

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Estudio de Evaluación de la Efectividad de Organismos Biológicos, para el Control del Nematodo Agallador *Meloidogyne incognita* en Papa *Solanum tuberosom* L., bajo Condiciones de Laboratorio y en Tomate *Lycopersicom esculentum*, bajo Condiciones de Invernadero

Por:

**JOSE YOVANNI TORRES ARELLANO**

T E S I S

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre del 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Estudio de Evaluación de la Efectividad de Organismos Biológicos, para el Control del Nematodo Agallador *Meloidogyne incognita* en Papa *Solanum tuberosom* L., bajo Condiciones de Laboratorio y en Tomate *Lycopersicom esculentum*, bajo Condiciones de Invernadero

Por:

**JOSE YOVANNI TORRES ARELLANO**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Aprobada

Dr. Melchor Cepeda Siller  
Asesor Principal

Dr. Fidel Antonio Cabezas Melara  
Coasesor

M.C. Catalina Chávez Betancourt  
Coasesor

Dr. Leobardo Bañuelos Herrera  
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.  
Diciembre del 2013

## **AGRADECIMIENTO**

**A mi papa Dios**, por hacer cumplir mis sueños y metas las cuales eran terminar mi carrera como Ingeniero Agrónomo Parasitólogo, y ayudarme en los momentos más difíciles de mi vida.

**A mis padres**, José Luis Torres Pantoja y Maria Romelia Arellano Alvarado, por brindarme todo su apoyo incondicionalmente y que estuvieron siempre apoyándome cuando más los necesité.

**A mis hermanos**, Luis, Víctor y Luz, que me brindaron todo su apoyo incondicionalmente.

**A mis abuelitos Sergio Arellano Raya y Teresa Alvarado López**, por sus buenos deseos y alientos que siempre me brindaron.

**A mis tías**, María Guerra Torres, Cruz Torres Delgado, Norma Arellano Alvarado y a mi tío, J. Santiago Felipe Ríos, por sus buenos consejos y a lograr que aquello saliera adelante, gracias.

**Al Dr. Melchor Cepeda Siller**, por ser una persona la cual me indujo al trabajo y dedicación de mi proyecto, que siempre me apoyó y me asesoró.

**Al Dr. Fidel Antonio Cabezas Melara**, por brindarme todo su apoyo incondicionalmente, durante toda mi investigación que día a día me motivaba a seguir a delante con mi proyecto, gracias.

**A la MC. Catalina Chávez Betancourt**, por ser una persona con un gran liderazgo a la cual le debo una gran parte de este trabajo.

**También les doy todas las gracias a la empresa**, GreenCorp Biorganiks de México S.A. de C.V, por brindarme todo su apoyo, para llevar a cabo el proyecto: ECO – 2010-C02-147116. Con asesoría y apoyo monetario para los insumos necesarios en mi investigación.

**A MÍ ALMA TERRA MATER**, le agradezco por brindarme todo su apoyo y sobre todo por formarme de tal manera defenderme en todo momento de la vida, así mismo mantener en alto el nombre de mi Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

## **DEDICATORIA**

**A mis padres** al señor José Luis Torres Pantoja, y a la señora Ma. Romelia Arellano Alvarado por brindarme todo su apoyo incondicionalmente y ahí estuvieron siempre apoyándome cuando más los necesité, gracias papás.

**A mis hermanos**, que me brindaron todo su apoyo incondicionalmente para.

**A mis abuelitos que también son como mis papás**, con sus buenos deseos y alientos que me brindaron, al señor Pedro Torres Delgado, Sergio Arellano Raya, a la señora Teresa Alvarado López.

**A mis tías**, María Guerra Torres, Cruz Torres Delgado, Norma Arellano Alvarado y a mi tío, J Santiago Felipe Ríos, por sus buenos consejos y a lograr que aquello saliera adelante, gracias.

**A mis amigos**. Gerardo Luna Linares, Ignacio Guerra Luna, Joan Zarate Solorio.

**A mi novia**, la señorita Diana Marisol Vargas Pérez, por brindarme siempre su apoyo y estar con migo en los momentos más difíciles y por creer siempre en mí.

## ÍNDICE DEL CONTENIDO

	Pág.
INDICE DE CUADROS.....	V
INDICE DE FIGURAS .....	V
RESUMEN.....	V
PALABRAS CLAVE .....	XII
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL .....	4
JUSTIFICACIÓN .....	4
HIPÓTESIS.....	4
LITERATURA REVISADA.....	5
EL CULTIVO DE LA PAPA <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> .....	5
Historia.....	5
Clasificación taxonómica.....	5
BOTÁNICA Y MORFOLOGÍA DE LA PAPA .....	6
Hábito de crecimiento.....	6
Raíces.....	6
Tallos.....	6
Estolones.....	6
Tubérculos.....	6
Hojas .....	7
Flores .....	7
REQUERIMIENTOS EDAFOCLIMÁTICOS.....	7
TEMPERATURA .....	7
Humedad.....	7
Suelo.....	8
Luz.....	8
ORIGEN E IMPORTANCIA.....	8
Generalidades del tomate "Var. Cherry".....	10
<b>Origen del nombre</b> .....	11
Clasificación taxonómica.....	12
BOTÁNICA Y MORFOLOGÍA DEL TOMATE.....	12
Raíz.....	12
Tallo.....	13
Hojas.....	13

Flor.....	13
Polinización.....	13
Fruto.....	13
<b>VALORES NUTRICIONALES DEL TOMATE CHERRY:</b> .....	14
EL NEMATODO AGALLADOR <i>MELOIDOGYNE</i> SPP. ....	14
Antecedentes históricos .....	15
Clasificación taxonómica.....	16
Especies y razas fisiológicas.....	16
Descripción y diagnóstico de <i>Meloidogyne incognita</i> .....	17
Morfología y anatomía de <i>M. incognita</i> .....	17
Hembra .....	19
Macho .....	20
Juveniles en segundo estadio (J <sub>2</sub> ).....	21
Identificación de juveniles .....	22
Ciclo biológico.....	22
Etapa pre infectiva .....	23
Etapa parasítica.....	23
Fase adulta .....	24
Ecología.....	24
Efecto de temperatura del suelo.....	25
Humedad y textura del suelo.....	25
Aireación y pH del suelo .....	26
Alimentación .....	26
Comportamiento.....	26
Distribución Geográfica de <i>M. incognita</i> .....	26
Pérdidas económicas causadas por <i>M. incognita</i> en papa .....	27
Efecto de <i>Meloidogyne</i> spp., sobre el desarrollo de las plantas .....	27
Métodos de Control de <i>M. incognita</i> .....	28
Manejo cultural .....	29
Manejo legal.....	30
Alternativas de manejo a través de extractos vegetales.....	30
Control microbiano .....	30
<i>Bacillus</i> .....	30
<i>Bacillus thuringiensis</i> .....	33
<i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	35
<i>Paecilomyces lilacinus</i> .....	36
<i>Beauveria bassiana</i> .....	39
<i>Metarhizium anisopliae</i> .....	39
MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
Papa bajo condiciones de laboratorio.....	41
OBTENCIÓN DEL NEMATODO AGALLADOR <i>MELOIDOGYNE</i> SPP. ....	41

IDENTIFICACIÓN DEL NEMATODO A NIVEL DE GÉNERO Y ESPECIE .....	42
IDENTIFICACIÓN DE SEGUNDO ESTADIO DE <i>MELOIDOGYNE INCOGNITA</i> .....	43
ESTABLECIMIENTO DE CADA UNO DE LOS EXPERIMENTOS.....	43
	_Toc373416931Experimento
A.....	44
Experimento B .....	45
Experimento C .....	45
Tomate bajo condiciones de invernadero.....	45
Identificación del nematodo anivel de genero y especie.....	45
Identificación de segundo estadio de <i>M. incognita</i> .....	49
Establecimiento de cada uno de los experimentos en invernadero .....	49
Experimento A .....	51
Experimento B .....	51
Experimento C.....	51
RESULTADOS .....	51
Resultados obtenidos en papa bajo condiciones de laboratorio.....	52
RESULTADOS OBTENIDOS DEL EXPERIMENTO (A) .....	53
RESULTADOS OBTENIDOS DEL EXPERIMENTO B.....	54
RESULTADOS OBTENIDOS DEL EXPERIMENTO C.....	55
RESULTADOS OBTENIDOS DEL EXPERIMENTO A.....	55
RESULTADOS OBTENIDOS DEL EXPERIMENTO B.....	56
RESULTADOS OBTENIDOS DEL EXPERIMENTO C .....	57
Resultados obtenidos en tomate bajo condiciones de invernadero.....	58
RESULTADOS OBTENIDOS DEL EXPERIMENTO (A) .....	53
RESULTADOS OBTENIDOS DEL EXPERIMENTO B.....	69
RESULTADOS OBTENIDOS DEL EXPERIMENTO C.....	60
RESULTADOS OBTENIDOS DEL EXPERIMENTO A.....	61
RESULTADOS OBTENIDOS DEL EXPERIMENTO B.....	63
RESULTADOS OBTENIDOS DEL EXPERIMENTO C .....	64
DISCUSIÓN .....	65
CONCLUSIONES.....	67
LITERATURA CITADA .....	69

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro No.</b>		<b>Pág.</b>
1	PRODUCCIÓN MUNDIAL DE PAPA. ....	9
2	DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS UTILIZADOS. ....	44
3	DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS UTILIZADOS. ....	45
4	DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS UTILIZADOS. ....	46
5	DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS UTILIZADOS. ....	50
6	DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS UTILIZADOS. ....	51
7	DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS UTILIZADOS. ....	52
8	POBLACIÓN INICIAL DEL NEMATODO AGALLADOR. ....	53
9	POBLACIÓN INICIAL DEL NEMATODO AGALLADOR. ....	54
10	POBLACIÓN INICIAL DEL NEMATODO AGALLADOR. ....	55
11	POBLACIÓN FINAL DEL NEMATODO AGALLADOR. ....	56
12	POBLACIÓN FINAL DEL NEMATODO AGALLADOR. ....	57
13	POBLACIÓN FINAL DEL NEMATODO AGALLADOR. ....	58
14	POBLACIÓN INICIAL DEL NEMATODO AGALLADOR. ....	59
15	POBLACIÓN INICIAL DEL NEMATODO AGALLADOR. ....	60
16	POBLACIÓN INICIAL DEL NEMATODO AGALLADOR. ....	61
17	POBLACIÓN FINAL DEL NEMATODO AGALLADOR. ....	62
18	POBLACIÓN FINAL DEL NEMATODO AGALLADOR. ....	63
19	POBLACIÓN FINAL DEL NEMATODO AGALLADOR. ....	64

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA NO.		PÁG.
1	MUESTRA LOS NOMBRES DEL TOMATE ROJO (JITOMATE/TOMATE) EN MÉXICO .....	11
2	MORFOLOGÍA DE HEMBRA ADULTA DE MELOIDOGYNE INCOGNITA.....	19
3	POSICIÓN DE LA REGIÓN ANTERIOR DEL J <sub>2</sub> DE MELOIDOGYNE INCOGNITA. ....	21
4	POSICIÓN POSTERIOR DE J <sub>2</sub> DE MELOIDOGYNE INCOGNITA. ....	22

## RESUMEN

Este trabajo se enfoca principalmente al control biológico con 3 bacterias como son: *Bacillus* spp., *Bacillus thuringiensis*, *Pseudomona fluorescens*, y 3 hongos como son: *Paecilomyces lilacinus*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, para el nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, bajo condiciones de laboratorio y bajo condiciones de invernadero en los cultivos de papa y en el cultivo de tomate, se obtuvieron excelentes resultados positivos. Se observó que las bacterias y los hongos, bajaron las poblaciones de nematodos tanto en invernadero como en el laboratorio de una manera muy significativa con un 96% de su población.

Las primeras referencias de la presencia de la papa en Chile, está en las cartas dirigidas al Monarca Carlos V, por el Gobernador Capitán con Pedro de Valdivia (Zapater, 1973) quien dice "que los indios se alimentaban con papas que iban a recoger a las colinas".

El tomate es originario de América del Sur, entre las regiones de Chile, Ecuador y Colombia, pero su domesticación se inició en el sur de México y norte de Guatemala. Las formas silvestres de "tomate cereza", *Lycopersicon esculentum* Var. Cerasiforme, originarias de Perú, migraron a través del Ecuador, Colombia, Panamá y América Central hasta llegar a México, donde fue domesticado por el hombre (Jaramillo *et al.*, 2007).

El nematodo agallador *Meloidogyne* spp., ha provocado pérdidas muy considerables en algunos terrenos de producción comercial y ha impedido una adaptabilidad de lotes de producción de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.), en Nuevo León y otros estados de la República Mexicana, por lo que se hace necesario el conocimiento más afondo de su biología y sus características epifitológicas y etiológicas del Género con la finalidad de dar un buen manejo adecuado (Cepeda, 1996).

**Palabras clave:** *Bacillus* spp., *Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Paecilomyces lilacinus*, *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*.

## INTRODUCCIÓN

El primer informe de *Meloidogyne* se hizo en 1855, como un nematodo que causaba nudos en las raíces de pepino, en invernaderos de Inglaterra. Los nódulos de la raíz son una enfermedad muy destructora, aunque el grado de lesión es muy variable, según sean las condiciones presentes (temperatura, humedad, textura del suelo y tipo de hospedero). Por otra parte, los nudos o agallas no son los únicos síntomas del ataque de *Meloidogyne*, pues en un momento dado, puede haber formación de escobillas, reducción en el crecimiento, clorosis y otros. Este nematodo ataca a la mayoría de los vegetales cultivados y suele ser voraz y destructivo cuando las condiciones le favorecen (Cepeda, 1996).

*Meloidogyne incognita* se reproduce básicamente por partenogénesis mitótica con dos formas citológicas, de las cuales la más común es la forma triploide,  $3N= 40-46$ . La forma de la maduración de los oocitos constituye una característica citológica única que permite diferenciarla del resto de las especies (Cepeda, 1996).

*Meloidogyne incognita* es un parasito obligado, lo que significa que requiere de una planta hospedera para llevar a cabo su ciclo de vida.

Los juveniles en el segundo estado ( $J_2$ ) pueden también encontrarse temporalmente en el suelo antes de invadir una planta susceptible. Las áreas donde se ha encontrado este nematodo es en Costa Rica, en campos de cultivo (Agroecosistemas) asociado al sistema radical de plantas hospederas. Aún no se le ha detectado en zonas con poca o ninguna alteración (bosques primarios y secundarios) en áreas protegidas de Costa Rica (Cepeda, 1996).

Este nematodo agallador ha ocasionado pérdidas considerables en algunos lotes de producción de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) en Nuevo León y otros estados de la república Mexicana, por lo que se hace necesario el conocimiento

más exhaustivo de su biología y características epifitológicas y etiológicas del género con la finalidad de un manejo adecuado (Cepeda, 1996).

La especie incógnita del Género *Meloidogyne* conforma, una parte del Phylum Nematoda, pertenecen a la Clase Secernentea, Orden Tylenchida, Superfamilia Heteroderoidea, Familia Heteroderidae; Estas especies son de mucha importancia en los cultivos que afectan, tanto a nivel nacional como internacional (Cepeda, 1996).

Actualmente, se han identificado más de 80 especies de *Meloidogyne* y en Venezuela, se han identificado 8 especies. Las cuáles se presentan en el cultivo de papa y son las siguientes: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. exigua*, *M. hapla*, *M. salasi*, *M. graminis*, *M. mayaguensis* y ocasionalmente se ha reportado *M. arenaria* (Cepeda, 1996).

Especies del género *Meloidogyne* causan importantes daños al cultivo de la papa *Solanum tuberosum* alrededor del mundo. Su efecto puede ser directo al disminuir el rendimiento o indirecto al infectar los tubérculos y causar agallas o protuberancias, que les confiere una apariencia verrugosa, que afecta su calidad y reduce su valor comercial. En capellades y Llano Grande de Cartago, Costa Rica, fueron encontrados tubérculos de papa, de la variedad Floresta y del clon Bananito, con numerosas protuberancias en su superficie (Cepeda, 1996).

En el cultivo de tomate el nematodo *Meloidogyne* también causa muchas pérdidas, es originario de América del Sur, entre las regiones de Chile, Ecuador y Colombia, pero su domesticación se inició en el sur de México y Norte de Guatemala. Las formas silvestres de "tomate cereza", *Lycopersicon esculentum* Var. Cerasiforme, originarias de Perú, migraron a través del Ecuador, Colombia, Panamá

y América Central hasta llegar a México, donde fue domesticado por el hombre (Jaramillo *et al.*, 2007).

El tomate *Lycopersicon esculentum* Var. Cerasiforme, comúnmente llamado pajarito, cherry, o cereza es considerado como el precursor del tomate de mesa (Williams y S.T Clair, 1993) y corresponde a una "maleza". Es originaria de la costa occidental y áreas montañosas de Perú (Fenkins 1948; Rick 1976).

## **Objetivo general**

Evaluar la efectividad biológica, de los diversos productos, concentrados celulares, metabolitos secundarios, concentrados enzimáticos y mezclas de éstos, que son moléculas generalmente sencillas que participan de los caminos metabólicos esenciales en otros casos no esenciales a través de la fermentación y sus microorganismos productores son: hongos, bacterias y levaduras para el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, en el cultivo de papa bajo condiciones de laboratorio y el tomate bajo invernadero representativamente.

## **Justificación**

El presente experimento se planeó con la finalidad, de controlar el problema del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, evaluando la efectividad biológica, de concentrados celulares, mezclas, metabolitos secundarios, mezclas, concentrados enzimáticos y mezclas, en los cultivos de papa y tomate.

## **Hipótesis**

HO; La aplicación de estos productos y subproductos de la fermentación de microorganismos benéficos, promoverán el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, y observaremos cual es el producto de mayor espectro contra este nematodo.

HA; Los concentrados celulares, metabolitos secundarios, concentrados enzimáticos y mezclas de éstos, como son bacterias y hongos, no actuarán como promotores de crecimiento del cultivo papa y tomate, sino que nada más actuarán en su control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*.

## LITERATURA REVISADA

### El Cultivo de la Papa *Solanum tuberosum*

#### Historia

Bukasov (1933) mencionó que existe polémica, que posiblemente nunca se va a dilucidar, es en determinar que parte de este gran continente es su centro de origen. Otro motivo de discusión histórica–científica, es la relación con la introducción de la papa a Europa.

A la llegada de los españoles, la papa existía como un cultivo desarrollado por los pueblos indígenas que habitaban en un archipiélago al sur de Chile llamado Chiloé, al decir de los primeros cronistas con todas las experiencias de ser muy antiguo. En la memoria del pueblo Chiloeño aún existe el recuerdo de papas silvestres que crecían a orillas de playas y de bosques.

Las primeras referencias de la presencia de la papa en Chile, está en las cartas dirigidas al Monarca Carlos V, por el Gobernador Capitán don Pedro de Valdivia (Zapater, 1973) quien dice "que los indios se alimentaban con papas que iban a recoger a las colinas".

#### Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: *Solanum*

Especie: *tuberosum*

## **Botánica y Morfología de la Papa**

### **Hábito de crecimiento**

La papa es una planta herbácea. Su hábito de crecimiento varía entre las Especies y dentro de cada especie.

- Rastrero (Tallos que crecen horizontalmente sobre el suelo).
- Decumbente (Tallos que se arrastran pero que levantan el ápice).
- Semierecto y erecto (Dimitri, 1972).

### **Raíces**

Las plantas de papa pueden desarrollarse a partir de una semilla o de un tubérculo. Cuando crecen a partir de una semilla, forman una delicada raíz axonomorfa con ramificaciones laterales. Cuando crecen de tubérculos, primero forman raíces adventicias en la base de cada brote y luego encima de los nudos en la parte subterránea de cada tallo. Ocasionalmente se forman raíces también en los estolones (Dimitri, 1972).

### **Tallos**

El sistema de tallos de la papa consta de tallos, estolones y tubérculos. Las plantas provenientes de semilla verdadera tienen sólo un tallo principal mientras que las provenientes de tubérculos-semilla pueden producir varios tallos. Los tallos laterales son ramas de los tallos principales (Dimitri, 1972).

### **Estolones**

Morfológicamente descritos, los estolones de la papa son tallos laterales que crecen horizontalmente por debajo del suelo a partir de yemas de la parte subterránea de los tallos (Dimitri, 1972).

### **Tubérculos**

El tubérculo es considerado como una parte del tallo que se ha adaptado para almacenar reservas y para la respiración (Arce, 1996). Este nace en la extremidad de los estolones son cortos, gruesos y carnosos. Desarrollan hojas semejantes a escamas llamadas “cejas”, las cuales rodean las yemas (Edmond, 1981).

## **Hojas**

Estas son de tipo compuesto con varios folíolos opuestos y una grande como terminal (SEP, 1990). Se encuentra en forma de espiral, consistiendo de hojas primarias (terminales y laterales). Alternando con hojas secundarias (Edmond, 19981). Generalmente, según el cultivar, existen 3 o 4 partes de hojas laterales, grandes y ovaladas, con margen serrado; además de la hoja terminal, las hojas secundarias son de tamaño menor (Montaldo, 1984).

## **Flores**

Las flores son pentámeras y los colores son diversos, variando desde el blanco al morado (Arce, 1996). La corola tiene 5 lóbulos. El cáliz es tubular o lobulado. Los estambres son 5, con largas anteras en la parte tubular y convergen alrededor del pistilo. El pistilo consiste de dos carpelos que forman un ovario supero con un solo estilo y un estigma (Campos y Villareal, 1989).

## **Requerimientos Edafoclimáticos**

### **Temperatura**

Se trata de una planta de clima templado-frío, siendo las temperaturas más favorables para su cultivo las que están en torno a 13 y 18°C (Kerh *et al.*, 1967).

Al efectuar la plantación la temperatura del suelo debe de ser superior a los 7°C, con unas temperaturas nocturnas relativamente frescas.

### **Humedad**

La planta de papa necesita una continua provisión de agua durante la etapa de crecimiento. La cantidad total de agua para el cultivo es de aproximadamente 500 mm; durante la primera etapa de desarrollo, la plata requiere de poco agua; pero después, y hasta la cosecha el consumo es mayor. Así mismo, para facilitar la cosecha, el campo debe estar seco; cuando existen deficiencias de agua se provoca una disminución en la producción y hay deformación del tubérculo, por lo

que deben evitarse periodos prolongados de sequias alternadas con humedad, ya que disminuye la calidad del tubérculo (SEP, 1990).

### **Suelo**

Es una planta poco exigente a las condiciones edáficas, sólo le afectan los terrenos compactados y pedregosos, ya que los órganos subterráneos no pueden desarrollarse libremente al encontrar un obstáculo mecánico en el suelo (Kerh *et al.*, 1967).

### **Luz**

La formación de sustancias de tuberización por hojas y tallos depende de la variedad, de la temperatura y la duración de la luz (foto periodo). En días cortos se produce más sustancia de tuberización que en días largos, en los cuales aumenta el crecimiento vegetativo de la papa (Guerrero, 1981).

### **Origen e importancia**

La papa cultivada pertenece a la Familia *Solanaceae*, donde también se encuentra el tomate, ají, pimentón, berenjena, tabaco, petunia, mandrágora, belladona, por nombrar alguna de las más de 2000 especies presentes en esta Familia.

Parte de sus integrantes son denominados como plantas de las "sombras tenebrosas" por su contenido de alcaloides que ha sido utilizada por diversos pueblos aborígenes para maleficios o rituales de "comunicación con espíritus celestiales" (Kerh *et al.*, 1967).

La papa, perteneciente al Género *Solanum*, es americana y su distribución es desde el Sur del Cañón del Colorado, en Estados Unidos de Norteamérica, pasando por todos los países con cordillera andina, hasta los Chonos, en el Sur de Chile. La mayor variabilidad genética de especies se concentra en el área de la meseta Peruano- Boliviana, y de las 183 especies de este género el 74,3% es diploide, el

3,8% es triploide, el 14,8% es tetraploide, el 1,6% es pentaploide y el 5,5% es exaploide (Hawkes, 1992).

Hallazgos arqueológicos en Perú de hace 8,000 años atrás indican uso de la papa por pueblos aborígenes. En Monte Verde, Sur de Chile, hallazgos de 12,000 años atrás indican consumo de papa por pueblos ancestrales (Kerh *et al.*, 1967).

La papa habría sido llevada a Europa en el siglo XVI. Datos indicados por Hawkes (1992) La señalan en cultivo en España alrededor de 1570, y se la indica como proveniente de Perú, vía Cartagena de las Indias a España.

Bukasov (1933) informó que la antigua papa europea tiene su origen en la papa del sur de Chile (Chiloé), por su morfología y respuesta foto periódica.

Diversos investigadores han opinado y aún discuten sobre el origen de la antigua papa europea, sin embargo las variedades generadas alrededor de 1850 hacia adelante, en Europa y Norteamérica, tienen fuerte influencia de variedades nativas de Chile (Kerh *et al.*, 1967).

**Cuadro 1.- producción mundial de papa.**

Producción mundial de papa por región (año 2007)			
Región	Superficie (hectáreas)	Volumen (toneladas)	Rendimiento (ton/ha)
Asia y Oceanía	8 .732. 961	137. 343. 664	15,7
Europa	7. 473. 628	130. 223. 960	17,4
América del Norte	615. 878	25 .345. 305	41,2
África	1. 541. 498	16 .706. 573	10,8
América Latina	963. 766	15. 682. 943	16,3
Total	19 .327. 731	325. 302. 445	16,8

**Asia y Europa** son las principales regiones productoras de papa del mundo y en 2007 suministraron el 80% de la producción mundial. Si bien en África y América Latina las cosechas fueron de un volumen mucho menor, la producción fue extraordinaria. América del Norte fue el primer productor indisputable del continente, con más de 40 toneladas por hectárea (Kerh *et al.*, 1967).

### **Generalidades del Tomate “Var. Cherry”**

El tomate es originario de América del Sur, entre las regiones de Chile, Ecuador y Colombia, pero su domesticación se inició en el sur de México y norte de Guatemala. Las formas silvestres de “tomate cereza”, *Lycopersicon esculentum* Var. Cerasiforme, originarias de Perú, migraron a través del Ecuador, Colombia, Panamá y América Central hasta llegar a México, donde fue domesticado por el hombre (Jaramillo *et al.*, 2007).

El tomate *Solanum lycopersicum* Var. Cerasiforme, comúnmente llamado pajarito, Cherry, o cereza es considerado como el precursor del tomate de mesa (Williams y S.T Clair, 1993) y corresponde a una "maleza". Es originaria de la costa occidental y áreas montañosas de Perú (Jenkins, 1948). Éstos han sido colectados en una amplia gama de nichos ecológicos, los cuales abarcan desde regiones áridas hasta zonas húmedas de la parte este de los Andes, en alturas que van desde los 0 hasta los 2400 msnm correspondiendo los materiales obtenidos en las expediciones de colecta a la categoría de malezas o de variedades de agricultor.

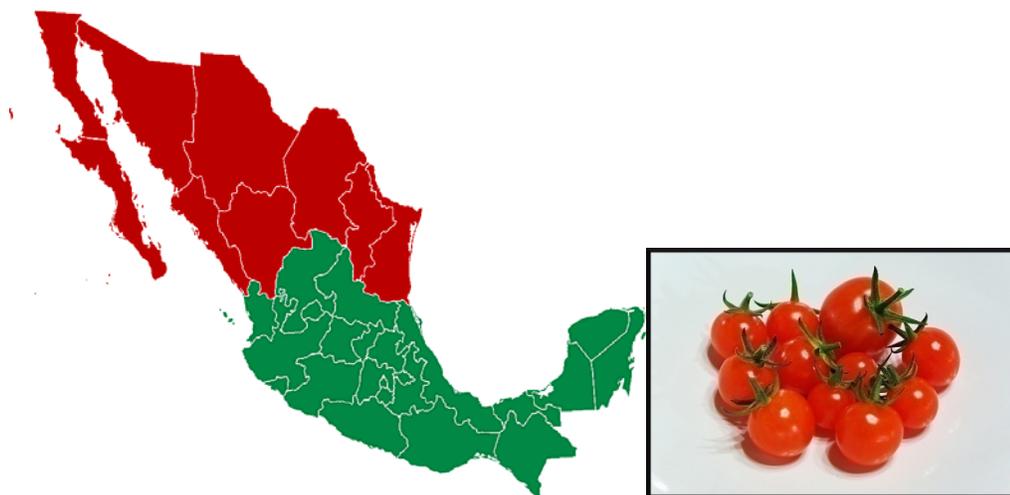
Las plantas de tomate pajarito en condiciones espontáneas, se encuentran generalmente en pequeños grupos que contienen entre 1 y 20 plantas, las cuales tienden a auto fecundarse, pero también se cruzan ocasionalmente con plantas vecinas, y con la especie relacionadas *Solanum pimpinellifolium*. Rick. (1990). Citado por Rick y Holle, (1990). Williams y S.T Clair, (1993). La importancia de *Lycopersicon esculentum*. Var. Cerasiforme radica en que él mismo puede ser utilizado como fuente de genes para los tomates de mesa, para la industria, y

también para el desarrollo de los tomates llamados tipo cereza de amplia aceptación, cuyos frutos se utilizan enteros en las ensaladas (Lobo, 2001).

### Origen del nombre

La palabra tomate procede del náhuatl *tomātl*, 'agua gorda'

En el centro de México se llama «Jitomate». No se confunda con "tomate verde o tomatillo" (*Physalisixocarpa*). El «tomate verde» es más pequeño que el «jitomate» regular y el «tomatillo» es mucho más pequeño que el tomate o el jitomate regular. «Jitomate» proviene del náhuatl *jictli*: 'ombligo' *ytomātl*: 'tomate', que significaba 'tomate de ombligo'). En el Norte y Sur de México, que no son regiones náhuatl, se le llama simplemente «tomate» (no se le agrega el prefijo "ji") a cualquier versión de este fruto.



**Figura 1.** Muestra los nombres del tomate rojo (jitomate/tomate) en México: En rojo se señalan los estados que utilizan la palabra tomate; en verde, aquellos que lo llaman jitomate.

## **Clasificación taxonómica**

Su actual clasificación taxonómica es la siguiente: (Lobo, 2001).

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: *Lycopersicon*

Especie: *esculentum*

## **Botánica y morfología del tomate**

Los tomates tipo Cherry, son claramente diferenciados por su tamaño de otros tipos de tomate y los consumidores han asociado esta característica con su excelente textura, apariencia y características organolépticas.

### **La raíz**

El sistema radical del tomate es superficial y está constituido por la raíz principal (corta y débil), raíces secundarias (numerosas y potentes) y raíces adventicias. En la raíz se encuentra la epidermis, donde se ubican los pelos absorbentes especializados en tomar agua y nutrientes, además el corte y el cilindro central donde se sitúa el xilema (Jaramillo *et al.*, 2007).

## **Tallo**

El tallo principal tiene 2 a 4 cm de diámetro en la base y está cubierto por pelos glandulares y no glandulares que salen de la epidermis; sobre el tallo se van desarrollando hojas, tallos secundarios e inflorescencias. Éste tiene la propiedad de emitir raíces cuando se pone en contacto con el suelo, característica importante que se aprovecha en las operaciones culturales de aporque dándole mayor anclaje a la planta (Jaramillo *et al.*, 2007).

## **Hojas**

Son compuestas imparipinadas con siete a nueve folíolos, los cuales generalmente son peciolados, lobulados y con borde dentado, y recubiertos de pelos glandulares. Las hojas se disponen de forma alternativa sobre el tallo. (Jaramillo *et al.*, 2007).

## **Flor**

Perfecta o hermafrodita, regular e hipógina y consta de cinco o más sépalos y de seis o más pétalos; tiene un pistilo con cinco estambres, unidos en sus anteras y formando un tubo que encierra el pistilo. En algunos casos tienen polinización cruzada (Jaramillo *et al.*, 2007).

## **Polinización**

Existen estudios donde se afirma que las abejas no son las polinizadoras del tomate Cherry, ya que la flor no presenta néctar en sus flores que logre atraer los insectos. Sin embargo, algunas especies de abejas nativas hacen el trabajo de polinizadores, mejorando la producción de frutos. Entre estas nativas tenemos los abejorros y las abejas de barro (Jaramillo *et al.*, 2007).

## **Fruto**

El tomate tipo Cherry posee frutos de tamaño muy pequeño, de 1 a 3 cm de diámetro, con un peso promedio de 10 g, agrupándose en ramilletes de 15 o más

frutos; existen gran variedad de colores tales como amarillos, rojos, rosados y naranjas. Los frutos pueden ser tipo pera o redondo (*Jaramillo et al.*, 2007).

### **Valores nutricionales del tomate Cherry:**

Es un alimento poco energético con una alta concentración de vitaminas, minerales y sustancias antioxidantes.

Compuesto con un 95% de agua, responsable de su bajo valor calórico. También contiene hidratos de carbono, mayoritariamente azúcares simples, que son los responsables de su dulce sabor. Tienen un interesante contenido de minerales como el potasio y el magnesio, fibra, y vitaminas como la C y E, así como también carotenos que le brindan sus cualidades antioxidantes (*Jaramillo et al.*, 2007).

### **El Nematodo Agallador *Meloidogyne* spp.**

El nematodo agallador *Meloidogyne* spp., ha provocado pérdidas muy considerables en algunos terrenos de producción comercial y ha impedido una adaptabilidad de lotes de producción de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.), en Nuevo León y otros estados de la República Mexicana, por lo que se hace necesario el conocimiento más afondo de su biología y sus características epifitológicas y etiológicas del Género con la finalidad de dar un buen manejo adecuado.

Cepeda, (1996) dice que hay una gran importancia para los cultivos de regiones productoras de México, sin embargo existe una gran limitante a su producción y a su comercialización como semilla, la componen la presencia de los nematodos de los cuales existe poca información básica y aplicada se ha generado con finalidad de reducir los daños causados por este nematodo y también detener su dispersión.

### **Antecedentes históricos**

El primer reporte que se conoce sobre el Género *Meloidogyne* fue hecho por Berkeley en 1855, de especímenes recolectados en invernaderos de Inglaterra (Christie 1976).

En 1949 Chitwood, citado por Taylor y Sasser (1983) y Brodie (1984), describió las cuatro especies de *Meloidogyne* más comunes y ampliamente distribuidas en la actualidad: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla* y *M. arenaria*.

A la vez Winslow y Willis (1972) y Hooker (1986), señalaron también a *M. acrita*, *M. ethiopica*, *M. africana*, *M. thamesi* y *M. chitwoodi*.

Triantaphyllou y Hessey (1973), reportaron la dificultad para poder identificar las especies y razas de *Meloidogyne*, señalando que los estudios morfológicos y anatómicos no han sido los suficientes para poder explicar las relaciones dentro del género y que la caracterización morfológica de los individuos descritos no han proporcionado una buena definición objetiva de lo que constituye una especie dentro del mismo género. La identificación de las especies del nematodo agallador, se basa en los patrones perineales y se complementa con la descripción de más de 140 características diferentes que presenta estos nematodos durante su ciclo biológico (Aguilar, 1997).

### **Clasificación taxonómica**

Maggenti *et al.* (1987), mencionaron que el nematodo agallador de la papa pertenece a la siguiente clasificación taxonómica:

Phylum... Nematoda (Rudolphy, 1908)

Clase..... Secernentea (Vonlinstow, 1905 y Dougherty, 1958)

Orden..... Tylenchida (Thorne, 1949)

Suborden.. Tylenchina (Oerly, 1980 y Geraert, 1966)

Superfamilia..Tylenchoidea Orley, 1880

Familia..... Heteroderidae (Filipjev y Schuurmans Stekhoven, 1941)

Subfamilia..... Meloidogyninae (Skarbilovich, 1959)

Género.....*Meloidogyne* (Goeldi, 1887)

### **Especies y razas fisiológicas**

Con respecto a la taxonomía de *Meloidogyne*, Franklin, (1962). Ha en listado 36 especies que fueron identificadas mediante rasgos morfológicos de las hembras y habían reportado 54 especies pertenecientes a este género, número que aumenta aproximadamente a 60 (mas subespecies) (Hirschmann, 1985). Posteriormente se han listado 68 especies del nematodo agallador pero solo pocas de ellas causan serios problemas en el cultivo de la papa (Luc, *et al.*, 1988.; Mac Guidwin, 1993).

La existencia de razas fisiológicas dentro de una especie dada de *Meloidogyne*, no debe descartarse al realizar una caracterización taxonómica de una población de nematodos agalladores. Dropkin (1989) comentó al respecto que una raza fisiológica de un organismo es una población de una especie, de diferente origen geográfica y hábitat, que presenta diferencias en su biología o en su capacidad patogénica sobre determinados hospederos con respecto a otra población de la misma especie.

En el caso de nematodos Fitoparásitos también se debe entender como una población que se distingue de otras de la misma especie por su capacidad de reproducirse en algunos miembros de un conjunto de hospederos usados como discriminadores de una prueba estándar, conocidas como variedades u hospederas indicadoras o diferenciales. Estas diferenciales fisiológicas, expresadas como variación patogénica dentro y entre poblaciones que es común en los nematodos Fitoparásitos, se dan especialmente entre poblaciones de diferente origen geográfico y son el resultado de la selección genética debido a factores ambientales específicos (Cepeda, 1996).

### **Descripción y diagnóstico de *Meloidogyne incognita***

*Meloidogyne incognita* se reproduce básicamente por partenogénesis mitótica con dos formas citológicas, de las cuales la más común es la forma triploide,  $3N= 40-46$ . La forma de la maduración de los oocitos, constituye una característica citológica única, que permite diferenciarla del resto de las especies (Aguilar, 1997).

*Meloidogyne incognita* es un parásito obligado, lo que significa que requiere de una planta hospedera para llevar a cabo su ciclo de vida. Ataca a cientos de plantas de interés comercial y causa pérdidas cuantiosas en la agricultura a nivel mundial. Diversos trabajos han demostrado la relación sinérgica entre *Meloidogyne incognita* y otros patógenos de suelo, tales como hongos y bacterias, en el incremento de la enfermedad. En muchos casos, esta relación causa daños devastadores en el cultivo, y el diagnóstico a nivel de campo se dificulta por tratarse de complejos de enfermedad (Aguilar, 1997).

### **Morfología y anatomía de *M. incognita***

La morfología y anatomía son dos aspectos fundamentales tanto para la identificación de la especie de *M. incognita* como para la comprensión de sus funciones fisiológicas. La forma de los nematodos agalladores cambia durante su ciclo de vida. El primer estadio juvenil se forma al final de la embriogénesis e

inmediatamente muda dentro del huevo, pasando a juvenil de segundo estadio o “estadio infectivo”, llamado así porque es el único capaz de penetrar en la raíz de la planta (Cepeda, 1996).

En esta etapa se considera al nematodo como un ectoparásito y endoparásito migratorio y su longitud es de unas 400 micras y 15 micras de ancho en promedio (Aguilar, 1997).

Los nematodos adultos de género *Meloidogyne* presentan dimorfismo sexual, el macho es filiforme y se considera como ectoparásito y endoparásito migratorio; mide de 1400 micras de largo y 390 micras de ancho en promedio, la hembra se engrosa en forma de pera o limón y se encuentra en las raíces de las plantas, embebida o hundida como endoparásito o semiendoparásito, mide 635 micras de largo y 330 micras de ancho en promedio, su cutícula esta finamente estriada y adopta un modelo característico en la región perineal el cual permite diferenciar a las especies (Esser *et al.*, 1976; Eisenback, 1985).

Los nematodos formadores de nódulos radicales *Meloidogyne* spp. (Nemata: Heteroderidae) son los de mayor importancia económica en la agricultura Costarricense. Dentro de las especies presentes en el país destaca *M. incognita* (Chitwood, 1949, Kofoid y White, 1919 por ser predominante en muchos cultivos, tener una amplia distribución geográfica y causar cuantiosas pérdidas (Perlaza, 1979. ; López y Azofeifa. ; 1981, López, *et al.*, 1984).

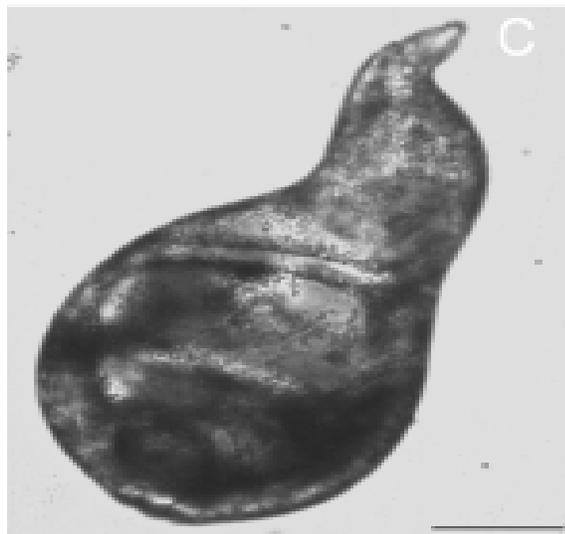
Se requiere de una identificación precisa de la especie de nematodo a combatir para que su aplicación sea exitosa (Taylor y Sasser, 1978).

El microscopio electrónico de rastreo (MER), por su gran profundidad de campo poder de magnificación y versatilidad de movimientos de la plataforma en que son puestos los especímenes para su observación se ha convertido en una

notable herramienta para el estudio de la morfología de estos parásitos (Hirschmann, 1983).

### **Hembra**

*M. incognita* es sexualmente dimorfo. La hembra es de 0.4-1.3 mm. De largo, y por lo general integrada en los tejidos de raíz que a menudo son aumentados. Su cuerpo es suave, la perla blanca en colores y no forma un quiste. El cuello sobresale anteriormente y el poro es anterior al bulbo mediano y a menudo cerca de la base de estilete. Su vulva y ano son terminales, ligeramente levantados del contorno de cuerpo, la cutícula de la región terminal forma una característica perineal, que está compuesto del término de cola impedido, líneas laterales, vulva y ano rodeado por estriado cuticular; el modelo es a menudo la característica para la especie individual. El estilete femenino es más corto, 10-24  $\mu$  m por lo general 14-15  $\mu$  m, y más delicado con pequeñas perillas básicas (Figura 2). Las gónadas apareadas tienen los ovarios extensos intrincados que llenan la mayor parte de la cavidad de cuerpo aumentada. Hay seis glándulas grandes unicelulares rectales en el cuerpo posterior que producen una matriz gelatinosa, que es excretada vía el recto para formar un saco de huevo en el cual muchos huevos son depositados (Cepeda, 1996).



**Figura 2.-** Morfología de hembra adulta de *M. incognita*.

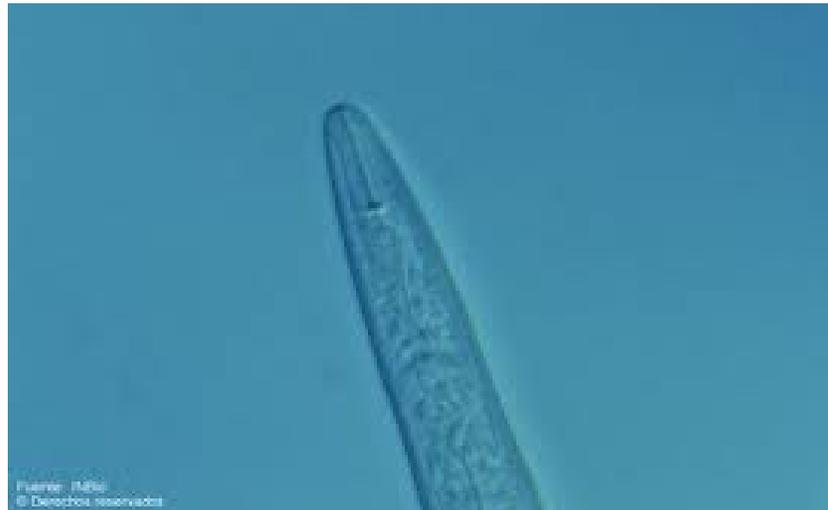
El cuerpo es suave, la perla blanca en colores y no forma un quiste. El cuello sobresale anteriormente y el poro es anterior al bulbo mediano y a menudo cerca de la base de estilete. Su vulva y ano son terminales, ligeramente levantados del contorno de cuerpo, la cutícula de la región terminal forma una característica perineal, que está compuesto del término de cola impedido, líneas laterales, vulva y ano rodeado por estriado cuticular; el modelo es a menudo la característica para la especie individual. El estilete femenino es más corto, 10-24  $\mu$  m por lo general 14-15  $\mu$  m, y más delicado con pequeñas perillas básicas. Las gónadas apareadas tienen los ovarios extensos intrincados que llenan la mayor parte de la cavidad de cuerpo aumentada. Hay seis glándulas grandes unicelulares rectales en el cuerpo posterior que producen una matriz gelatinosa, que es excretada vía el recto para formar un saco de huevo en el cual muchos huevos son depositados (Cepeda, 1996).

### **Macho**

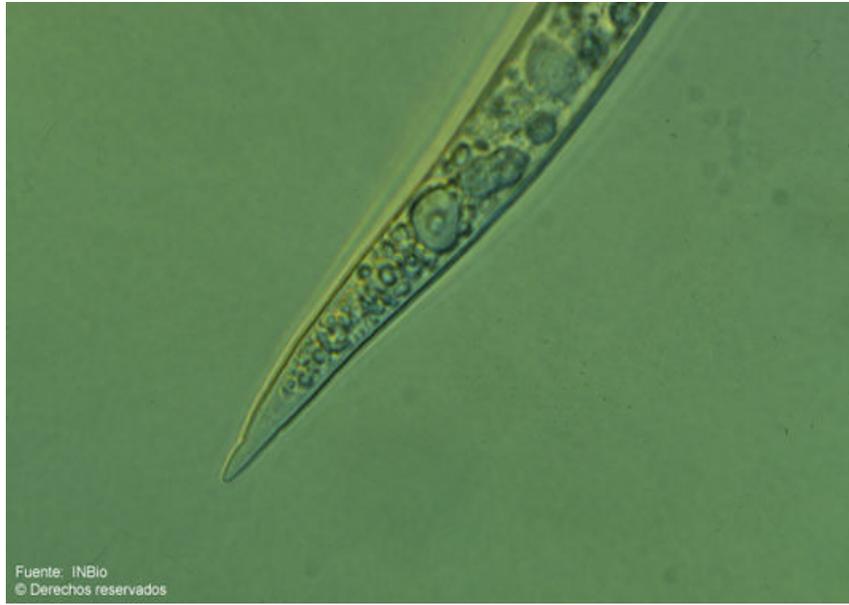
El macho tiene la forma delgada, cilíndrica de un gusano pero la región de labio tiene un gorro distinto delantero, que incluye un disco labial rodeado por labios laterales e intermedios. El esqueleto delantero es por lo general más débil y el estilete menos robusto y más corto, 18-24  $\mu$  m largo para muchas especies. Infecta etapas menores (juveniles), a menudo libres en el suelo, son por lo general 0.3-0.5 mm de largo; ellos son menos robustos, el estilete es delicado con pequeñas perillas básicas, bajo 20  $\mu$  m largos, y el esqueleto delantero débil. Tiene el bulbo bien desarrollado y las glándulas son extensas, superponiendo el intestino para varias anchuras de cuerpo, principalmente el vientre; la cola es el conoide, a menudo acabando en un término estrecho dado la vuelta, pero la longitud de cola es variable, 1.5-7.0 anchuras de cuerpo anales entre la especie, esto a menudo acaba en una región clara, el grado de cual puede ayudar a distinguir la especie. Este nematodo tiene una muy amplia gama de anfitrión. Este puede sobrevivir como huevos inactivos durante unos meses. Temperaturas calientes y suelos arenosos son buenos para su desarrollo (Cepeda, *et al.*, 1991).

### Juveniles en segundo estadio (J<sub>2</sub>)

Longitud total promedio de 405  $\mu\text{m}$ , aunque puede variar de 346 a 463  $\mu\text{m}$ . el disco labial y los labios medios se encuentran fusionados y forman una estructura continua y alargada muy característica cuando es observada en posición frontal. La región anterior de la cabeza es aplanada y la estructura cefálica puede ser lisa o bien tener de 1 a 3 anulaciones completas o incompletas. La longitud del estilete es de 10 a 12  $\mu\text{m}$ . los nódulos del estilete son prominentes, redondeados posteriormente y claramente separados de la columna. En sentido posterior, tanto el ancho del cono como el de la columna aumentan gradualmente. La abertura de la glándula dorsal esofágica (AGDE) está situada a una distancia de 2 a 3  $\mu\text{m}$  posterior a la base de los nódulos. Otras medidas diagnósticas útiles son la longitud promedio de la cola, de 52  $\mu\text{m}$ , y la región hialina de la cola (terminus), de 9  $\mu\text{m}$ . En las Figuras 2 y 3 muestran las posiciones anterior y posterior de los nematodos juveniles (J<sub>2</sub>), (Cepeda, *et al.*, 1991).



**Figura 3.-** Posición de la región anterior del (J<sub>2</sub>) de *Meloidogyne incognita*.



**Figura 4.-** Posición posterior de (J<sub>2</sub>) de *Meloidogyne incognita*.

### **Identificación de juveniles**

Los juveniles pueden ser detectados en muestras de suelo tomadas con pala, o con barrena en la rizosfera de plantas susceptibles; sin embargo, por tratarse de nematodos endoparásitos, las mayores densidades se encuentran en muestras de raíces. El punto específico para la recolección es el área de mayor desarrollo radical de la planta, en los lomillos (surcos) para plantas anuales y en la zona de goteo para cultivos perennes. En general, los muestreos entre los 15 y 30 cm. De profundidad son adecuadas para la determinación de este nematodo (Eisenback, 1985).

### **Ciclo biológico**

En el cultivo de la papa el número anual de generaciones de *M. incognita* varía de acuerdo a la temperatura y humedad; bajo regiones de temperaturas de 26°C a 31 °C el ciclo vital puede cumplirse en cuatro o seis semanas. En este lapso el nematodo pasa por distintas etapas de desarrollo que están asociadas también con su comportamiento infectivo (Agris, 1985).

El ciclo de vida de todas las especies de *Meloidogyne* esencialmente es el mismo (Brodie, 1984), se inicia en un huevo (ovoide – alargado cerca de dos veces más largo que ancho) en estado unicelular, que es depositado por la hembra en el suelo en forma libre o embebidos en una estructura que consiste en una matriz gelatinosa. Esta estructura puede estar adherida a los tejidos de la raíz de la planta o a la hembra, la cual produce de 500 a 1000 huevos (Guiran y Ritter, 1979; Taylor y Sasser, 1983; Brodie, 1984).

### **Etapa pre infectiva**

El desarrollo del cigoto empieza pocas horas después de la ovoposición, hasta que se observa el primer estado larvario o juvenil completamente desarrollado dentro del huevo con un estilete móvil y visible. En estas condiciones el juvenil puede tener cierta movilidad dentro del huevo. Dentro del mismo huevo tiene lugar la primera muda, (Guiran y Ritter, 1979; Taylor y Sasser, 1983; Brodie, 1984).

### **Etapa parasítica**

Aproximadamente 10 días después de la ovoposición tiene lugar la ecdisis del huevo y si las condiciones ambientales son favorables ocurre una muda que da lugar a segundo estadio larval o segundo juvenil (Brodie, 1984), y solo hasta que ocurre la ecdisis o ruptura del huevo, los individuos del segundo estadio que dan libre en el suelo.

La inefectividad del juvenil de segundo estadio está en función de la temperatura ambiental, aireación, humedad, densidad del suelo y la distancia entre el juvenil y la raíz (Griffin y Jorgenson, 1979; Taylor y Sasser, 1983). En esta etapa puede entrar a la raíz (Brodie, 1984), principalmente cerca de la porción distal (zona de actividad meristemática), moviéndose principalmente entre las células no diferenciadas de la misma hasta que introduce su cabeza en el cilindro central de la planta. Estos juveniles inducen la formación de células gigantes de las cuales continúan alimentándose, a través de su estilete, con el que perforan la pared de las células e inyectan secreciones de sus glándulas esofágicas. Dichas secreciones

causan agrandamiento (hipertrofia) de las células en el cilindro vascular y aumentan la proporción de la división celular (hiperplasia) alrededor de la cabeza de la larva, lo que se manifiesta como un engrosamiento de la raíz o tubérculo para formar agallas conspicuas (Guiran y Ritter, 1979).

Cuando se completa la segunda y tercera muda en las hembras juveniles de tercer y cuarto estadio respectivamente, el estilete y el bulbo medio esofágico desaparecen (Mai, 1973. ; Taylor y Sasser, *et al.*, 1983).

### **Fase adulta**

Después de la cuarta muda, en ambos sexos el estilete y el bulbo medio son regenerados y en la hembra se forma un útero, la vagina y el patrón perineal que se hace visible. En los machos después de la segunda muda y tercera muda el estilete no es muy visible, el bulbo medio se ha degenerado y solo las gónadas se han alargado, se completa con el estilete, esófago, bulbo medio, espículas y espermatozoides en los testículos de los machos (Taylor y Sasser, 1983; Hirschman, 1985).

Estudios citológicos han demostrado que muchas especies del Género, *Meloidogyne* se reproducen por partenogénesis, como en el caso de *Meloidogyne incognita*, el sistema reproductivo de esta hembra consiste de dos ovarios, cada uno con una zona de crecimiento, oviducto, espermatóica y útero; los huevos pasan a través de la vagina y son depositados en estado unicelular en la masa de huevos pasan a través de la vagina y son depositados en estado unicelular en la masa de huevos; a esta reproducción se le llama partenogenética (mitótica) y de esta manera se conserva el número diploide de cromosomas, (Taylor y Sasser, 1983; Hirschman, 1985).

### **Ecología**

La especie *M. incognita* representa alrededor del 52% de las especies de *Meloidogyne* que fueron recolectadas en 1981 por el proyectó internacional de la

papa *Meloidogyne* reportadas por Eisenback *et al.* (1981). Esta se presenta en un área geográfica más amplia que las otras especies aproximadamente desde 40 grados de latitud Norte hasta los 33 grados de latitud Sur, en especial en donde el promedio anual de la temperatura es de 18 a 30°C, siendo mayor la prevalencia en áreas donde predomina un rango de temperatura de 24 °C y 27 °C (Hooker, 1986).

La mayoría de los individuos de una población se distribuyen a una profundidad de suelo entre 5 a 30 cm decreciendo paulatinamente su densidad hasta los 100 cm. Existen reportes de *Meloidogyne incognita*, en el cultivo de vid, se encontró a 5 m de profundidad (NAS, 1978).

### **Efecto de temperatura del suelo**

La temperatura afecta la producción, desarrollo y supervivencia de los huevos del nematodo agallador, determinando así su localización y el grado de parasitismo sobre las plantas. Esta especie no sobrevive en suelos con temperatura menores de 10 °C y se restringen altitudes por debajo de los 200 msnm (Griffin y Jorgenson, 1979).

### **Humedad y textura del suelo**

La fluctuación de la humedad del suelo debido a las lluvias o a la irrigación es el factor más importante para la dinámica poblacional de *Meloidogyne incognita*. El exceso de humedad propicia la carencia de oxígeno en el suelo e incrementa las toxinas de los microorganismos anaeróbicos y por el contrario, la ausencia de humedad adecuada en el suelo o la desecación conduce a la inactividad y muerte de esta especie, por lo que las investigaciones han comprobado que la especie es más activa en el suelo con niveles de humedad entre 40 y 60 % de su capacidad de campo (Griffin y Jorgenson, 1979; Jatala, 1986). El factor humedad, la actividad y los movimientos del nematodo en el suelo para alcanzar la raíz se encuentra relacionados con la porosidad y con el movimiento específico del nematodo. Esta especie es más abundante en suelos limo-arenosos que en los arcillosos (Van Gundy, 1985, ; Jatala 1986).

### **Aireación y pH del suelo**

La escasa aireación en el suelo reduce la supervivencia y la densidad poblacional de los nematodos. Este es el caso típico de los suelos con probé irrigación. Bajo condiciones de riego la supervivencia se reduce por que el suministro de oxígeno llega a niveles por debajo de las condiciones óptimas de ventilación para los nematodos (Jatala, 1986).

### **Alimentación**

Organismo fitófago. Cambios en la fisiología de los tejidos afectados arroja como resultado la formación de las células hipertróficas multinucleadas, cuya función es servir de fuente de nutrientes al nematodo. Existe hipertrofia e hiperplasia alrededor del punto de alimentación, síntoma que se manifiesta con la formación de agallas o nódulos radicales (Jatala, 1986).

### **Comportamiento**

Los nematodos en general se mueven muy pocos centímetros al año por sus propios medios; sin embargo, *Meloidogyne* spp. , posee la capacidad de migrar grandes distancias (de 30 a 50 cm.) verticalmente en el perfil del suelo en muy pocos días. Además, puede moverse a través de gradientes de concentraciones (agua y gases) que favorecen su supervivencia y su capacidad de detectar a la planta hospedera (Jatala, 1986).

### **Distribución geográfica de *M. incognita***

Esta especie es la más distribuida del género *Meloidogyne* y prácticamente cosmopolita; se encuentra en zonas climáticas tropicales, subtropicales y mediterráneo en todo el mundo y su distribución se debe a su capacidad de adaptación y al transporte intenso que ha sufrido con diverso material vegetativo, e implementos de maquinaria agrícola (Wilson y Willis, 1972; Sasser, 1977).

En México, *M. incognita* está presente en los estados de Baja California Norte, Coahuila, Durango, Guanajuato, Guerrero, México, Michoacán, Morelos,

Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Sinaloa, Tabasco, Tlaxcala, y Veracruz, en donde ataca principalmente Algodón, Cacahuate, Cafeto, Calabaza, Chayote, Chile, Frijol, Garbanzo, Jitomate, Maíz, Melón, Papa, Papayo, Pepino, Plátano, Sandía, Tabaco, Vid y otros (Montes, 1988).

### **Pérdidas económicas causadas por *M. incognita* en papa**

Las especies de este nematodo que causan daños en papa cultivada, pueden ocasionar la reducción de la producción hasta en un 20 % además de afectar la calidad de los tubérculos que pueden cosecharse (Jatala, 1986). Las pérdidas pueden ser directas por la reducción en rendimiento, o indirectas por la presencia de tubérculos no apetecibles en el mercado y por la restricción para exportar o movilizar los tubérculos dentro del país. Esto último incrementa los costos de producción y aumenta el peligro de llevar la infestación a zonas libres de la especie. En países en desarrollo las pérdidas totales se estima que pueden llegar a representar entre el 25 y el 50 % (Taylor y Sasser, 1983). En México los daños causados han sido evaluados en cafeto, frijol, maíz, papa y tomate; se calculó hace diez años que las pérdidas oscilan entre el 30 y el 100 % dependiendo del cultivo y de la población inicial (Sosa, 1985).

Este nematodo afecta la producción de la papa hasta en un 90 % (Hernández, 1987; Cepeda y Lara, 1988).

### **Efecto de *Meloidogyne* spp., sobre el desarrollo de las plantas**

Las especies de *Meloidogyne* además de causar la formación de células gigantes y agallas que provocan en las raíces y tubérculos muy infestados, el acortamiento y la disminución de raíces laterales y la producción de escasos pelos radicales. Además, al romperse los elementos vasculares en las agallas se interrumpe en forma mecánica el flujo de agua y nutrientes (De la Isla, 1984). El ataque de *M. incognita* induce un aumento en la producción de proteínas en las agallas y un mal funcionamiento de los reguladores de crecimiento entre las raíces tallos. Estos cambios fisiológicos contribuyen a la reducción del crecimiento y

desarrollo de las plantas (Taylor y Saseer, 1983). Las papas cultivadas son en particular muy susceptibles a *M. incognita*, especie que al atacar raíces y tubérculos causa cambios fisiológicos en estos órganos y favorece las invasiones secundarias de hongos, bacterias, virus, otros nematodos y plagas insectiles del suelo (Mai Abawi, 1987).

En la región de Navidad, Municipio de Galeana, Nuevo León, existen áreas bien delimitadas donde la presencia y daño del nematodo agallador ha ocasionado grandes pérdidas. Ante esta situación, los agricultores han realizado diversas actividades con la finalidad de obtener tubérculos libres de nematodos, pero a la fecha, esto ha sido imposible. Desde hace mucho tiempo la presencia de *Meloidogyne* es motivo de una serie de preocupaciones, pues el daño que está ocasionando afecta drásticamente el rendimiento y calidad de las hortalizas (Carrillo, 1989).

### **Métodos de Control de *M. incognita***

En la actualidad se dispone de varios métodos y productos químicos para el control de esta plaga, sin embargo, factores como costo, tipo de cultivo y residualidad o fitotoxicidad de los nematicidas, limitan con frecuencia su control (Agrios, 1985). Estos nematodos incluyen la utilización de ciertas prácticas culturales y rotación de cultivos (Johnson *et al.*, 1985), medidas legales para impedir la introducción y diseminación de especies nocivas (De la Isla, 1984), así como la cuarentena interior permanente No. 17 contra *Globodera rostochiensis* y también contra *Meloidogyne* spp; la producción de semillas que se han adaptado a la región de Navidad, Galeana Nuevo León (Rodríguez, 1973); el uso del control biológico con bacterias (Brown y Smart, 1985), nematodos depredadores (Makau, 1990; Taylor y Sasser, 1983) y hongos (Mankau, 1980; Jatala *et al.*, 1992), variedades resistentes como ciertos clones de papa resistentes a *M. incognita* (CIP, 1988). Y las variedades comerciales como Procura y Marejke (Sosa-Moss, 1985).

El control químico a través del uso de productos fumigantes y no fumigantes sigue siendo el método más ampliamente utilizado (Schmitt, 1985; Thomason, 1985; Hooker, 1986) y pero hace más de diez años se vienen también poniendo en práctica estrategias y métodos menos agresivos para la rizofera de los ecosistemas donde se desarrolla la papa, estos incluyen el combate integrado (Agrios, 1985) (Johnson, *et al.*, 1985; Jatala, 1986) y la solarización (Katan *et al.*, 1987; CIP, 1988).

### **Manejo cultural**

El barbecho es la práctica más importante que se debe de realizar de dos a cuatro semanas durante la estación seca, para exponer a los estadios juveniles a la desecación, principalmente a los que se localizan en la superficie del suelo; alguno de ellos mueren por inanición al evitar también el desarrollo de las malezas que en su mayoría son hospederos naturales de nematodos. Otras prácticas son inundaciones, cultivos de plantas a cobertura, cultivos trampa y rotación de cultivos, las cuales reducen eficientemente las poblaciones de nematodos agalladores (Johnson, *et al.*, 1985; Agrios, 1988).

La rotación de cultivos es la práctica más vieja e importante para el manejo de nematodos en cultivos anuales, se basa principalmente en la resistencia, susceptibilidad o tolerancia de los cultivos a las poblaciones predominantes de *M. incognita* en un área específica; la soya y el maíz se han utilizado experimentalmente en la rotación de cultivos de la papa, así como el frijol, col, tabaco y trigo, con resultados parciales; sin embargo la rotación con gramíneas durante dos a tres años ha dado buenos resultados (Johnson, *et al.*, 1985).

Las variedades resistentes constituyen un método promisorio del control de nematodos. Se han identificado en papa, clones resistentes a *M. incognita* (CIP, 1988).

## **Manejo legal**

El control de nematodos agalladores mediante la regularización de cuarentena, para impedir la introducción y diseminación de un determinado fitopatógeno en áreas conocidas como libres es muy limitado (De la Isla, 1984). La región de Navidad, Municipio de Galeana, Nuevo León, está dentro de la cuarentena interior permanente No 17, contra el nematodo *Globodera rostochiensis* y además contra *Meloidogyne* spp, para la producción de papa para semilla y se prohíbe la introducción y movilización de tubérculos o semilla afectadas por dichos nematodos (Rodríguez, 1973).

## **Alternativas de manejo a través de extractos vegetales**

En los últimos años se han dado nuevas investigaciones en el campo sobre el control de los nematodos, se están analizando nuevas sustancias químicas de productos de extractos vegetales, que cuenten con propiedades para llevar un buen control de nematodos fitoparásitos y que a su vez no perjudiquen la salud humana y animales. A medida que pasa el tiempo aparecen informes sobre algunos productos que ya se encuentran en procesos finales de investigación, así como otros productos que ya han usado con buenas alternativas, para que en el futuro ofrezcan un manejo adecuado de poblaciones de nematodos (Cepeda, 1996).

## **Control microbiano**

### ***Bacillus***

El Género *Bacillus* pertenece a la Familia Bacillaceae, es un Género que hoy en día incluye más de 60 especies de bacilos. Este Género está formado por microorganismos bacilares Gram positivos, formadores de endosporas, quimiheterotrofos que normalmente son móviles y rodeados de flagelos periticos. Son anaerobios o aerobios facultativos son catalasa positivos. Las células bacterianas de este género tienen un amplio tamaño que varía 0,5 a 2,5  $\mu\text{m}$  x 1,2-10  $\mu\text{m}$ . Este género se encuentra comúnmente en suelos y plantas donde tienen un papel importante en ciclo del carbono y el nitrógeno. Son habitantes comunes de

aguas frescas y estancadas, con particularmente activos en sedimentos. (Koneman, 2001).

Taxonómicamente según la segunda Edición del Manual Bergeys (1982), el Género *Bacillus* pertenece a la Familia I Bacillaceae, del Orden I Bacillales de Clase tres Bacilli, del Fylum BXIII Firmicutes del dominio bacteria. En la primera edición del Género es claramente diverso desde el punto de vista fenotípico y genotípico. La diferenciación entre especies del Género *Bacillus* se centró en los resultados en la fermentación de lactosa, sorbitol, manitol, melobiosis, hidrólisis de la urea y descarboxilación de la lisina (Anderson *et al.*, 2003).

Más recientemente, los datos de las secuencias de RNA se han empleado para dividir Géneros de *Bacillus* en al menos cinco líneas diferentes. Entre las especies más representativas del Género *Bacillus* se encuentran *B. alkalophilus*, *B. anthracis*, *B. azotoformans*, *B. brevis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. firmus*, *B. insolitus*, *B. lincheniformis*, *B. polymyxa* y *B. thuringiensis* entre otros. (Bergeys, 1984; Bergeys, 2000).

El género *Bacillus* incluye una importante variedad de especies Gram-positivas, no patogénicas, con propiedades antagonistas. Son buenas secretoras de proteínas y metabolitos, fáciles de cultivar y altamente eficientes para el control de plagas y enfermedades (Berg y Hallmann 2006). Los mecanismos de acción de *Bacillus* spp., incluyen competencia por espacio y nutrientes (Handelsmann y Stabb 1996), antibiosis (Loeffler *et al.*, 1986) e inducción de resistencia (Kloepper y Ryu 2006). Además, tienen comprobado efecto en la promoción de crecimiento de las plantas (Kloepper *et al.*, 2004).

La capacidad de *Bacillus* spp., de formar esporas que sobreviven y permanecen metabólicamente activas bajo condiciones adversas (Rodgers, 1989), las hace apropiadas para la formulación de productos viables y estables para el control biológico. *B. subtilis* es uno de los más eficientes agentes de biocontrol, el cual exhibe actividad antagonista contra varios hongos y bacterias patogénicas.

Este antagonismo se ha atribuido a la producción de antibióticos y a la capacidad de colonización en la planta (Loeffler *et al.*, 1986, McKeen *et al.*, 1986, Bochow y Gantcheva 1995).

Otros productos comercialmente disponibles son: a) *Bacillus subtilis* cepas GB03 y MBI 600, ampliamente utilizadas para el biocontrol de *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Alternaria* y *Aspergillus* spp. b) *Bacillus cereus* BP01, utilizada para la promoción de crecimiento en el cultivo de algodón y c) *Bacillus licheniformis* cepa SB3086, antagonista de gran cantidad de hongos Fitopatógenos (Haas y Défago 2005, EPA 2007). En Cuba, la determinación de la actividad nematocida de *Bacillus thuringiensis* Var. *kurstaki* cepa LBT-3 y su posterior extensión a las áreas agrícolas, fundamentalmente en plátano y banano, ha constituido una importante alternativa de control biológico contra *R. similis* y *M. incognita* (Fernández *et al.*, 2003), permitiendo un significativo ahorro de divisas al disminuir las importaciones de plaguicidas, además de incidir en la protección del medio ambiente. El empleo de la cepa LBT-3 como nematocida biológico ha sido introducido en la práctica productiva, fundamentalmente en la provincia de Camagüey, donde se trataron con este nematocida biológico entre 1997 y el año 2001, un total de 6.790 hectáreas de plátano y banano (Mena *et al.*, 2003).

La acción biocontroladora de *Bacillus brevis* y *Bacillus subtilis* esta mediada por la producción de metabolitos antibióticos capaces de actuar sobre microorganismos de diversa etiología; la antibiosis. Los péptidos que produce y que tiene esta acción son variados y representan un grupo no muy heterogéneo entre sí de metabolitos activos que afectan directamente a algunos Fitopatógenos como *Fusarium oxysporum* (10-15). Se ha reportado desde hace más de siete décadas que *Bacillus brevis* produce gramicidina S (GS). Según Vandamme y Demain (16) en 1976 la gramicidina S (GS) es producto de la expresión de los genes GrsA y GrsB (17), secuencias codificantes de las sintetasas (I y II) con la función de traslocar los aminoácidos en las posiciones específicas dentro del pentapéptido en formación; dos

cadena idéntica de secuencia (DPhe –Lpro –Lval –Lorn -LLeu), el primer aminoácido activado por la sintetasa II y los cuatro restantes por la sintetasa I.

Para considerar que la bacteria sea un biocontrolador del nematodo, su ciclo de vida debe desarrollarse en sincronía con el del nematodo. *Bacillus subtilis*, microorganismo cuyo hábitat natural es el suelo, se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza. Entre sus principales características se encuentra su capacidad para formar esporas en diversas condiciones de estrés, crecer en un intervalo amplio de temperaturas (desde 15 hasta 55 °C), presentar motilidad, aerotaxis y velocidades de crecimiento altas, sobrevivir en concentraciones salinas (hasta el 7% de NaCl), producir una amplia variedad de antibióticos y enzimas hidrolíticas extracelulares (Nakamura *et al.*, 1999). Por otra parte el extracto no celular de *B. subtilis*, se reporta que también tiene un alto grado de propiedades larvicidas sobre nudos y quistes Nematodos.

Fernando de Araujo y col (2009), reportaron que las endotoxinas producidas por *B. subtilis*, intervienen con el ciclo reproductivo de Nematodos, en el estadio de ovulación y eclosión de juveniles, considerando a *B. subtilis*, como supresor del nematodo formador de agallas en cultivo de tomate.

### ***Bacillus thuringiensis***

Es una bacteria Gram positiva que habita en el suelo, y que se utiliza comúnmente como una alternativa biológica al pesticida. También se le puede extraer la toxina Cry y utilizarla como plaguicida. *B. thuringiensis* también aparece de manera natural en el intestino de las orugas de diferentes tipos de polillas y de mariposas, así como en las superficies poco iluminadas de las plantas. Durante la esporulación, muchas cepas de *Bt* producen cristales proteínicos, conocidos como  $\delta$ -endotoxinas, que poseen propiedades insecticidas. Por esta razón se ha empleado la *Bt* como insecticida y, más recientemente, para producir organismos

genéticamente modificados. Sin embargo, existen cepas de *Bt* que producen cristal que no tiene acción insecticida (Berline, 1911).

*Bacillus thuringiensis* Berliner es la bacteria entomopatógena más conocida, estudiada y utilizada como agente de control microbiano. Más del 90% del mercado de bioinsecticidas incluye productos a base de esta bacteria (Glare y O'Callaghan 2000).

En el mundo existen alrededor de 60,000 aislados de *B. thuringiensis*, pertenecientes a colecciones públicas y privadas, lo que revela el interés que existe en la aplicación de esta bacteria como agente de biocontrol (Boucias y Pendland 1998). La actividad nematocida de cepas nativas de *B. thuringiensis* fue observada por Meadows *et ál.* (1990) en huevos de nematodos de vida libre, con un efecto diferencial entre las distintas cepas. A partir de 1992 aparecieron patentes de aplicación de Mycogen Corporation (San Diego, EUA), que refieren el uso de cepas de *B. thuringiensis* como agente biocontrolador de nematodos fitoparásitos (Zuckerman *et al.*, 1995). Otras patentes cubren la clonación de genes de *B. thuringiensis* y su transferencia al genoma de microorganismos y plantas para que se expresen allí y controlen los nematodos susceptibles (August *et ál.*, 1994). Flores *et ál.*, (2000) recomendaron el uso de esta especie para el tratamiento de plantas e incluso animales susceptibles a nematodos. Zuckerman *et ál.*, (1993) aplicaron la bacteria directamente sobre semillas, plantas y suelos, obteniendo resultados promisorios contra *Meloidogyne javanica*, Treuby *Tylenchulus semipenetrans* Cobb; las cepas no causaron fitotoxicidad ni patogenicidad a las plantas tratadas (tomate y plátano) en condiciones semicontroladas y en experimentos de campo. Las formulaciones comerciales que contienen solamente la  $\delta$ -endotoxina han resultado eficaces para el control de *M. javanaica* y *T. semipenetrans* (Leyns *et ál.*, 1995), y Noel (1990) informó sobre los efectos nematostáticos y nematocidas de la  $\beta$ -exotoxina sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) y *Heterodera glycines Ichinohe*. La variabilidad tóxica de los cristales parasporales de *B. thuringiensis* es la que conduce a la bioactividad sobre varios grupos taxonómicos de insectos plagas, que es la más conocida a nivel mundial. A diferencia de las cepas con propiedades insecticidas, no

se ha determinado aún la relación entre caracteres genéticos, patrón de proteínas Cry y morfología de los cristales tóxicos en cepas nematocidas, ni se han establecido procedimientos de selección. Por otra parte, la mayoría de los estudios que demuestran la actividad nematocida de esta bacteria han sido realizados en nematodos de vida libre o zoo nematodos.

### ***Pseudomonas fluorescens***

Es un bacilo Gram-negativo, recto o ligeramente curvado pero no vibrioide, es saprófito, (todo lo que ingiere pasa a través de la pared de su citoplasma). Se puede encontrar en suelo y agua.

Es incapaz de formar esporas y crece aeróbicamente. La temperatura óptima para su funcionamiento es de 25 a 30 °C, aunque puede crecer desde los 5 hasta los 42 °C aproximadamente. No crece bajo condiciones ácidas ( $\text{pH} \leq 4.5$ ) y necesita preferentemente pH neutro. Tiene movimiento activo en líquido por sus flagelos polares (más de 1). Su pigmento fluorescente (fluoresceína) la hace reaccionar frente a la luz ultravioleta, aunque recién cultivada o después de varios cultivos de laboratorio, puede ser que no reaccione.

Las *Pseudomonas* pueden crecer en un medio mineral con iones de amonio o nitrato y un solo compuesto orgánico que funciona como única fuente de carbono y energía. La ganancia energética es obtenida por respiración aeróbica, no por fermentación y su crecimiento es rápido (Migula, 1895).

Las rizobacterias del Género *Pseudomonas* han sido estudiadas como importantes agentes de biocontrol por su capacidad de inhibir el crecimiento de ciertos patógenos, como bacterias, hongos, nematodos y virus, mismos que podrían llegar a reducir considerablemente las cosechas en los cultivos establecidos tanto en invernadero como en campo.

Estos organismos ejercen ciertos mecanismos de acción antagonista que involucran la producción de compuestos bacterianos, como sideróforos, ácido cianhídrico (HCN) y antibióticos (Loper 1988, Hamdan *et al.*, 1991, Mazzola *et al.*

1992, Thomashow y Weller 1995, Haas y Défago 2005, Berg y Hallmann 2006). Además, se ha comprobado que en algunos casos inducen un sistema de resistencia en las plantas que hace que puedan tolerar el ataque de diversos patógenos del suelo (Weller y Cooke 1983, Kloepper y Ryu 2006).

Con relación a la producción de antibióticos, *P. fluorescens* y *P. putida* tienen la capacidad de sintetizar algunos compuestos que causan la muerte de aquellos microorganismos que entren en contacto con ellas (Hamdan *et al.*, 1991). Los sideróforos son producidos por muchos microorganismos para capturar hierro en la rizosfera en condiciones limitantes de este elemento y le dan a *Pseudomonas* la capacidad de tener actividad fungistática y bacteriostática cuando el hierro es bajo (Loper 1988, Haas y Défago 2005).

*P. putida* produce pseudobactina la cual es un tipo de sideróforo que incrementa el antagonismo de *F. oxysporum* no patogénico contra el *F. oxysporum* patogénico, ya que hace a esta raza patogénica más sensitiva a la competencia por glucosa (Alabouvette y Couteaudier 1992). En cuanto al control de nematodos, cepas de *Pseudomonas fluorescens* *P. putida* han demostrado actividad antagonista contra *Radopholus similis* y *Meloidogyne* spp. En banano, maíz y tomate (Becker *et al.*, 1988, Aalten *et al.*, 1998). Un aislamiento endofítico de *P. aeruginosa* produjo compuestos tóxicos in vitro que resultó en alta mortalidad de los estadios juveniles de *M. javanica* (Siddiqui y Ehteshamul-Haque, 2001).

Asimismo, el compuesto 2,4-diacetylphloroglucinol producido por *P. fluorescens* redujo la eclosión de huevos de *M. javanica* (Siddiqui y Shaukat 2003). Nuñez (2006) encontró que aislamientos endofíticos de *Pseudomonas* spp., redujeron significativamente la población de *R. similis* en plantas de banano bajo condiciones de invernadero, en comparación con plantas no tratadas.

### ***Paecilomyces lilacinus***

*Paecilomyces lilacinus*, es el enemigo natural de muchos Géneros de nematodos y algunos insectos como moscas blancas y chinches. Es efectivo para

nematodos de los géneros *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Radopholus*.

Modo de acción: El hongo *P. lilacinus* aplicado en concentraciones mayores a 107 UFC/ml, produce sustancias que actúan sobre los huevos y larvas de los géneros: *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Radopholus*, provocando deformaciones, vacuolizaciones y pérdida de movimiento. Se puede observar vacuolizaciones internas de las larvas del primer estadio, segmentación y gastrulación atípicas. El hongo es capaz de penetrar el huevo, crecer dentro del mismo y destruir el embrión (Obregón, 2005).

Existen hongos como *Trichoderma harzianum*, *Paecilomyces lilacinus*, *Pochonia chlamidospora* y la Micorriza *Vesiculo Arbuscular* (VAM) que afectan los nematodos; así como también plantas con propiedades nematicidas como el Marigold (*Tagetes erecta*) que ayudan a la reducción de las poblaciones de estos organismos en el suelo (NSAIS 2007).

En Puerto Rico, Dávila *et al.*, (1999), identificaron microorganismos con capacidad quitinolítica y los clasificaron como posibles controladores biológicos del nematodo nodulador, *Meloidogyne incognita*. Ellos aislaron dos especies de *Paecilomyces* (*P. lilacinus* y *P. marquandii*), además de otros hongos. Ambas especies han sido reportadas como enemigos naturales de nematodos. Culbreath *etal.* (1986) estudiaron el efecto de la quitina sobre *Meloidogyne* spp. En suelos colonizados por *P. lilacinus*. Los tratamientos con quitina así como con *P. lilacinus*, disminuyeron los valores de agallas y número de larvas por gramo de raíz de tomate. Los resultados señalan que las enmiendas con quitina y *P. lilacinus* son efectivas para combatir a *Meloidogyne* spp.

Stirling (1991), mencionó que han sido numerosos los estudios realizados por más de 15 años que sugieren evidencia de que especies de hongos pertenecientes a los géneros de *Verticillium*, *Fusarium*, *Cylindrocarpon*, *Exophiala*, *Gliocladium*, *Paecilomyces* y *Phoma*, pero particularmente las especies de *V. chlamydosporium*,

*F. solani*, *F. oxysporum* y *P. lilacinus*, regularmente colonizan quistes y huevos de nematodos. Algunos de estos hongos nematófagos han dado muy buenos resultados en el control de nematodos en diferentes cultivos en el ámbito mundial. *Paecilomyces lilacinus* fue observado por primera vez en asociación con huevos de nematodos por Lysek en 1976 (Stirling, 1991). Luego se encontró parasitando huevos de *M. incognita* en Perú en el 1979 (Jatala, 1986). Desde entonces este hongo ha sido asociado al nematodo nodulador y al nematodo del quiste (Stirling, 1991). Khan y Saxena (1997) establecieron que *P. lilacinus* controla efectivamente a *M. javanica* en la India, parasitando hembras y huevos. Además, encontró que la habilidad de *P. lilacinus* controlando el nematodo aumenta cuando este se integra a un material orgánico. Lara-Martes *et al.*, En 1996 realizaron un estudio de campo para demostrar la eficacia de *P. lilacinus* en el control biológico del nematodo nodulador y su rentabilidad en el tomate. El estudio reveló que *P. lilacinus* redujo las poblaciones de *Meloidogyne* spp. En el suelo y en las raíces, parasitó los huevos del nematodo, disminuyó la nodulación radical e incrementó los rendimientos y los beneficios económicos en el cultivo. En condiciones de invernadero, *P. lilacinus* redujo la población de *Rotylenchulus reniformis* en 63% usando 5 g de sustrato de arroz colonizado (Walters y Barker, 1994). La aplicación de *P. lilacinus*, semanas antes de la siembra del pimiento, redujo la población de *R. reniformis* y *M. incognita* y aumentó el rendimiento sin presentar diferencias significativas al compararlo con el tratamiento químico (Vicente y Acosta, 1992). *Paecilomyces lilacinus* actúa como un buen colonizador de raíz y competidor de rizósfera (Chen *et al.*, 2000 b). Se ha comprobado que el pH del suelo está relacionado al efecto de las actividades tóxicas que tienen los hongos en las etapas juveniles de los nematodos. Chen *et al.*, (2000 b) observaron la viabilidad de *Heterodera* spp. Cuando se expone a hongos. Estos informan que una alta producción de la toxina del hongo ocurre a niveles bajos de pH (ácido), afectando las etapas juveniles de los nematodos. Sin embargo, se determinó que el pH no tuvo efecto en la actividad nematicida de *P. lilacinus*.

### ***Beauveria bassiana***

Es causal de las muscardinas blancas, en algunos insectos produce una toxina de muy alto peso molecular que se llama beauvericina. Alrededor del 98% de las esporas son ovales, tienen actividades proteolíticas y es soluble en agua (Kuno *et al.*, 1982).

En Brasil se ha logrado de 85 a 95%, de mortalidad, de similares resultados se logró en África de 50 a 100% de mortalidad, con el uso de los mencionados hongos preparados sobre arroz o fréjol, colocados en trozos de pseudotallo para que los picudos al colonizar caminaran sobre los cultivos del hongo y se infectaran (Nankinga y Tushemereirwe, 2003; Castioneiras *et al.*, 1990).

El hongo *B. bassiana* tiene mayor preferencia de ataque a insectos considerados de importancia económica tales como la broca del café, moscas blancas, picudo negro del banano y plátano entre otros y su distribución está ayudando a regular sus poblaciones sin riesgos de ataque indiscriminado a otros artrópodos (Posada, 1997). Para desarrollar programas de control de insectos plagas mediante hongos entomopatógenos, es necesario obtener formulaciones que conserven sus características biológicas al ser utilizadas en el campo (Alves y Pereira, 1998).

### ***Metarhizium anisopliae***

Es un hongo entomógeno de amplia distribución mundial, que se ha usado en forma intensiva, combinado con insecticidas y prácticas culturales adecuadas, para el control de la "candelilla" de la caña de azúcar (*Aeneolamia varia*). La candelilla causa daños considerables a la industria azucarera venezolana y aunque se han realizado esfuerzos de magnitud para controlar el insecto, solo en pocas ocasiones se había intentado utilizar agentes de control biológico de tipo fungoso.

Insecticida microbial a base de una cepa patogénica del hongo *Metarhizium anisopliae*, el cual es un hongo imperfecto que pertenece a la Subdivisión

Deuteromycotina, Clase Hyphomycetes, 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 (María L, 1895).

*Metarhizium anisopliae* (Metzchnikoff) es el hongo causante de la 'muscardina verde' y se caracteriza por la formación de varias conidias encima del esterigma. Invade por vía oral o cuticular. Los insectos parasitados por este hongo mueren debido a la pérdida de nutrientes y por acción de las toxinas destróxin A y B (Castrillón, 2000).

La colocación sistemática de trampas con pedazos de pseudotallo o de cormo puede ser eficaz para reducir poblaciones de picudos negros adultos, sin embargo, este trabajo es laborioso y a menudo limitado por la disponibilidad de los materiales. También se cree que el saneamiento de los cultivos, o destrucción de los residuos, elimina los refugios y sitios de desarrollo y así se reducen las poblaciones de picudos negros. Actualmente, no existen datos disponibles sobre las relaciones entre los métodos de saneamiento y el estado de la plaga (Gold y Messiaen, 2000). Para reducir las altas poblaciones de picudos, los controles biológicos y microbiológicos pueden integrarse con prácticas culturales y controles manuales o mecánicos (García *et al.*, 1996).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **La papa Bajo Condiciones de Laboratorio**

En cuanto a la evaluación de la efectividad de organismos biológicos, para el control del nematodo agallador *M. incognita* en papa bajo condiciones de laboratorio, se establecieron tres experimentos A (concentrados celulares y mezclas), B (metabólitos secundarios y mezclas) y C (concentrados enzimáticos y mezclas), cada experimento fundamentado en un diseño estadístico de bloques al azar, con 6 tratamientos y 3 repeticiones, las 18 unidades experimentales de cada experimento, quedaron distribuidas en concavidades de material plástico (parecidos a los que se utilizan para realizar pruebas de Elisa) representando cada concavidad una unidad experimental.

### **Obtención del nematodo agallador *Meloidogyne* spp.**

De la producción de papa (*Solanum tuberosum* L.), en las regiones de Navidad, Galena, Nuevo León y Arteaga, Coahuila, del ciclo primavera – verano, se obtuvieron, tubérculos de papa de la Var. Alpha, que presentaban daño a manera de nódulos sobre la corteza, los citados tubérculos, fueron transportados al Laboratorio de Nematología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, y colocados bajo condiciones de medio ambiente del propio Laboratorio, a los citados tubérculos por medio de una navaja de bisturí, se les realizaron cortes longitudinales, desprendiendo de 2 a 3 mm. Parte de la corteza llamada comúnmente cáscara, de la parte obtenida se observó por el lado opuesto y bajo el microscopio estereoscópico, se logró localizar el daño de las células de un color café oscuro y utilizando agujas de disección esterilizadas, se procede a remover el área dañada encontrando la hembra adulta del nematodo agallador *Meloidogyne* spp, y la masa de huevos, éstos son colocados en una frasco plástico graduado que contiene 5 ml. de agua destilada estéril, en seguida se procedió a pasar una cantidad de 25 hembras adultas y masas de huevos., terminado el proceso el frasco se cerró, con una tapa que presenta a manera de círculo un filtro, para permitir la entrada de oxígeno (Cepeda, 1996).

Los frascos con 25 hembras adultas y masas de huevos, se pusieron a reposar bajo condiciones de 27 °C, en una cámara bioclimática por 7 días, para lograr la eclosión de huevos, en seguida se realizó la observación de los organismos y se encontró que los huevos que se localizaban en el interior del ovario de la hembra adulta y los de las masas, habían eclosionado en más del 95 %, por lo que se procedió a realizar la separación de los machos y hembras que habían eclosionado, los cuales fueron colocados en un medio nutritivo de agar – agua , utilizando 20 g de tubérculo de papa en 1.0 Lit. De agua, de este preparado se colocaron 5 ml de la solución en los frascos de plástico con las características ya señaladas, 25 machos y hembras de segundo estadio fueron pasados al medio de agar nutritivo para que los nematodos se mantuvieron alimentados y continuar con las siguientes etapas del experimento (Cepeda, 1996).

### **Identificación del nematodo a nivel de género y especie.**

Con la finalidad de confirmar el Género, se procedió a realizar la identificación bajo los microscopios estereoscópico y compuesto. En base a las claves taxonómicas, se observaron las características morfológicas de la hembra adulta, al realizar cortes perianales se observaron, la presencia de la región del ano y vulva, así como las líneas anales y bulbares y la cresta (Cepeda, 1996).

Para la identificación de la especie, se procedió a realizar cortes perianales de varias hembras adultas, bajo el microscopio estereoscópico, obteniendo la parte donde se ubica la región del ano y vulva y sus respectivas líneas, el tejido obtenido fue lavado en una caja Petri con 5 ml. de agua destilada estéril, posteriormente el tejido se colocó a un portaobjeto liso, donde se encuentra colocada una gota de lactofenol y azul colorante, se procedió a colocar un cubre objeto y se selló con esmalte, la monta obtenida se pasó al microscopio compuesto y fue observada bajo los objetivos de 40, 60 y 100 X, se realizó la observación de la ubicación de la abertura del ano y vulva, la distribución de las líneas anales y bulbares, la distancia

entre ano y vulva en micras, la medición del diámetro del ano y la vulva, así como la distribución y forma de las líneas bulbares y contorno de la cresta, la distribución de las líneas longitudinales y por medio de comparaciones con diagramas y fotografías de microscopio, se procedió a definir la especie., en la observación realizada a las hembras se logró identificar a la especie *M. incognita*, por lo que en la presente investigación se utilizará como organismo en estudio el nematodo agallador *Meloidogyne incognita* (Cepeda, 1996).

### **Identificación de segundo estadio de *Meloidogyne incognita***

Los organismos de segundo estadio machos y hembras, fueron colocados de manera independiente en montajes semipermanentes, colocando en un porta objeto liso, una gota de lactofenol y azul colorante, los nematodos se pasaron con la ayuda de una aguja de disección de la solución de agar – agua al porta objeto, en seguida se procedió a colocar un cubre objeto y sellar con esmalte, la monta obtenida fue pasada al microscopio compuesto para observar con los objetivos de 40, 60 y 100 X, observando las estructuras de la región cefálica, longitud del estilete, estomodeo, mesenterón y proctodeo, revisando las claves de identificación, se confirmó que los organismos corresponden a la especie *incognita* (Cepeda, 1996).

### **Establecimiento de cada uno de los Experimentos**

Para el establecimiento de cada uno de los experimentos, se procedió a colocar en cada una de las 18 concavidades, 0.45 ml de agua destilada estéril y 25 +- 4 (machos y hembras de J<sub>2</sub>), del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* (el cual fue identificado previamente), a continuación se procedió a colocar dentro de la concavidad cada uno de los tratamientos, descritos en el Cuadro 1, después de 24 horas, se procedió a obtener de la concavidad por medio de una pipeta la solución (nematicida + agua + nematodos), la cual se pasó a un vidrio de reloj, el cual fue colocado bajo el microscopio estereoscópico, para realizar el conteo de nematodos y obtener los datos de población final, del número de nematodos vivos y muertos, y

así poder definir el producto y dosis, que presenta los mejores resultados, en base al análisis estadístico y porcentaje de mortalidad(Cepeda, 1996).

Los tratamientos se aplicaron bajo las dosis que se describen a continuación.

### Experimento A

(Concentrados celulares y mezclas) para el Género *Meloidogyne incognita*.

**Cuadro 2.-** Descripción de los tratamientos utilizados.

Tratamiento	Nematicidad	Dosis
1	Concentrado celular <i>Bacillus sp.</i>	0.45 ml
2	Concentrado celular <i>Bacillus thuringiensis</i>	0.45 ml
3	Concentrado celular <i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.45 ml
4	Concentrado celular <i>Paecilomyces lilacinus</i>	0.45 ml
5	mezcla de 1+2+3+4	0.45 ml
6	testigo – agua	0.45 ml

## Experimento B

(Metabólitos secundarios y mezclas) para el Género *Meloidogyne incognita*

**Cuadro 3.-** Descripción de los tratamientos utilizados.

Tratamiento	Nematicidad	Dosis
1	Concentrado celular <i>Bacillus</i> sp.	0.45 ml
2	Concentrado celular <i>Bacillus thuringiensis</i>	0.45 ml
3	Concentrado celular <i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.45 ml
4	Concentrado celular <i>Paecilomyces lilacinus</i>	0.45 ml
5	Mezcla de 1+2+3+4	0.45 ml
6	testigo – agua	0.45 ml

## Experimento C

(Concentrado enzimático y mezclas) para el Género *Meloidogyne incognita*.

**Cuadro 4.**- Descripción de los tratamientos utilizados.

Tratamiento	Nematicida	Dosis
1	Concentrado enzimático de quitinasas de <i>Beauveria bassiana</i>	0.45 ml
2	Concentrado enzimático de quitinasas de <i>Metarhizium anisopliae</i>	0.45 ml
3	Concentrado enzimático de proteasas de <i>Beauveria bassiana</i>	0.45 ml
4	Concentrado enzimático de proteasas de <i>Metarhizium anisopliae</i>	0.45 ml
5	Mezcla de 1+2+3+4	0.45 ml
6	testigo – agua	0.45 ml

## Tomate Bajo Condiciones de Invernadero

En cuanto a la evaluación de la efectividad de organismos biológicos para el control del nematodo agallador *M. incognita* en tomate bajo condiciones de invernadero, se establecieron tres experimentos **A) (Concentrados Celulares y Mezclas)**, **B) (Metabólitos Secundarios y Mezclas)** y **C) Concentrados Enzimáticos y Mezclas)**, bajo condiciones de invernadero, cada experimento fundamentado en un diseño estadístico de bloques al azar, con 6 tratamientos y 3 repeticiones, las 18 unidades experimentales de cada experimento, quedaron distribuidas en vasos de nieve seca de 200 ml de capacidad, representando cada vaso una unidad experimental.

Para la obtención del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, se realizó la siguiente metodología, con la finalidad de obtener juveniles machos y hembras - hembras adultas viables para el desarrollo del experimento.

De la producción de papa *Solanum tuberosum L.*, en la regiones de Navidad Galena, Nuevo León y Arteaga, Coahuila, del ciclo primavera – verano, se obtuvieron, tubérculos de papa de la Var. Alpha, que presentaban daño a manera de nódulos sobre la corteza del citado tubérculo, los cuales fueron transportados al laboratorio de Nematología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, y colocados bajo condiciones de medio ambiente del propio laboratorio, a los citados tubérculos por medio de una navaja de bisturí, se les realizaron cortes longitudinales, desprendiendo de 2 a 3 mm. Parte de la corteza llamada comúnmente cáscara, de la parte obtenida se observó por el lado opuesto y bajo el microscopio estereoscópico, se logró localizar el daño de las células de un color café oscuro y utilizando agujas de disección esterilizadas, se procede a remover el área dañada encontrando la hembra adulta del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*. Y la masa de huevos, estos son colocados en una frasco plástico graduado que contiene 5 ml. de agua destilada estéril, en seguida se procede a pasar una cantidad de 25 hembras adultas y masas de huevos, terminado el proceso el frasco se cierra, con

una tapa que presenta a manera de círculo un filtro, para permitir la entrada de oxígeno (Cepeda, 1996).

Los frascos con 25 hembras adultas y masas de huevos, se ponen a reposar bajo condiciones de 27 °C, en una cámara bioclimática por 7 días, para lograr la eclosión de huevos, en seguida se realizó la observación de los organismos y se encontró que los huevos que se localizaban en el interior del ovario de la hembra adulta y los de las masas, habían eclosionado en más del 95 %, por lo que se procedió a realizar la separación de los machos y hembras que habían eclosionado, los cuales son colocados en un medio nutritivo de agar – agua , utilizando 20 g de tubérculo de papa en 1.0 Lit. de agua, de este preparado se colocan 5 ml de la solución en los frascos de plástico con las características ya señaladas, 25 machos y hembras de segundo estadio son pasados al medio nutritivo para que los nematodos se mantengan alimentados y continuar con las siguientes etapas del experimento (Cepeda, 1996).

#### **Identificación del nematodo a nivel de género y especie.**

Con la finalidad de confirmar el género, se procedió a realizar la identificación bajo los microscopios estereoscópico y compuesto. En base a las claves taxonómicas, se observaron las características morfológicas de la hembra adulta, al realizar cortes peri anales se observaron, la presencia de la región del ano y vulva, así como las líneas anales y bulbares y la cresta (Cepeda, 1996).

para la identificación de la especie, se procedió a realizar cortes perianales de varias hembras adultas, bajo el microscopio estereoscópico, obteniendo la parte donde se ubica la región del ano y vulva y sus respectivas líneas, el tejido obtenido es lavado en una caja Petri que contiene 5 ml. de agua destilada estéril, posteriormente el tejido se pasa a un portaobjeto liso, donde se encuentra colocada una gota de lacto fenol y azul colorante, se procede a colocar un cubre objeto y se sella con esmalte, la monta obtenida se pasa al microscopio compuesto y es observada bajo los objetivos de 40, 60 y 100 X., se realiza la observación de la

ubicación de la abertura del ano y vulva, la distribución de las líneas anales y bulbares, la distancia entre ano y vulva en micras, la medición del diámetro del ano y la vulva, así como la distribución y forma de las líneas bulbares y contorno de la cresta, la distribución de las líneas longitudinales y por medio de comparaciones con diagramas y fotografías de microscopio, se procede a definir la especie., en la observación realizada a las hembras se logró identificar a la especie *incognita*., por lo que en la presente investigación se utilizará como organismo a estudio el nematodo agallador *Meloidogyne incognita* (Cepeda, 1996).

### **Identificación de segundo estadio de *Meloidogyne incognita*.**

Los organismos de segundo estadio machos y hembras, fueron colocados de manera independiente en montajes semipermanentes, colocando en un porta objeto liso, una gota de lacto fenol y azul colorante, los nematodos se pasan con la ayuda de una aguja de disección de la solución de agar – agua al porta objeto, en seguida se procede a colocar un cubre objeto y sellar con esmalte, la monta obtenida es pasada al microscopio compuesto para observar con los objetivos de 40, 60 y 100 x, observando las estructuras de la región cefálica, longitud del estilete, estomodeo, mesenteron y proctodeo, revisando las claves de identificación, se confirma que los organismos pertenecen a la especie *incognita* (Cepeda, 1996).

### **Establecimiento de cada uno de los experimentos en invernadero:**

Como se menciona cada experimento, quedo representado por 6 tratamientos y 3 repeticiones, dando un total de 18 unidades experimentales, se utilizaron vasos de plástico los cuales fueron marcado por experimento, tratamiento y repetición, en los vasos se colocaron 50 g de peat mose, depositando suficiente agua destilada para humedecer el sustrato, en cada unidad experimental se sembraron 2 semillas de tomate de la Var. Cherry, a las cuales continuo agregando agua para provocar la germinación, las plantas emergidas alcanzaron una altura de 10 cm con 4 hojas, en cada unidad experimental se colocaron 25 +- 4 (machos y hembras de J<sub>2</sub>), del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* (el cual fue identificado previamente).

Una vez establecido el nematodo a los 10 días se procedió a colocar dentro del vaso, cada uno de los tratamientos, descritos en el Cuadro 1, los experimentos permanecieron bajo condiciones de invernadero por 60 días, y las plantas de tomate alcanzaron una altura promedio de 45 cm, en seguida se procede a obtener del vaso o sea de cada unidad experimental, la planta y el suelo, de este colocan 100 g en el embudo de Baerman, se dejan transcurrir 48 horas y se obtiene la solución (nematicida + agua + nematodos), la cual se pasa a un vidrio de reloj, el cual es colocado bajo el microscopio estereoscópico, para realizar el conteo de nematodos y obtener los datos de población final, del número de nematodos vivos y muertos, y así poder definir el producto y dosis, que presenta los mejores resultados, en base al análisis estadístico y porcentaje de mortandad(Cepeda, 1996).

Los tratamientos se aplicaron bajo las siguientes dosis que se describen a continuación.

### Experimento A.

(Concentrados celulares y mezclas) para el Género *Meloidogyne incognita*.

**Cuadro 5.-** Descripción de los tratamientos utilizados.

Tratamiento	Nematicidad	Dosis
1	Concentrado celular <i>Bacillus sp.</i>	0.45 ml
2	Concentrado celular <i>Bacillus thuringiensis</i>	0.45 ml
3	Concentrado celular <i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.45 ml
4	Concentrado celular <i>Paecilomyces lilacinus</i>	0.45 ml

5	mezcla de 1+2+3+4	0.45 ml
6	testigo – agua	0.45 ml

### Experimento B

(Metabólitos secundarios y mezclas) para el Género *Meloidogyne incognita*

**Cuadro 6.-** Descripción de los tratamientos utilizados.

Tratamiento	Nematicidad	Dosis
1	Concentrado celular <i>Bacillus</i> sp.	0.45 ml
2	Concentrado celular <i>Bacillus thuringiensis</i>	0.45 ml
3	Concentrado celular <i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.45 ml
4	Concentrado celular <i>Paecilomyces lilacinus</i>	0.45 ml
5	mezcla de 1+2+3+4	0.45 ml
6	testigo – agua	0.45 ml

## Experimento C

(Concentrado enzimático y mezclas) para el Género *Meloidogyne incognita*.

**Cuadro 7.-** Descripción de los tratamientos utilizados.

Tratamiento	Nematicida	Dosis
1	Concentrado enzimático de quitinasas de <i>Beauveria bassiana</i>	0.45 ml
2	Concentrado enzimático de quitinasas de <i>Metarhizium anisopliae</i>	0.45 ml
3	Concentrado enzimático de proteasas de <i>Beauveria bassiana</i>	0.45 ml
4	Concentrado enzimático de proteasas de <i>Metarhizium anisopliae</i>	0.45 ml
5	Mezcla de 1+2+3+4	0.45 ml
6	testigo – agua	0.45 ml

## RESULTADOS

### Resultados Obtenidos en Papa bajo Condiciones de Laboratorio

Los resultados obtenidos relacionados con la evaluación de la efectividad de organismos biológicos, para el control del nematodo agallador *M. incognita*, en papa bajo condiciones de laboratorio fueron los siguientes:

#### Resultados obtenidos del experimento (A)

Resultados de la población inicial de los nematodos filiformes machos y hembras de J<sub>2</sub> de *M. incognita*.

Con la finalidad de conocer la población inicial, al momento de la instalación del experimento y apegado a la metodología, los resultados obtenidos se presentan a continuación, en base a una media aritmética de cada uno de los tratamientos.

**Cuadro 8.-** Población inicial de *Meloidogyne incognita* en base a la media aritmética, de cada uno de los tratamientos.

Tratamiento	Nematodos del Género <i>Meloidogyne incognita</i>	Comparación estadística
1	25.00000	A
2	25.66666	A
3	24.66666	A
4	25.00000	A
5	25.33334	A
6	26.00000	A

Lo anterior nos indica, que la población inicial del citado nematodo es considerada como homogénea, existiendo una población igual en los 6 tratamientos.

### **Resultados obtenidos del experimento B**

Resultados de la población inicial de los nematodos filiformes machos y hembras de estado J<sub>2</sub> de *M. incognita*:

Con la finalidad de conocer la población inicial, al momento de la instalación del experimento y apegado a la metodología, los resultados obtenidos se presentan a continuación, en base a una media aritmética de cada uno de los tratamientos.

**Cuadro 9.-** Población inicial del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* en base a la media aritmética, de cada uno de los tratamientos.

Tratamiento	Nematodos del Género <i>Meloidogyne incognita</i>	Comparación estadística
1	26.00000	A
2	25.33334	A
3	25.00000	A
4	26.00000	A
5	25.00000	A
6	26.33333	a

Lo anterior nos indica, que la población inicial del citado nematodo es considerada como homogénea, existiendo una población igual en los 6 tratamientos.

### Resultados obtenidos del experimento C

Resultados de la población inicial de los nematodos filiformes machos y hembras de estado J<sub>2</sub> de *M. incognita*.

Con la finalidad de conocer la población inicial, al momento de la instalación del experimento y apegado a la metodología, los resultados obtenidos se presentan a continuación, en base a una media aritmética de cada uno de los tratamientos.

**Cuadro 10.-** Población inicial del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, en base a la media aritmética, de cada uno de los tratamientos.

Tratamiento	Nematodos del Género <i>Meloidogyne incognita</i>	Comparación estadística
1	26.00000	A
2	24.33334	A
3	25.33333	A
4	25.33334	A
5	27.00000	A
6	26.33334	A

Lo anterior nos indica, que la población inicial del citado nematodo es considerada como homogénea, existiendo una población igual en los 6 tratamientos.

### Resultados obtenidos del experimento A

Resultados de la población final de los nematodos filiformes machos y hembras de J<sub>2</sub> de *M. incognita*.

Con la finalidad de conocer la población final y apegada a la metodología, los resultados obtenidos se presentan a continuación, en base a una media aritmética de cada uno de los tratamientos.

**Cuadro 11.-** Población final del nematodo agallado *Meloidogyne incognita*, en base a la media aritmética, de cada uno de los tratamientos.

Tratamiento	Nematodos del Género <i>Meloidogyne incognita</i>	Comparación estadística
6	25.66667	a
3	3.0000	b
4	3.0000	b
5	3.0000	b
2	3.0000	b
1	2.6666	b

Tukey = 3.0030

Valores de tablas (0.05), (0.01) = 4.51, 5.84

Nivel de significancia = 0.05

Lo anterior nos indica, que en la población final, del citado nematodo, existe diferencia entre los tratamientos y el testigo.

### **Resultados obtenidos del experimento B**

Resultados de la población final de los nematodos filiformes machos y hembras de J<sub>2</sub> de *M. incognita*:

Con la finalidad de conocer la población final, y apegado a la metodología, los resultados obtenidos se presentan a continuación, en base a una media aritmética de cada uno de los tratamientos.

**Cuadro 12.-** Población final del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, en base a la media aritmética, de cada uno de los tratamientos.

Tratamiento	Nematodos del Género <i>Meloidogyne incognita</i>	comparación estadística
6	26.33333	a
5	3.6667	b
1	3.6667	b
4	3.0000	b
3	2.6666	b
2	2.6666	b

Tukey = 14.98

Nivel de significancia 4.95 = (0.05)    6.43 = (0.01)

Lo anterior nos indica, que en la población final del citado nematodo, existe una diferencia entre los tratamientos y el testigo.

### **Resultados obtenidos del experimento C**

Resultados de la población final de los nematodos filiformes machos y hembras de segundo estado juvenil de *M. incognita*:

Con la finalidad de conocer la población final y apegada a la metodología, los resultados obtenidos se presentan a continuación, en base a una media aritmética de cada uno de los tratamientos.

**Cuadro 13.-** Población final del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, en base a la media aritmética, de cada uno de los tratamientos.

Tratamiento	Nematodos del Género <i>Meloidogyne incognita</i>	Comparación estadística
6	26.00000	A
3	3.3333	B
1	2.6666	B
4	2.6666	B
2	2.6666	B
5	2.3333	B

Tukey = 2.419

Nivel de significancia 4.93 = (0.05), 6.43 = (0.01)

Lo anterior nos indica, que en la población final del citado nematodo, existe diferencia entre el testigo y los tratamientos evaluados.

### **Resultados Obtenidos en Tomate bajo Condiciones de Invernadero**

Los resultados obtenidos relacionados con la evaluación de la efectividad de organismos biológicos, para el control del nematodo agallador *M. incognita* en tomate, bajo condiciones de invernadero fueron los siguientes:

### **Resultados obtenidos del experimento A.**

Resultados de la población inicial de los nematodos filiformes machos y hembras de segundo estado juvenil de *M. incognita*:

Con la finalidad de conocer la población inicial, al momento de la instalación del experimento y apegado a la metodología, los resultados obtenidos se presentan a continuación, en base a una media aritmética de cada uno de los tratamientos.

**Cuadro 14.**-Población inicial del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, en base a la media aritmética, de cada uno de los tratamientos.

Tratamiento	Nematodos del género <i>Meloidogyne incognita</i>	Comparación estadística
1	25.00000	A
2	25.66666	A
3	24.66666	A
4	25.00000	A
5	25.33334	A
6	26.00000	A

Lo anterior nos indica, que la población inicial del citado nematodo es considerada como homogénea, existiendo una población igual en los 6 tratamientos.

### **Resultados obtenidos del experimento B.**

Resultados de la población inicial de los nematodos filiformes machos y hembras de J<sub>2</sub> de *M. incognita*:

Con la finalidad de conocer la población inicial, al momento de la instalación del experimento y apegado a la metodología, los resultados obtenidos se presentan a continuación, en base a una media aritmética de cada uno de los tratamientos

**Cuadro 15.-**Población inicial del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* en base a la media aritmética de cada uno de los tratamientos.

Tratamiento	Nematodos del Género <i>Meloidogyne incognita</i>	Comparación estadística
1	26.00000	A
2	25.33334	A
3	25.00000	A
4	26.00000	A
5	25.00000	A
6	26.33333	A

Lo anterior nos indica, que la población inicial del citado nematodo es considerada como homogénea, existiendo una población igual en los 6 tratamientos.

### **Resultados obtenidos del experimento C.**

Resultados de la población inicial de los nematodos filiformes machos y hembras de  $J_2$  de *M. incognita*:

Con la finalidad de conocer la población inicial, al momento de la instalación del experimento y apegado a la metodología, los resultados obtenidos se presentan a continuación, en base a una media aritmética de cada uno de los tratamientos

**Cuadro 16.-** Población inicial del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* en base a la media aritmética, de cada uno de los tratamientos.

Tratamiento	Nematodos del Género <i>Meloidogyne incognita</i>	Comparación estadística
1	26.00000	A
2	24.33334	A
3	25.33333	A
4	25.33334	A
5	27.00000	A
6	26.33334	A

Lo anterior nos indica, que la población inicial del citado nematodo es considerada como homogénea, existiendo una población igual en los 6 tratamientos.

### **Resultados obtenidos del experimento A.**

Resultados de la población final de los nematodos filiformes machos y hembras de segundo estado juvenil de *M. incognita*:

Con la finalidad de conocer la población final y apegada a la metodología, los resultados obtenidos se presentan a continuación, en base a una media aritmética de cada uno de los tratamientos.

**Cuadro 17.-** Población final del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* en base a la Media aritmética, de cada uno de los tratamientos.

Tratamiento	Nematodos del Género <i>Meloidogyne incognita</i>	Comparación estadística
6	25.66667	A
3	3.0000	B
4	3.0000	B
5	3.0000	B
2	3.0000	B
1	2.6666	B

Tukey = 3.0030

Valores de tablas (0.05), (0.01) = 4.51, 5.84

Nivel de significancia = 0.05

Lo anterior nos indica, que en la población final, del citado nematodo, existe diferencia entre los tratamientos y el testigo.

### **Resultados obtenidos del experimento B.**

Resultados de la población final de los nematodos filiformes machos y hembras de  $J_2$  de *M. incognita*:

Con la finalidad de conocer la población final, y apegado a la metodología, los resultados obtenidos se presentan a continuación, en base a una media aritmética de cada uno de los tratamientos

**Cuadro 18.**-Población final del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, en base a la media aritmética, de cada uno de los tratamientos.

Tratamiento	Nematodos del Género <i>Meloidogyne incognita</i>	Comparación estadística
6	26.33333	A
5	3.6667	B
1	3.6667	B
4	3.0000	B
3	2.6666	B
2	2.6666	B

Tukey = 14.98

Nivel de significancia 4.95 = (0.05)    6.43 = (0.01)

Lo anterior nos indica, que en la población final del citado nematodo, existe una diferencia entre los tratamientos y el testigo.

### **Resultados obtenidos del experimento C.**

Resultados de la población final de los nematodos filiformes machos y hembras de segundo estado juvenil de *M. incognita*:

Con la finalidad de conocer la población final y apegada a la metodología, los resultados obtenidos se presentan a continuación, en base a una media aritmética de cada uno de los tratamientos

**Cuadro 19.-** Población final del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, en base a La media aritmética, de cada uno de los tratamientos.

Tratamiento	Nematodos del Género <i>Meloidogyne incognita</i>	Comparación estadística
6	26.00000	A
3	3.3333	B
1	2.6666	B
4	2.6666	B
2	2.6666	B
5	2.3333	B

Tukey = 2.419

Nivel de significancia 4.93 = (0.05), 6.43 = (0.01)

Lo anterior nos indica, que en la población final del citado nematodo, existe diferencia entre el testigo y los tratamientos evaluados.

## DISCUSIÓN

Después de obtener los resultados observamos, tanto en papa bajo condiciones de laboratorio y en tomate bajo invernadero, que en el tratamiento 1 del experimento (A) *Bacillus* sp., *Bacillus thuringiensis* y *Pseudomonas fluorescens*, obtuvieron un excelente control de *Meloidogyne incognita*.

En el tratamiento 2 del experimento (B), en papa bajo condiciones de laboratorio y en tomate bajo invernadero. Los mejores resultados los obtuvieron, *Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus* sp.

Corroborando con (Fernández *et al.*, 2003), la determinación de la actividad nematicida de *Bacillus thuringiensis*, para el control biológico de *Radopholus similis* y *Meloidogyne incognita*.

También coincidimos con Fernando de Araujo y Col., (2009), reportaron que las endotoxinas producidas por *Bacillus subtilis*, intervienen con el ciclo reproductivo de Nematodos, en el estadio de ovulación y eclosión de juveniles, considerando a *B. subtilis*, como supresor del nematodo formador de agallas en cultivo de tomate.

En estos resultados también coincidimos con las cepas de *Pseudomonas fluorescens* y *P. putida*, han demostrado actividad antagonista contra *Radopholus similis* y *Meloidogyne* spp. En banano, maíz y tomate (Becker *et a.*, 1988, Aalten *et al.*, 1998).

En el tratamiento 3 del experimento (C), en papa bajo condiciones de laboratorio y en tomate bajo invernadero, realmente se observaron los mejores resultados, con mezclas de concentrado enzimático de quitinasas de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* y mezclas con concentrado enzimático de proteasas de *Beauveria Bassiana* y proteasas de *Metarhizium anisopliae* fueron una excelente combinación para el control biológico de *Meloidogyne incognita*.

En el tratamiento 3 del experimento (C) en papa, bajo condiciones de laboratorio y en tomate bajo invernadero, se observó que el concentrado enzimático de quitinasas de *Beauveria bassiana*, también bajo las poblaciones de *Meloidogyne incognita* con un excelente resultado.

En el tratamiento 3 del experimento (C) en papa bajo condiciones de laboratorio y en tomate bajo invernadero, se observó que el concentrado enzimático de proteasas de *Metarhizium anisopliae*, también bajo las poblaciones de *Meloidogyne incognita*, con un excelente resultado.

## CONCLUSIONES

Las conclusiones relacionadas con la evaluación de la efectividad de organismos biológicos para el control del nematodo agallador *M. incognita* en papa bajo condiciones de laboratorio fueron: Para el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, los productos que se describen a continuación, fueron los que presentaron el mejor control de los organismos en estudio.

**Experimento A.** Los mejores tratamientos fueron: el tratamiento 1, concentrados celulares de *Bacillus sp.*, tratamiento 5, mezcla de concentrados celulares 1+2+3+4 y tratamiento 2 concentrados celulares de *Bacillus thuringiensis*.

**Experimento B.** los mejores tratamientos fueron: el tratamiento 2, metabolitos secundarios de *Bacillus thuringiensis*., tratamiento 3, metabolitos secundarios de *Pseudomonas fluorescens* y tratamiento 4, metabolitos secundarios de *Paecilomyces lilacinus*.

**Experimento C.** los mejores tratamientos fueron: el tratamiento 5, mezcla de concentrados enzimáticos 1+2+3+4., tratamiento 1, concentrado enzimático de quitinasas de *Beauveria bassiana* y 4 tratamiento, concentrado enzimático de proteasas de *Metarhizium anisopliae*.

Las conclusiones relacionadas con la evaluación de la efectividad de organismos biológicos, para el control del nematodo agallador *M. incognita* en tomate bajo condiciones de invernadero son:

Para el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, los productos que se describen a continuación, fueron los que presentaron el mejor control del nematodo en estudio.

**Experimento A.** los mejores Tratamientos fueron el Tratamiento 1, Concentrados celulares de *Bacillus subtilis*, Tratamiento 5 mezcla de concentrados celulares 1+2+3+4 y Tratamiento 2 concentrados celulares de *Bacillus thuringiensis*.

**Experimento B.** los mejores Tratamientos fueron el Tratamiento 2, Metabólitos secundarios de *Bacillus thuringiensis*, Tratamiento 3, Metabólitos Secundarios de de *Pseudomonas fluorescens* y Tratamiento 4 Metabólitos Secundarios de *Paecilomyces lilacinus*.

**Experimento C.** los mejores Tratamientos fueron el Tratamiento 5, mezcla de Concentrados Enzimáticos 1+2+3+4, Tratamiento 1, Concentrado Enzimático de Quitinasas de *Beauveria bassiana*, y 4 Concentrado Enzimático de Proteasas de *Metarhizium anisopliae*.

## LITERATURA CITADA

**Arce, F. A. 1996.** El cultivo de patata. Editorial mundi - prensa. Madrid, España. 179 p.

**Agrios, N.G. 1985.** Fitopatología, 1ª Ed., Ed. LIMUSA. México, D.F. 838 p.

**Aguilar, M.R.1997.** Nematodos asociados al cultivo de papa, (*Solanum tuberosum* L). UAAAN, Buenavista, Saltillo Coahuila, México, 187 p. Alabouvette, C. ; Couteaudier, Y.1992. Biological control of *Fusarium* wilts with nonpathogenic fusaria. In Tjamos, E.C. ; Papavizas, GC. ; Cook, R. eds. Biological control of plant diseases: progress and challenges for the future. New York, PlenumPress. p. 415 - 426.

**August, J. ; Schwab, G. E. ; Payne, J. M. 1994.** Genes encoding nematode active toxins cloned from *Bacillus thuringiensis* isolate ps 17.

**Brodie, B.B. 1984.** "Nematodes parasites of potato" en plant and nematodes. Marcel, Nueva York. Pags 167 - 212.

**Bukasov (1933).** *S. leptostigma* y *S. molinae*, que dieron origen a *S. chilotanum* y ésta en cruce con *S. andigenum* dio origen a *S. tuberosum* ssp. *europaeum*.

**Bergeys, D. 1989 - 2000.** Manual of the determinative bacteriology. Night edition. Philadelphia 2: 540 - 589.

**Berliner, E. 1911.** Descubrió la bacteria *Bacillus thuringiensis*. En Alemania. Pag127.

**Berg, G. ; Hallmann, J. 2006.** Control of plant pathogenic fungi with bacteria endophytes. In Schulz, B. ; Boyle, C. ; Sieber, T. Eds. Microbial root endophytes. Berlin Heidelberg, de, Springer-Verlag. (Soil Biology Vol. 9).p. 53 - 69. Becker, J.O. ; Zavaleta-Mejia, E. ; Colbert, S. F. ; Schroth, M. N. ; Weinhold, A. R. ; Hancock, J. G. ; Van Gundy, S. D. 1988. Effects of rhizobacteria on root-knot nematodes and gall formation. *Phytopathology* 78: 1466 - 1469.

**Bochow, H. ; Gantcheva, K. 1995.** Soil introductions of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent and its population and activity dynamic. *Acta Horticulturae* 382: 164 - 172.

**Boucias, D.G. ; Pendland, J.C. 1998.** Principles of insect pathology. Norwel, US, klumer academic publishers. p. 75 - 84.

**Campos, C. A. y J. H. Villareal. 1989.** El cultivo de papa. Monografía. Trabajo final del curso intensivo. I. T. E. S. M. ; Monterey, N. L. México. 132 p.

**Cepeda, S. M. 1996.** Prácticas de Nematología Agrícola. Ed, Trillas, México, D.F. 105 p.

**Cepeda, S. M. 1996.** Nematología Agrícola. Ed, Trillas, México, D.F. 305 p. Cepeda, S.M y J.M. Lara. 1991. Control biológico de *Meloidogine incognita* por *Paecilomyces lilacinus* Tom. M Samson, en el suelo de Navidad, Municipio de Galeana, Nuevo León. "Agraria 7 (2) pág. 164.

**CIP. 1984.** Centro Internacional de la Papa Boletines de Información Técnica. Departamento de Capacitación y comunicaciones del CIP. 415 p.

**Castineiras, A. ; López, M. ; Calderón, A. ; Cabrera, T. ; Lujan, M. 1990.** Virulencia de 17 aislamientos de *Beauveria Bassiana* y 11 de *Metarhizium anisopliae* sobre adultos de *cosmopolites sordidus*. Ciencias y técnicas en la agricultura. Cuba 13 (3): 45 – 51.

**Culbreath, A.K. ; R. Rodríguez-Kábana y G. Morgan-Jones. 1986.** Chitin and *Paecilomyces lilacinus* for control of *Meloidogyne arenaria*. *Nematropica* 16(1): 153 - 166.

**Chen, S.Y. ; D.W. Dickson y D.J. Mitchell. 2000.** b. Viability of *Heterodera glycines* exposed to fungal filtrates. *Journal of Nematology* 32(2): 190 - 197.  
Dusenbery, D.B. *Biological Cybernetics*, 60: 431 - 437 (1989). A simple animal can use a complex stimulus pattern to find a location.

**Castrillón, A. C. 2000.** Distribución de las especies de picudo del plátano y evaluación de sus entomopatógenos nativos en el departamento de Risaralda. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Comité de Cafeteros de Risaralda, UMATAS, Departamento de Risaralda. Litoas, Ltda. 73 p.

**Daulton, R.A. y C.J. Nusbaum. 1961.** The effect of soil temperature on the survival of root – knot nematodes *Meloidogyne Javanica* y *M. Hapla*, *Nematologica* 6: 280 - 289.

**Dimitri, Milán. 1972.** Enciclopedia de Agricultura. 2da. Ed. Buenos Aires, Argentina, Acne. S.A.V. Ip. 197- 198 – 273 - 278.

**Dávila, M. ; N. Acosta, C. ; Betancourt y J. Negrón. 1999.** Capacidad quitinolítica de hongos aislados de suelos agrícolas infestados con el nematodo nodulador *Meloidogyne* spp. En Puerto Rico. *J. Agric. Univ. P.R.* 83(3-4): 189 - 199.

**Esser, R.P. y Cols. 1976.** A diagnostic compedium of the genus *Meloidogyne* (Nematode: Heteroderidae). *Proc. Helminthol, Soc. Wash.* 43 (2): 138 - 150 p.

**Edmond, J. B. 1981.** Principios de hortalizas. Quinta impresión. Editorial continental. México. 575 p.

**Franklin, M.T. 1962.** "Preparation of posteriocuticular patterns of *Meloidogyne* spp for identification". Nematol. 7 (2): 336 - 337.

**Fernandez, E. ; Mena, J. ; González, J. ; Márquez, M.E. 2003.** Biological control of nematodes in banana. In Turner, D.W. ; Rosales, F.E. Eds. Banana root system: towards a better understanding for its productive management. Proceedings of an international symposium held in San José, Costa Rica, 3-5 November 2003. San José, cr, corbana. p. 193 - 200.

**Flores, J. ; Mendoza, P. ; López, M.E. ; Herrera, D. ; Bravo, M.A. ; Vázquez, V. ; Liébano, E. 2000.** *Bacillus thuringiensis*: una alternativa en el control de nematodos gastroentéricos en la ganadería. Congreso Nacional de Control Biológico (23, Guanajuato, MX, 2000). Memorias. p. 21 - 23.

**Fernando de Araujo, F. y Gabriel Víctor Poletto Marchesi. 2009.** Uso de *Bacillus subtilis* no controle da *Meloidoginose* e na promoção do crescimento do tomateiro. Cienc. Rural vol. 39 N°. 5.

**Guiran, G. y M. Ritter.1979.** "Life cycle of *Meloidogyne* especies and factors influencing their develoment" en Root- Knot nematodes (*Meloidogyne* ssp); Systematics and control Aacademic press, Nueva York, pags. 172 - 191.

**Glare, TR. ; O, Callaghan, M. 2000.***Bacillus thuringiensis*. Biology, ecology and safety. Reino Unido, Wiley and sons. 350 p.

**Gold, C. S. y Messiaen, S. 2000.** El picudo negro del banano *Cosmopolites sordidus*; Plagas de Musa. Hoja divulgativa no. 4. [http://www.biodiversityinternational.com/Publications/pdf/696\\_ES.pdf](http://www.biodiversityinternational.com/Publications/pdf/696_ES.pdf) 18 – 09 - 8.

**Guerrero, G. A. 1981.** Cultivos herbáceos extensivos. Segunda impresión. Editorial Mundi-prensa. España. 546 p.

**Hirschmanñ, H. 1983.** Scanning electron microscopy as a tool in nematode taxonomy. In con ceptsin nematode systematics. A. R. Stone, H. M. Plantt y L. F. Khalil, eds. Academic Pres. New York p .95 - 111.

**Hooker, W.J. 1980.** Compendio de enfermedades de la Papa. Centro Internacional de la Papa (CIP). 166 p.

**Handelsmann, J. ; Stabb, E.V. 1996.** Biocontrol of soilborne pathogens. Plant Cell 8: 1855 - 1869.

**Hass, D. ; Défago, G. 2005.** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent *pseudomonads*. Nature Reviews Microbiology 3(4): 307 - 319.

**Hamdan, H. ; Weller, D.M. ; Thomashow, L.S. 1991.** Relative importance of fluorescent siderophores and other factors in biological control of *Gaeumannomyces graminis var. tritici* by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 and M4-80R. Applied and Environmental Microbiology 57: 3270 - 3277.

**Jatala P. y Cols. 1979.** "Biological control of *Meloidogyne incognita*, and *Globodera pallida* on potatoes, J. Nematology 11: 303.

**Jenkins, J.A. 1948.** The origin of the cultivated tomato. Economic Botany 2: 379 - 392.

**Jaramillo, J. ; Rodríguez V.P. ; Guzmán M. ; Zapata M. ; Rengifo T. 2007.** Manual Técnico Buenas Prácticas Agrícolas –Bpa En La producción de Tomate Bajo 52 Condiciones Protegidas. Corpoica – Mana – Gobernación de Antioquia – FAO. 331 p.

**Jatala, P. 1986.** Biological control of plant-parasitic nematodes. Ann. Rev. Phytopathol 24(4): 453 - 89. Khan, T.A. y S.K. Saxena. 1997. Integrated management of root-knot nematode *Meloidogyne javanica*, infected tomato using organic materials and *Paecilomyces lilacinus*. Bioresource Technology 61: 247 - 250.

**Koneman, E.W. 2001.** Diagnostico microbiológico: Texto y atlas de color. Quinta edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. p 163.

**Kerh, A. et al. 1967.** Producción comercial de la papa. Traducido del Inglés por comercial patato producción. México. Edit. Centro Regional de ayuda técnica para el desarrollo internacional (I.A.D.) p. 22 - 24.

**Kloepper, J. W. ; Ryu, C.M. 2006.** Bacterial endophytes as elicitors of induced systemic resistance. In Schulz, B. ; Boyle, C. ; Sieber, T. Eds. Microbial root endophytes. Berlin-Heidelberg, de Springer- Verlag. p. 33 - 52. (Soilbrology Vol. 9).

**Kloepper, J.W. ; Ryu, C. M. ; Zhang, S. 2004.** Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. Phytopathology 94: 1259 - 1266.

**Kuno. G. ; Mulett. J. y Hernández, de M. 1982.** Patología de insectos con énfasis en las enfermedades infecciosas y sus aplicaciones en el control biológico. Cali, CO, Universidad del Valle. Departamento de Biología, sección Entomología, Estación Experimental de Biología. Segunda edición. Cali, Colombia. 212 p.

**Montaldo, A. 1984.** Cultivo y mejoramiento de papa. Instituto de interamericano de cooperación para la agricultura. San José de Costa Rica. 676 p.

**Migula, 1895.** Descubre a un bacilo conocido como *Pseudomonas fluorescens*. 1: 235 - 238p.

**María, L. ; Sosa. P. 1993.** Se determinó el comportamiento de 11 aislamientos del hongo *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sor., obtenidos de los estados Yaracuy y Portuguesa (Venezuela). p. 77.

**Mena, J. ; Pimentel, E. ; Veloz, L. ; Hernández, A.T. ; León, L.; Ramírez, Y. ; Sánchez, I. ; Mencho, J.D. ; López, A. ; Pujol, M. ; Borroto, C. ; Ramos, E. ; Álvarez, J. M. ; Marín, M. ; Jiménez, G. ; García, G. ; Pico, V. M. ; Expósito, M. ; Coca, Y. ; Gómez, M. ; Olazabal, A. ; Hernández, A. ; Falcón, V. ; De la Rosa, M. ; Menéndez, I. ; Raíces, M. 2003.** Aislamiento y determinación de cepas bacterianas con actividad nematocida. Mecanismo de acción de *C. paurometabolum* C-924 sobre nematodos. Biotecnología Aplicada 20(4): 248 - 252.

**Mazola, M. ; Cook, R.J. ; Thomashow, L.S. ; Weller, D.M. ; Pierson, L.S. 1992.** Contribution of Phenazine antibiotic biosynthesis to the ecological competence of fluorescent pseudomonads in soil habitats. Applied and Environmental Microbiology. 58(8): 2616 - 2624.

**Meadows, J.R. ; Gill, S.S. ; Bone, L.W. 1990.** *B. thuringiensis* strains affects population growth of the free living nematode *Torbatrrix aceti*. Invert. Reprod. And Devel. 17: 73 - 76.

**Núñez, C.T. 2006.** Estudio de poblaciones de bacterias endofíticas de la rizófora del banano para el biocontrol del nematodo barrenador *Radopholus similis*. Tesis mag. Sc. Turrialba, C.R, CATIE. 62 p.

**Noel, G.R. 1990.** Evaluation of *B. thuringiensis* of *H. glycines* on Soyben .J. Nematol.22(4s): 763 - 766.

**National Sustentable Agricultura Information Service (NSAIS). 2007.** Nematodos Alternative Control, consultado el 14 junio del 2007. Disponible en <http://www.attra.org/attra-pub/PDF/nematode.pdf>.

**Nankinga, C.M. ; Gold, C.S Tushemereirwe, W. 2003.** Revisión de *Beauveria bassiana* con respecto al control microbiano de picudo negro del banano en Uganda. Promusa (Montpellier, F.R) 11 (1): 11.

**Nakamura, L.K. ; M.S Roberts. ; F.M. Cohan. 1999.** Relationship of *Bacillus subtilis* clades associated with strains 168 and W23: a proposal for *Bacillus subtilis* subsp. Subtilis subsp. Nov. and *Bacillus subtilis* subsp. spizizenii subsp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 49: 1211 - 1215.

**Lobo, M. ; y Medina, C. I. 2001.** Variabilidad morfológica en el tomate pajarito (*Lycopersicon esculentum* Var. *Ceraciforme*), precursor del tomate cultivado. Revista Corpoica. Vol 3. No. 02.

**López, R. 1984.** Differential plant responses and morphometries of some *Meloidogyne* ssp. From Costa Rica Turrialba 34 (4): 445 - 458.

**López, R. ; Azofeifa, J. 1981.** Reconocimiento de nematodos fitoparasitos asociados con hortalizas en Costa Rica. Agronomía Costarricense 5 (1/2): 29 - 35.

**Loeffler, W. ; Tschen, S.M. ; Vamittanakoon, N. ; Kugler, M. ; Knorpp, E. ; Hsieh, T.F. ; Wu, T.G. 1986.** Antifungal effects of Bacilysin and Fengymycin from *Bacillus subtilis* F-29 3. Comparison with activities of other *Bacillus antibiotics*. Journal of Phytopathology 115: 204 - 213.

**Lopper, J. 1988.** Role of fluorescent, siderophore production in biological control of *Pythium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Phytopathology* 78: 166 - 172.

**Leyns, F. ; Borgonie, G. ; Arnaut, G. ; De Waele, D. 1995.** Nematicidal activity of *B. thuringiensis* isolates. *Fundam. Appl. Nematol.* 18(3): 211 - 18

**Lara-Martes, J. ; N. Acosta. ; N. Vicente y R. Rodríguez. 1996.** Control biológico de *Meloidogyne incognita* en tomate en Puerto Rico. *Nematropica* 26(2): 143 - 151.

**Obregón, M. 2005.** Comportamiento de *Trichoderma* spp en distintos sustratos orgánicos. En Memoria del XLV Congreso anual de la Sociedad Americanade Fitopatología- División Caribe. VI Congreso Nacional de Fitopatología "Biodiversidad y Tecnología en Foto protección". 27 de junio-1 de julio 2005. San José Costa Rica. p 272.

**Pline, Diez. And Dusenbery. 1988.** *J. Nematology*, 20:605-608. Extremely sensitive thermotaxis of the nematode *Meloidogyne incognita*.

**Perlaza, F. ; López, R. ; Vareas, E.1979.** Combate químico de *Meloidogyne* spp. Y *Alternaria* sp. En zanahoria (*Daucus carota* L.). *Turrialba* 29 (4): 263 - 267.

**Posada, F. , Vélez, F.J. , APE. 1997.** Registro de hospedantes y asilamiento de *Beauveria bassiana* en la colección de hongos entomopatógenos de CENICAFE, In CATIE. Manejo integrado de plagas, CR. p. 50 - 64.

**Rodgers, P.B. 1989.** Potential of biological control organisms as a source of antifungal compounds for agrochemical and pharmaceutical product development. *Pesticide Science* 27: 155 - 164.

**Siddiqui, I.A. ; Ehteshamul-Haque, S. 2001.** Suppression of the root rot-root knot disease complex by *Pseudomonas aeruginosa* in tomato: the influence of inoculum density, nematode populations, moisture and other plant-associated bacteria. Plant Soil 237: 81 - 89.

**Siddiqui, I.A. ; Shaukat, S.S. 2003.** Suppression of root-knot disease by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in tomato: importance of bacterial secondary metabolite, 2, 4-diacetylphloroglucinol. Soil Biology and Biochemistry 35: 1615 - 1623.

**Stirling, G.R. 1991.** Biological Control of plant parasitic nematodes progress, problems and prospect. C.A.B. International, Wallingford U.K. 1 - 282 p.

**Stirling, G.R. ; L. M. West, 1991.** Fungal parasites of root-knot nematode eggs from tropical and subtropical regions of Australia. Plant Pathology 20: 149 - 154.

**Secretaria de Educación Pública. 1990.** Papas. Manual para la educación agropecuario. Editorial trillas. México. 54 p.

**Taylor, A.L. y S.N. Sasser. 1983.** Biología, identificación y control de los nematodos de nódulos de la raíz proyecto internacional de *Meloidogyne*, Carolina del Norte. U.S.A. p 97.

**Taylor, A.L.; Sasser, J.N. 1978.** Biology, identification and control of root – knot nematodes (*Meloidogyne* sp). Department of plant pathology, North Carolina State University and United states Agency for international development. Raleigh, North Carolina State University Graphics, 111p.

**Thomason, J.I. 1985.** "Nematicides" en Fitonematología I, Colegio de Posgraduados, Montecillos, México págs. 235 - 257.

**Thomashow, L.S. ; Weller, D.M. 1996.** Current concepts in the use of introduced bacteria for biological disease control: Mechanisms and antifungal metabolites. In Stacey, G. ; Keen, N.T. eds. Plant-Microbe Interactions, Volume 1. New York, Chapman and Hall. p. 187-236.

**Vicente, N.E. y N. Acosta.1992.** Biological control of nematodes in *Capsicum annum* L. J. Agri. Univ. P.R. 76(3-4):171-176.

**Vandamme E. ; Demain A. Nutrition of bacillus brevis ATCC 9999, the producer of Gramicidin S. Antimicrobial agents and chemotherapy [en línea]. 1976.** Revisión el 9 de Marzo de 2010. ; Vol. 10, No. 2. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC429733/>

**William, Wergi. 2006.** Servicio de Investigación Agrícola , la agencia de investigación del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. p 277.

**Williams, C.E. and St Clair, D.A. 1993.** Phenetic relationships and levels of variability detected by restriction fragment length polymorphism amplified polymorphic DNA analysis of cultivated and wild accesions of *Lycopersicon esculenum*. Genome 36: 619 – 630.

**Weller, D.M. ; Cooke, R.J. 1983.** Suppression of take-all of wheat by seed-treatment with fluorescent *pseudomonads*. Phytopathology 73: 463 - 469.

**Walters, A.S. ; K.R. Barker. 1994.** Efficacy of *Paecilomyces lilacinus* in suppressing *Rotylenchus reniformis* on tomato. Journal of Nematology 26(45): 600 - 605.

**Zapater, H. 1973.** Los Aborígenes Chilenos a Través de Cronistas y Viajeros. Editorial Andrés Bello, Santiago. p. 315.

**Zuckerman, B.M. ; Dickow, M.B. ; Acosta, N. 1993.**A strain of *B. thuringiensis* for the Control of plant parasitic nematodes. Biocontrol of Sciences and Technologies 3(1): 41 - 46.

**Zuckerman, B.M. ; Dicklow, M. ; Marban-Mendoza, N. 1995.** Nematocidal *Bacillus thuringiensis*, biopesticide. U.S. Patent.A01-N- 63/00, p. 73 - 76.