. Con la probeta, se midieron 1000 ml de agua destilada, la cual fue agregada al matraz de la mezcla.
3. El matraz se colocó en la parrilla eléctrica poniéndole un magneto para que la mezcla se mezclara homogéneamente.
4. Cuando la solución se homogeneizo, se retiró de la parrilla sacando el magneto y tapando con papel aluminio.
5. Después se procedió a la esterilización el cual consistió en someter la mezcla a una olla de presión a una temperatura de 121 °C durante 15 minutos a 15 libras de presión.

6. Transcurrido dicho tiempo se abre la válvula para q el vapor salga y la presión comience a bajar, esta solo debe abrirse cuando el manómetro marque cero (CIP, 2004).
7. Por último se vacía el medio en cajas Petri estériles siguiendo la técnica aséptica. Las cajas no pueden ser destapadas a menos de que sea entre mecheros y dentro de la campana de flujo laminar.
8. Ya solidificado el medio dentro de las caja Petri se etiquetan con el tipo de medio y fecha de elaboración.

Preparación de Quistes del Nematodo *Globodera rostochensis* (Behrens, 1975)

A continuación se describe el procedimiento de desinfección de quistes del Nematodo Dorado de la papa.

1. Primeramente se hace la extracción de quistes del nematodo encontrados en una muestra de suelo, seleccionando los más viables esto a través de la observación al microscopio.
2. Obtenidos los quistes se procede a la esterilización, la cual consistió en pasarlos en Cloro al 2%, Agua estéril, Hipoclorito de sodio, Agua estéril y Nuevamente Agua estéril durante 3 minutos.
3. Después se colocan en papel secante “estéril”.
4. Por ultimo son colocados en las cajas de medio de cultivo (PDA) cada una con cinco quistes, a diferentes concentraciones dando un total de 100 quistes. (CIP, 2004).

Conteo de Esporas

La cámara de Neubauer es una lámina de vidrio que tiene dos camas de 0.1 mm de profundidad. Cada cámara está dividida en nueve de cuadros de 1mm. La superficie cubre un área total de 9mm. Adicionalmente, el cuadro del centro esta subdividido en cinco por cinco cuadros agrupados de 0.2 mm de lado a lado y una superficie de 0.04 mm cada uno. Los cuadros del centro a su vez están subdivididos en 16 cuadros más pequeños de 0.0025 mm cada uno. Cinco de estos cuadrados se utilizan para el conteo de las conidias. Se debe dar atención especial al hecho de que la cámara se encuentra delimitada por tres líneas blancas entre los cuadros.

Procedimiento

1. Preparación de una suspensión de conidias en agua destilada.
2. Con una pipeta Pasteur se le agregan 10 microlitros a la cámara de Neubauer.
3. Se observa al microscopio a 40x.

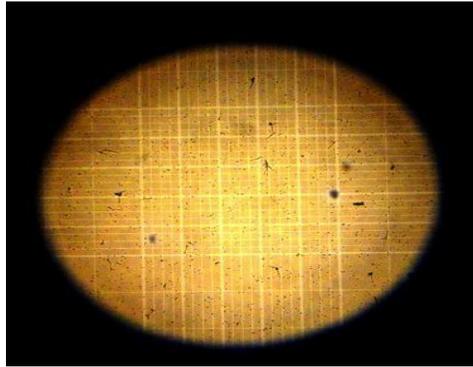


Figura 5. Retículo de la cámara de Neubauer y cuadrados utilizados para el conteo de conidias.

4. Se realiza el conteo de las conidias presentes en los cuadros antes mencionados.
5. Determinación del número de conidias por ml y el número total de conidias utilizando la siguiente formula: $\text{Conidias / ml} = \# \text{ de conidias contadas} \times 25,000 \times \text{factor de dilución}$
 $\text{Conidias totales} = \text{Conidias /ml} \times \text{Vol. De la suspensión original de conidias.}$

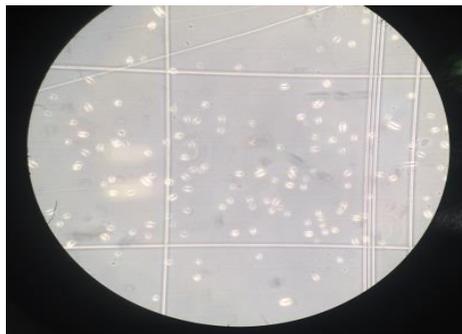


Figura 6. Conteo de conidias en uno de los cuadrantes centrales de la cámara de Neubauer. Las conidias que están sobre la línea derecha e inferior no se cuentan

Diseño Experimental

El diseño utilizado para el análisis de los datos fue un Diseño Completamente al Azar (DCA) con cuatro tratamientos y cinco repeticiones a diferentes concentraciones de conidias del hongo (1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 y 1×10^9). Los datos se analizaron bajo un DCA que funciona bajo el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij} \text{ donde:}$$

Y_{ij} = valor observado de la variable

μ = efecto de la media general del experimento

T_i = efecto del i ésimo tratamiento

E_{ij} = error experimental

(Cappelltti, 1992).

RESULTADOS

Con relación a los resultados obtenidos de la prueba de Parasitismo del Hongo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin contra el Quiste del Nematodo Dorado de la Papa *Globodera rostochiensis* (Behrens, 1975) con fundamento en la metodología descrita, podemos mencionar que hubo un alto grado de infección en todos los tratamientos evaluados, tanto en Quistes Cerrados y en Quistes Abiertos.

Tabla 1. El porcentaje de parasitismo se determinó mediante la fórmula: % de parasitismo = [(Total de Quistes parasitados / Total de Quistes recuperados) X100].

Porcentaje de Parasitismo	
No. de Quistes	Porcentaje
1	20%
2	40%
3	60%
4	80%
5	100%

En las Figuras 7, 8, 9 y 10, se Muestran los Datos Obtenidos del Porcentaje de Parasitismo de Quistes de *G. rostochiensis* Cerrados.

Figura 7. Se observa que en la R1 y R2 hubo menor grado de parasitismo a diferencia de las otras repeticiones en Quistes de *G. rostochiensis*.

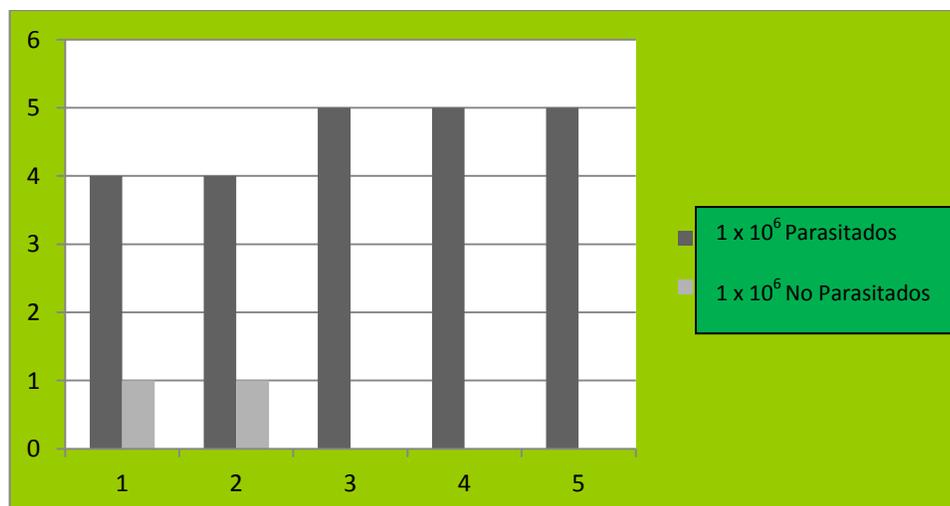


Figura 8. Se observa que en la R3 hubo menor grado de parasitismo a diferencia de las otras repeticiones en Quistes de *G. rostochiensis*.

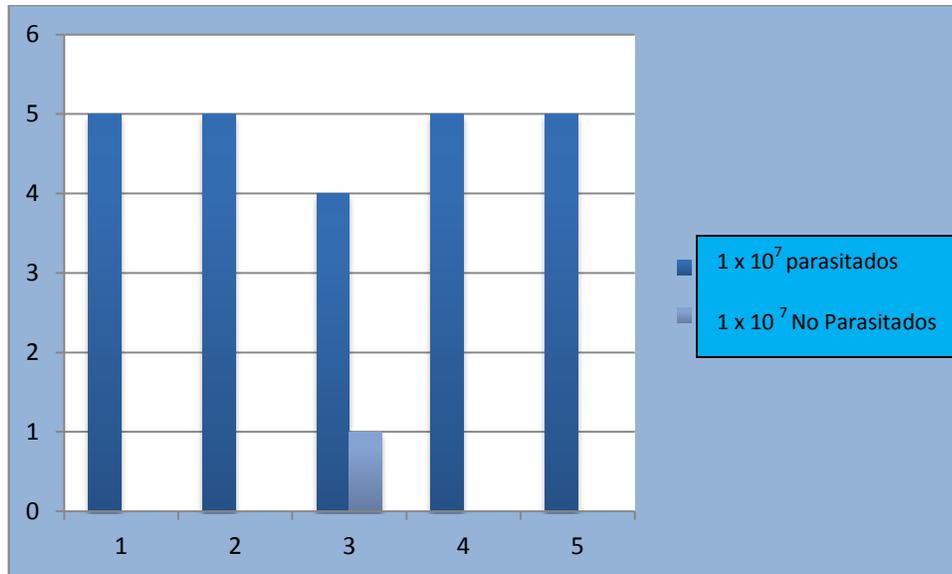


Figura 9. Se observa que en la R1 hubo menor grado de parasitismo, a diferencia de las otras repeticiones en Quistes de *G. rostochiensis*.

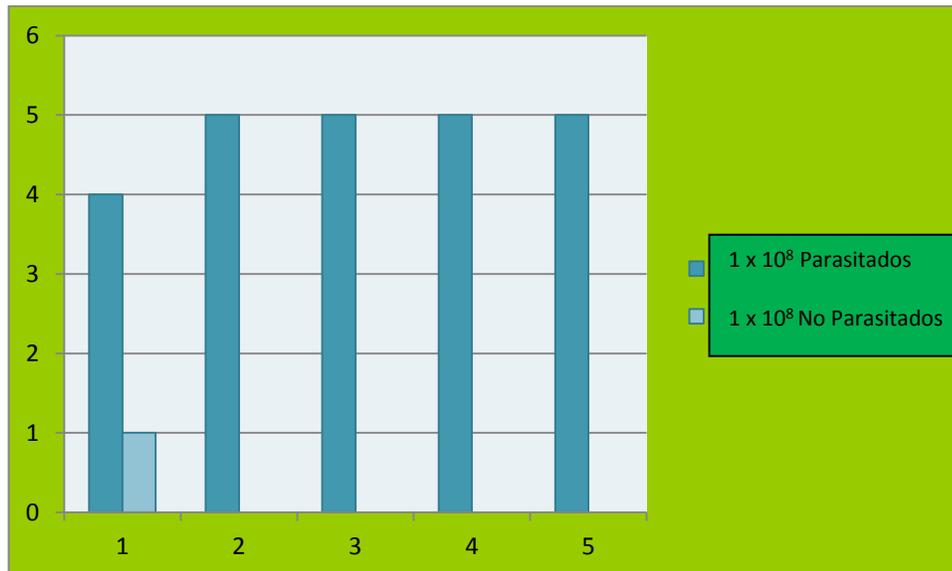


Figura 10. Se observa que el grado de parasitismo alcanzo el 100 % en Quistes de *G. rostochiensis*.

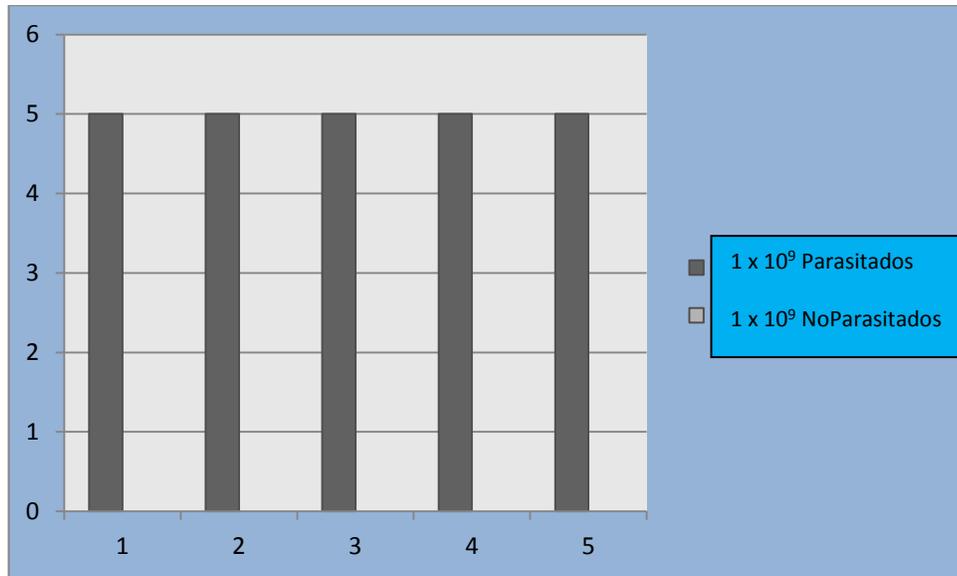
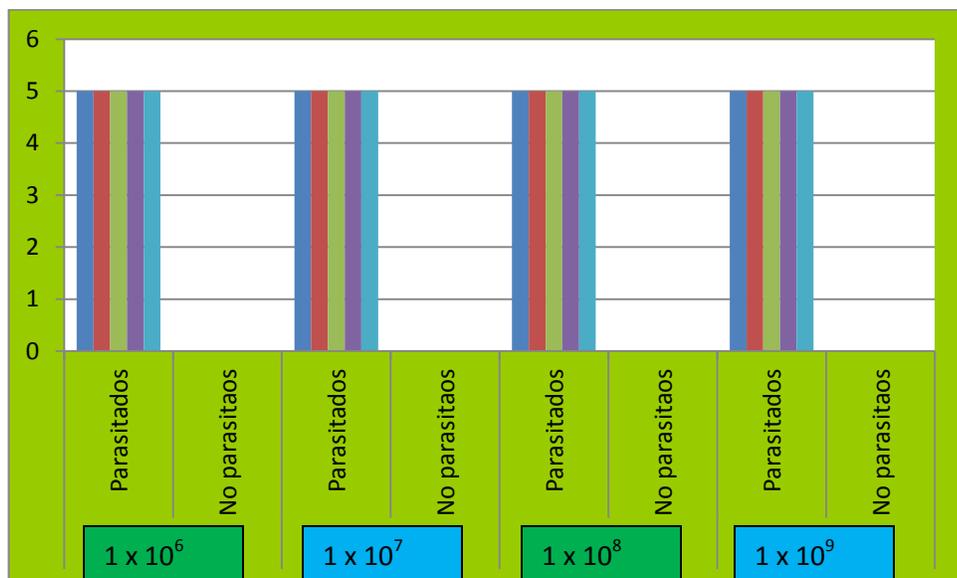


Figura 11, Se Muestran los Datos obtenidos del Porcentaje de Parasitismo en Quistes de *G. rostochiensis* Abiertos.



DISCUSIÓN

Después de realizar y analizar los datos obtenidos y con fundamento en la metodología antes descrita, se menciona que con respecto al hongo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin sobre el Quiste del Nematodo Dorado de la Papa *Globodera rostochiensis* (Behrens, 1975). Existió un alto grado de parasitismo en todos los tratamientos y repeticiones de dicho experimento tanto en Quistes (Cerrado) y Quistes Abiertos.

CONCLUSIÓN

Los hongos entomopatógenos sin duda alguna representan una de las alternativas, de gran interés económica en el manejo integrado y control de plagas, que afectan los cultivos. Por su eficacia y especificidad, las pérdidas ocasionadas en los productos agrícolas, relacionadas con el ataque de plagas y enfermedades durante las etapas de pre y post-cosecha, se ven reducidas gracias a la elección de estos agentes entomopatógenos, que si bien la naturaleza actúan de manera natural.

Los resultados obtenidos en este ensayo indican que hay un alto grado de infección del hongo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, en el Quiste del Nematodo Dorado de la Papa *Globodera rostochiensis* (Behrens, 1975), ya que en Quistes (Cerrado). Hubo una incidencia del 92.0 % de Parasitismo.

Los resultados obtenidos en este ensayo indican que hay un alto grado de infección del hongo *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, en el Quiste del Nematodo Dorado de la Papa *Globodera rostochiensis* (Behrens, 1975), ya que en Quistes Abierto Hubo una incidencia del 100 % de Parasitismo.

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: **Parasitismo Quistes**

Fuente	DF	Cuadrado de Anova SS	la media	F-Valor	Pr > F
Repetición	4	280.0000000	70.0000000	1.00	0.4449
Tratamiento	3	160.0000000	53.3333333	0.76	0.5368

C.V. = 8.715209

Medias con la Misma letra no son Significativamente Diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	tratamiento
A	100.000	5	4
A	96.000	5	3
A	96.000	5	2
A	92.000	5	1

Parasitismo de Quistes Abiertos

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	tratamiento
A	100.0	5	1
A	100.0	5	2
A	100.0	5	3
A	100.0	5	4

BIBLIOGRAFÍA

Agrios, G.N. 2005. Plant pathology. 5th ed. Elsevier Academic Press, New York.

Albes, S.B. and Pererira, R.M. (1989) Production of *Metarhizium anisopliae*

Allendes G. L. 2007. Evaluación de ocho sepas nativas de *Metarhizium anisopliae* var. *Anisopliae* (Metsch) sorokin., para el control de *Aleurothrixus floccosus* Maskell. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Facultad Agrónoma.

Asaff T. A. V. Y. Reyes, E, V. López y M. de la Torre. 2002. Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. Avance y Perspectiva vol. 21: 291-295.

Báez, P. M. 1983. La Papa (*Solanum tuberosum* L.), Monografía UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. 7p.

Bale J. 2011. Armonización de las regulaciones para el control biológico de invertebrados agentes en Europa: progreso, problemas y soluciones. Journal of Applied Entomología 135: 503-513.

Bittencourt et al., 1999 V.R.E.P Bittencourt, A.G Mascaranhas, J.L.H Faccini

Castaño, Z. J. L. DEL RIO 1994. Guía para el diagnóstico de enfermedades en los cultivo de importancia económica. 3 ed. Zamorano Honduras C.A.

Cappelletti, 1992. Estadística experimental. Buenos Aires; AGROVET. 513 p.

CIP; 1999. Centro Internacional de la Papa. Compendio de Enfermedades.

CEA; 2002. Centro de Estudios Agropecuarios, Cultivo de la Papa serie Agronegocios ed. Iberoamericana S.A de C.V.

Cepeda S. M. 1996. Prácticas de Nematología Agrícola. 1a edición. Editorial TRILLAS, México. 105 p.

Cepeda S. M. 1996. Nematología Agrícola. 1a edición. Editorial TRILLAS, México. 305 p.

- Devotto L. M. Gerding y A. France., 2000.** Hongos Entomopatógenos: una alternativa para la obtención de Biopesticidas. 23:30-33.
- Ehlers, R.U. 2001.** Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. Appl. Microbiol. Biotechnol. 56: 623-633.
- FAO. 1996.** Conservación y utilización sostenible de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura: Plan de acción mundial e informe sobre el estado de los recursos fitogenéticos en el mundo. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Italia. 10 pp.
- García, M. R., Gonzáles, D. G., y Montero H. j. R. 1990.** Notas sobre mercados y comercialización de productos agropecuarios C. E., C. p., Montecillo México.
- Hajek A.E. 2004.** Enemigos naturales. Una introducción al control biológico. Cambridge University Press, Nueva York.
- Hajek, A.E; Leger, R.J.St. 1994.** Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Annual Review of Entomology 39:293-322.
- Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos.** Lima, Perú; Centro Internacional de la Papa (CIP 2004), Lima, Perú, 62 p.
- Manual: Technical Note - Neubauer Chamber Cell Counting.**
<http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Conteo-Camara-Neubauer.pdf>
- Metsch. Sorok and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.** In Plastic Trays. Ecosystem 14: 188-192.
- Mier, H. A. 1986.** Prueba de Comportamientos de 10 clones avanzados de Papa (*Solanum tuberosum* L.), en las regiones de Derramadero, Coahuila y Navidad N. L. Tesis UAAAN 70 p.
- Montaldo, A. 1984.** Cultivo y Mejoramiento de la Papa. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Sam José de Costa Rica. 676 p.
- Monzón A. 2001.** Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Costa Rica No. (63): 95-103.

- Núñez S., G. Carrión, C. Núñez C. y O. Rebolledo D. 2003.** Densidad de la población de quistes de *Globodera rostochiensis*. En la cofre de Perote, Veracruz, México. Revista Mexicana de Fitopatología. Julio-Diciembre 21 (002): 2017-2013 p.
- Perry, R. & Moens, M. 2006.** Plant nematology. CAB International, London.
- Perry, R., Moens, M. & Starr, J. 2009.** Root knot nematodes. CAB International, London.
- Puchetea D. M. 2006.** Evaluación del efecto insecticida de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anizopliae* y *Paecilomyces fumosoroseous* sobre Mosquita blanca (*Bemisia tabaci*) en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) Universidad Autónoma Metropolitana.
- Roberts D. W., St. Leger R.J. 2004.** *Metarhizium* spp., Cosmopolitan Insect-Pathogenic Fungi: Mycological Aspects. Advances in Applied Microbiology, 54: 1-70.
- Rodríguez M. S. Gerding M. France A. 2006.** Selección de aislamientos de hongos entomopatógenos para el control de huevos de la polilla del tomate, Tuta absoluta Meyrick (LEPIDOPTERA: GELENCHIDAE). Agricultura técnica (Chile) 66(2): 151-158.
- Ross, H 1986.** Potato Breeding – problems and perspectives, Adv. In plant Breeding Supplement. 13. J. of Plant. 11-18 pp.
- Sandino D., V.M. 2003.** Manejo integrado de la salivita de la caña de azúcar. Nicaragua. Funica/Una/Catie, 26p.
- Scholte E.J, B.G.J. Knols, R. A. Samson, y W. Takken. 2004.** Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. Journal of insect Science, 4:19-42 pp.
- Schurtleff, M.C. & Averre, C.W. III. 2000.** Diagnosing plant diseases caused by nematodes. APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Seinhorst, J.W. 1981.** Water consumption of plants attacked by nematodes and mechanisms of growth reduction. Nematologica. 27:34-51.

- SENASICA 2013.** Nematodo Dorado de la Papa (*Globodera rostochiensis*). Dirección General de Sanidad Vegetal – Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. México D.F. Ficha Técnica No. 19. 24 p.
- SIAP. 2013.** Anuarios Estadísticos de la Producción Agrícola en México. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Consultado en Línea el 24 de Noviembre del 2013.
- Siddiqi,, M.R. 2000.** Tylenchida Parasites of Plants and Insects. 2nd Edition. CAB International,Wallingford, UK.833 pp.
- Tanada, Y. And H. K. Kaya. 1993.** Insect pathology. Academic Press, San Diego, California, USA: 666 p.
- Tanzini M., S. Alves, A. Setten y N. Augusto. 2001.** Compatibilidad de agentes tensoactivos con *Bauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*. Manejo integrado de plagas (Costa Rica). 59: 15-18.
- TURNER, S.J., K. EVANS, 1998:** The origins, global distribution and biology of potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. In: R.J. Marks, B.B. Brodie (Eds). *Potato Cyst Nematodes. Biology, Distribution and Control*. University Press, Cambridge, U K, 7-26.
- Vicentini, S; Magalhaes, B.P. 1996.** Infection of the grasshopper, *Rhammatocerus schistocercoides* Rehn by the entomopathogenic fungus, *Metarhizium flavoviride* Gams & Rozsypal. Anais da Sociedade Entomológica de Brasil 25(2):309-314.