Identificación de Poblaciones de Meloidogyne incognita en el Guayabo ((Psidium guajava L.) y la Recuperación de Microorganismos Asociados a su Control en la Región de Calvillo, Aguascalientes

### ANA MARIA ACOSTA ZAMARRIPA

# TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

EN PARASITOLOGIA AGRICOLA

BIBLIOTECA EGIDIO G. REBONATO BANCO DE TESIS U.A.A.A.N.



Universidad Autónoma Agraria
''Antonio Narro''
PROGRAMA DE GRADUADOS

Buonavista, Saltille, Ceah.

ABRIL DE 2002

#### UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

#### **ANTONIO NARRO**

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

IDENTIFICACIÓN DE POBLACIONES DE Meloidogyne incognita EN GUAYABO ( Psidium guajava L.) Y LA RECUPERACIÓN DE MICROORGANISMOS ASOCIADOS A SU CONTROL EN LA REGIÓN DE CALVILLO, AGUASCALIENTES

**TESIS** 

POR

## ANA MARIA ACOSTA ZAMARRIPA

Elaborada bajo la supervisión particular de asesoría y aprobada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA A PRÍCOLA

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal

Dr. Gabi el Gallegos Morales

**Asesor** 

Dr. Melchor Gepeda Siller

Asesor

Vic Emesto González Gaona

Asesor

Dr. Jesús Camargo García

Dr. Ramire López Trujillo SUBDIRECTOR DE POSTGRADO

BIBLIOTECA EGIDIO G. REBONATO BANCO DE TESIS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, Abril de 2002

#### **AGRADECIMIENTOS**

A la Secretaria de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, así como al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Aguascalientes que hicieron posible que realizara mis estudios de maestría y la culminación de esta investigación.

#### **COMPENDIO**

Identificación de Poblaciones de M*eloidogyne incognita* en Guayabo (*Psidium guajava* L.) y la Recuperación de Microorganismos Asociados a su Control en la Región de Calvillo, Aguascalientes.

#### **POR**

## ANA MARIA ACOSTA ZAMARRIPA

MAESTRÍA EN PARASITOLOGÍA AGRICOLA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, Abril 2002

Dr. Gabriel Gallegos Morales

Palabras clave:

Meloidogyne spp, Bacillus spp, Paecilomyces sp,

Guayabo.

En mayor o menor grado el parasitismo del nemátodo agallador de raíces *Meloidogyne* spp se encuentra presente en el 90 por ciento de la superficie del cultivo de guayabo en la región de Calvillo, Ags. La amplia diseminación de este nemátodo está asociada al método de propagación por hijuelos, no solo a nivel regional sino nacional, de ahí que las plantaciones recientes estén asociadas a una productiva limitada. Este nemátodo representa un problema de importancia económica, dado que afecta el rendimiento y la vida productiva del árbol, causándole la muerte cuando el ataque es severo. Estudios realizados en otros países reportan la posibilidad de utilizar organismos patógenos de nemátodos

para el control de *Meloidogyne*. En México no se tienen informes de las especies que atacan al cultivo del guayabo, ni de la utilización de agentes de control biológico de nemátodos. Basado en lo anterior, los objetivos de este estudio fueron conocer la especie(s) de nemátodo(s) agalladores de la raíz en guayabo en la región de Calvillo, Aguascalientes y aislar e identificar los posibles agentes de control biológico de *Meloidogyne* spp.

En huertas de guayabo de las localidades de Cerro Blanco, Mesa Grande, La Labor y Malpaso, del municipio de Calvillo, Aguascalientes se realizaron colectas de suelo y raíz. Los nemátodos colectados se identificaron a nivel de especie por medio de patrones perineales de hembras adultas, así como la observación de la parte anterior de la cabeza de los machos. De las cuatro localidades se obtuvo un total de 20 poblaciones diferentes de *Meloidogyne*, en las cuales se encontró *Meloidogyne incognita* con una frecuencia del 100 por ciento, en forma adicional se identificaron dos diferentes nemátodos bacteriófagos y depredadores *Rhabditis* sp y *Mononchus sp*, y se aislaron tres bacterias del género *Bacillus*, *B. cereus/thuringiensis*, *B. subtilis* y *B. megaterum*, así como un hongo identificado como *Paecilomyces farinosus*.

#### **ABSTRACT**

Identification of populations of Meloidogyne incognita in guava (Psidium guajava L.) and recovery of microrganisms associated to their control in Calvillo, Aguascalientes.

Ву

ANA MARIA ACOSTA ZAMARRIPA

MASTER OF SCIENCE
PLANT PARASITOLOGY

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, APRIL 2002

Dr. Gabriel Gallegos Morales

Keywords: *Meloidogyne* spp, *Bacillus* spp, *Paecilomyces* sp, Guava.

With variable intensity the parasistim of the root knot nematode Meloidogyne spp is found in 90 per cent of the area cultivated with guava in the Calvillo, Ags. region. The wide disemination of this nemtode is associatted to the nation - wide propagation technique thats uses root plantlets, therefore, the youngest guava orchards will have a limited productivity if the nematode infestation is severe. Several studies carried out in other countries report the

possibbility to utilize bio control agents to control *Meloidogyne*. In Mexico there are not reports about the *Meloidogyne* species associated to guava, besides there is a lack of information about the use of bio control agents to management the root knot nematode in this crop. Consequently, the objectives of this study were to gain insight about the *Meloidogyne* species associated to guava roots in the Calvillo, Ags. area as well as to identify the potential *Meloidogyne* –bio control agents in that area.

Guava orchards located in the Cerro Blanco, Mesa Grande, La Labor and Malpaso sites were sampled to collect soil and guava roots. The extracted nematodes were identified to species level using the perineal patterns of adult females as well as characteristics of the cephalic portion of male adults. *Meloidogyne incognita* was found in all visited orchards. The predator nematodes *Rhabditis* and *Mononchus* were also identified. Three *Bacillus* species were identified: *B. cereus/thuringiensis*, *B. subtilis* and *B. megaterum* as well as the fungus *Paecilomyces farinosus*.

## **CONTENIDO**

INTRODUCCIÓN	
REVISIÓN DE LITERATURA	3
El cultivo del guayabo	3
Origen	3
Distribución mundial	4
Distribución nacional	5
Sintomatología y daños en el guayabo causados por nemátodos	6
Nemátodos asociados al cultivo el guayabo	7
Generalidades de Meloidogyne	
Síntomas	
Hospederos	11
Distribución	12
Especies Descritas	13
Métodos de Control de Meloidogyne incógnita	14
Control Biológico de nemátodos por Enemigos naturales	18
Bacterias	
Nemátodos depredadores	
Hongos antagónicos	23
ARTICULO CIENTÍFICO	30
IDENTIFICACIÓN DE POBLACIONES DE Meloidogyne incognita EN	00
GUAYABO ( <i>Psidium guajava L</i> ) Y LA RECUPERACIÓN DE	
MICROORGANISMOS ASOCIADOS A SU CONTROL EN LA REGIÓN DE	:
CALVILLO, AGUASCALIENTES	•
INTRODUCCIÓN	32
MATERIALES Y MÉTODOS	34
MATERIALES Y MÉTODOS	34
MATERIALES Y MÉTODOS  Colecta de muestra	34 34
MATERIALES Y MÉTODOS  Colecta de muestra  Identificación de hembras y machos de Meloidogyne	34 34 35
MATERIALES Y MÉTODOS  Colecta de muestra  Identificación de hembras y machos de Meloidogyne  Obtención de Bacterias del suelo	34 34 35 36
MATERIALES Y MÉTODOS	34 34 35 36 39
MATERIALES Y MÉTODOS  Colecta de muestra  Identificación de hembras y machos de Meloidogyne  Obtención de Bacterias del suelo  Obtención de bacterias de hembras de Meloidogyne  Obtención de hongos en hembras de Meloidogyne	34 34 35 36 39 40
MATERIALES Y MÉTODOS  Colecta de muestra	34 35 36 39 40 41
MATERIALES Y MÉTODOS	34 35 36 39 40 41 42 46
MATERIALES Y MÉTODOS	34 35 36 39 40 41 42 46
MATERIALES Y MÉTODOS	34 35 36 39 40 41 42 46 47
MATERIALES Y MÉTODOS	34 34 35 36 39 40 41 42 46 47
MATERIALES Y MÉTODOS	34 34 35 36 39 40 41 42 46 47

## INTRODUCCIÓN

El guayabo (*Psidium guajava* L) es un árbol cultivado de gran importancia en nuestro país, por la superficie que ocupa y por el volumen de producción obtenida que se estima cercana a las 192 mil toneladas, con un valor estimado de 296 millones de pesos. Además, es una actividad social relevante, ya que se dedican a este cultivo alrededor de 3 mil productores y genera 1.4 millones de jornales al año, sin considerar los empleos en la industria, transporte y comercialización de la fruta; de su explotación directa dependen aproximadamente 5,500 familias. Lo anterior pone de manifiesto la importancia social y económica que el cultivo del guayabo representa para México y especialmente para Aguascalientes, donde se considera el primer cultivo de importancia económica y el tercero en importancia social.

La producción de guayaba es afectada por problemas diversos, destacando el picudo de la guayaba (complejo de especies dentro del género *Conotrachelus spp.*); las moscas de la fruta (*Anastrepha striata* y *A.* spp.; el "temolillo" (*Cyclocephala lunulata*); y problemas radicales entre los que se encuentran el complejo de nemátodos formadores de agallas, de estos poco se conoce. Este problema en los últimos años se ha incrementado a tal grado que ha ocasionado numerosos casos de mortalidad.

En la actualidad se están probando algunos métodos que ayudan en el combate contra nemátodos fitopatógenos. Entre ellos destacan los reguladores biológicos, la biotecnología, la manipulación ambiental, la alopatía y los nematicidas mejorados.

Con la presente investigación se pretende abrir caminos que conduzcan a solucionar de una manera más económica, el problema que representa el nemátodo agallador *Meloidogyne* en el cultivo del guayabo, utilizando microorganismos que son aislados de su propio agroecosistema; para lograr lo anterior se plantearon los siguientes.

## **OBJETIVOS**

- 1. Identificar la(s) especie(s) de nemátodos del género *Meloidogyne* que se encuentran parasitando al cultivo del guayabo en cuatro localidades del municipio de Calvillo, Aguascalientes.
- 2. Aislar los hongos y bacterias presentes en el agroecosistema del cultivo del guayabo afectado por el nemátodo agallador.

### **REVISIÓN DE LITERATURA**

#### El Cultivo del Guayabo

El guayabo (*Psidium guajava* L.), es un frutal de los trópicos americanos, perteneciente al Orden Myrtales y a la Familia Myrtaceae. Es un árbol pequeño de raíces poco profundas, que alcanza una altura de 3 a 10 metros, con tendencia a ramificar cerca de la superficie del suelo y a producir retoños en las raíces cercanas a la base del tronco; éste y las ramas viejas se descortezan continuamente; las ramitas jóvenes son cuadrangulares, presentan hojas simples, opuestas y coriáceas; las flores son bisexuales, actinomorfas, con cuatro o cinco pétalos y numerosos estambres, un pistilo y ovario ínfero; el fruto es una baya.

### Origen

La guayaba es originaria de América, entre México a Perú. Después de la llegada de Colón al nuevo continente, este frutal se propagó a otros continentes, a tal grado que llegó a creerse que era originario de Indochina o Malasia.

El guayabo se ha extendido ampliamente y aclimatado en muchas regiones. Se comenta que su centro de origen es América tropical y las Antillas (Anónimo, 1989). Actualmente es un importante cultivo en huertos caseros de las tierras bajas de los trópicos y subtrópicos del mundo; el género *Psidium* tiene 150 especies nativas en América tropical y subtropical, muchas de las cuales pueden ser importantes para fines de mejoramiento.

#### Distribución mundial

La guayaba es una especie tropical, propagada en las Antillas, donde se le compara frecuentemente con la manzana por su aspecto y la utilización de sus frutos (Mata y Rodríguez, 1990). Del trópico se llevó a Europa y en la actualidad se le encuentra en todas las áreas tropicales y subtropicales del mundo; se cultiva en forma comercial en la India, Pakistán, EUA (Hawai y Florida), Sudamérica, Brasil, Puerto Rico, Cuba, y algunos otros países y regiones (Mata y Rodríguez, 1990).

Esta especie se encuentra desde el nivel del mar hasta los 1500 msnm. Se desarrolla en lugares altos, siempre y cuando en estos no sean frecuentes las escarchas ni las temperaturas inferiores a los cero grados centígrados durante tiempo prolongado. Por otro lado (González 1994), afirma que el intervalo de temperatura para este cultivo es de 15 –35°C.

#### Distribución nacional

México cuenta con una gran superficie dedicada al cultivo del guayabo, que alcanza las 20 mil hectáreas (González, 1994).

El guayabo en México está distribuido en los estados de Tamaulipas, San Luis Potosí, Puebla, Veracruz, Tabasco, Campeche, Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Jalisco, Colima, Nayarit, Sinaloa, Sonora, etc., generalmente como planta cultivada o silvestre, común a la orilla de los caminos (Niembro, 1986).

A nivel nacional la región productora de guayaba más importante se localiza en los estados de Aguascalientes, y Zacatecas, donde se cultivan 13 mil hectáreas, región conocida como "Calvillo-Cañones". En el municipio de Calvillo, Aguascalientes, este frutal ocupa 7,594 hectáreas, que representa el 67.6 por ciento de la superficie nacional, con un rendimiento promedio de 15.7 toneladas por hectárea (González, 1994).

En Aguascalientes se cultiva desde hace un siglo aproximadamente; este estado ocupa el primer lugar de producción desde 1960. En Zacatecas su cultivo se inició entre 1955 y 1958; sin embargo, es importante señalar que, a futuro, puede llegar a ser el principal productor pues cuenta con un potencial cercano a las 100 mil hectáreas en el Cañón de Juchipila, región que reúne las condiciones ecológicas para su producción (Mata y Rodríguez, 1990).

## Sintomatología y daños en el guayabo causado por nemátodos.

La producción de frutales es frecuentemente afectadas por la presencia de nemátodos fitoparásitos en diversas partes del mundo. El daño causado puede ser directo e indirecto. Los síntomas en las raíces se manifiestan por adhesión de partículas de suelo en los lugares donde se encuentra alojada la hembra adulta Suárez et al. (1995). La presencia del género *Meloidogyne* en plantaciones de guayabo constituye uno de los factores limitantes del cultivo debido a las grandes pérdidas producidas por la reducción en el rendimiento de 48 a 57 por ciento (Rodríguez *et al.*, 1985). Es importante destacar que en la guayaba como en la mayoría de los frutales, excepto frutas cítricas y musáceas, no está registrado el uso de nematicidas; por lo tanto, las aplicaciones de los mismos tienen que realizarse bajo supervisión de un técnico debidamente preparado.

Suárez et al. (1995), señalan que los nemátodos fitoparásitos son microorganismos, generalmente presentes en el suelo y en raíces de cultivos de importancia económica, entre los que cabe mencionar a los frutales. Su presencia pasa muchas veces inadvertida en la planta donde establece su parasitismo, de ahí que se confunda frecuentemente el ataque de nemáodos con deficiencia de nutrientes.

El daño causado por estos organismos puede ser directo e indirecto; el primero se origina por ruptura de las células de la planta mediante el estilete del nemátodo, por la disolución de las paredes o por la inducción de cambios fisiológicos en las células y por la inyección de sustancias a través del estilete. El daño indirecto, es consecuencia del daño directo, el cual causa una predisposición de la planta al ataque de otros microorganismos patogénicos como hongos, bacterias y virus. Este tipo de daños da origen a la manifestación de síntomas que no son característicos, pero sí indicativos a nivel de campo (Suárez *et al.*, 1995).

Los síntomas pueden dividirse en aéreos y subterráneos. Los síntomas aéreos se manifiestan por la presencia de manchones en el campo con zonas de clorosis, aún en presencia de fertilización adecuada; marchitez de las hojas; reducción del crecimiento y del rendimiento de la planta. Los síntomas subterráneos pueden ser necrosis externa e interna de las raíces, formación de agallas por multiplicación y aumento del tamaño de las células y proliferación del número de raíces por acumulación de sustancias de crecimiento (Román, 1978).

## Nemátodos asociados al cultivo del guayabo

Para este cultivo se ha determinado que el género *Meloidogyne* es el principal grupo de nemátodos patogénicos asociados al mismo (Suárez *et al.*, 1996).

Carrillo et al. (1990), reportaron en el Cañón de Juchipila, Zacatecas, la presencia de algunos géneros como Helicotylenchus, Ditylenchus, Aphelenchoides, Aphelenchus, Criconemoides, Tylenchus, Psilenchus, Dorylaimus, pero considerando al nemátodo agallador Meloidogyne javanica como el causante de los mayores daños.

Mata y Rodríguez (1985), consignaron una relación de 22 especies de nemátodos como parásitos del guayabo, pero señalaron que los géneros más importantes son: *Helicotylenchus, Pratylenchus*, y *Meloidogyne*, los dos primeros provocando necrosis en las raíces y el último como formador de agallas. Así mismo, mencionan que *Meloidogyne incognita* es la especie más problemática en Hawai; sin embargo, en Florida se hace mención de esta especie sin atribuirle una mayor importancia. También indicaron que la importancia de *Meloidogyne* radica en sus daños y distribución; se le encuentra en todo el mundo y las diferentes especies disminuyen los rendimientos de las plantas cultivadas especialmente en regiones tropicales y subtropicales.

Aguirre et al. (2001), mencionan que en la región de Calvillo, Ags., se encuentran diferentes géneros de nemátodos asociados al cultivo del guayabo como . Meloidogyne spp, Hemicyliophora spp, Dorylaimus spp y Rhabditis spp.

Por otro lado Cañizares (1968), en Cuba mencionó a los nemátodos como una plaga que reviste características alarmantes especialmente en viveros y plantaciones jóvenes y consigna un trabajo realizado por el Dr. Jün quien encontró más de tres especies del género *Meloidogyne* parasitando las raíces de las plantas de *Psidium guajava*.

Crezzoli et al. (1992), mencionan que los principales géneros y especies de nemátodos fitoparásitos asociados al cultivo del guayabo en Venezuela fueron: Meloidogyne incognita, M. arenaria, Pratylenchus spp, Rotylenchus spp, Xiphinema americanum, Helicotylenchus sp, Criconemella sp, y Tylenchus sp.

## GENERALIDADES DE Meloidogyne

Jobert en 1878 al analizar árboles de café enfermos, encontró raíces con numerosas agallas, en raíces laterales, las agallas terminales eran piriformes, puntiagudas y frecuentemente encorvadas; las más grandes eran del tamaño de un chícharo pequeño y contenían hembras de paredes hialinas, con huevos elípticos encerrados en membranas hialinas que presentaban pequeños animales vermiformes, y los gusanos emergían de los huevos, que salían de las raíces y se encontraban en altas cantidades en el suelo (Taylor y Sasser, 1978).

Así mismo, Goeldi 1887 investigó el mismo problema y publicó un documento sobre la enfermedad de los cafetales, señalando a *Meloidogyne* 

exigua como la causa de la enfermedad y la especie característica de un nuevo género. Los mismos investigadores citan que la especie y el género fueron sinonimizados primero como Heterodera radicicola después como Heterodera marioni, hasta que fueron separadas por Chitwood (1949), quien también describió las cuatro especies más comunes y ampliamente distribuidas: Meloidogyne incognita, M. javanica, M. arenaria y M. hapla. (Taylor y Sasser, 1978).

#### **Síntomas**

Las plantas afectadas por *Meloidogyne* spp presentan marchitez, localizándose en manchones a consecuencia de la falta de agua por la carencia de raíces funcionales. Las agallas no son el único síntoma visible que se observa, ya que frecuentemente están asociadas a raíces de escobilla o raíces toscas dándoles un aspecto de escoba a la raíz (Christie, 1991).

Los síntomas ocasionados por el ataque de *Meloidogyne* spp en la parte aérea de las plantas afectadas se aprecia como una marchitez generalizada, reducción en el tamaño del árbol, hojas pequeñas cloróticas, quemado de bordes, frecuentemente se observa la defoliación total, frutos pequeños que no maduran, bajos rendimientos y la muerte de la planta; todos estos síntomas reflejan el daño en las raíces.

Los síntomas típicos de las raíces dañadas son la presencia de agallas o tumores, las cuales son manifestaciones externas de la actividad de *Meloidogyne;* el daño se inicia al momento de la penetración de las larvas juveniles del segundo estadio, la larva entra en la raíz cerca de la punta o zona de actividad meristemática, moviéndose entre las células no diferenciadas, introduce su cabeza en el cilindro central en desarrollo. En hospedantes susceptibles las larvas inducen la formación de células gigantes de las cuales continúan alimentándose, por medio del estilete perforan las células del cilindro vascular, aumentando la proporción de la división celular en el periciclo; esto da origen a células gigantes (sincitios) formadas por el agrandamiento de las células (hipertrofia). Al mismo tiempo hay una intensa multiplicación de las células vegetativas (hiperplasia) alrededor de la cabeza de la larva. Estos cambios son acompañados por el engrosamiento de la raíz para formar agallas (Cepeda, 1996).

## Hospederos

Los nemátodos del género *Meloidogyne* se alimentan de gran diversidad de plantas, a tal grado que se considera que casi todos los vegetales cultivados son susceptibles a estos patógenos; algunos son tolerantes y no son dañados seriamente, mientras que otros son muy susceptibles a una o más especies (Christie 1991).

Cepeda (1996), menciona que a nivel mundial, la gama de hospederos de *Meloidogyne* spp comprende más de 2,000 especies de plantas, que representan casi todas las familias de vegetales. En México, los cultivos de importancia económica que son atacados por este nemátodo son aguacate, alfalfa, algodón, cacahuate, calabaza, durazno, guayabo y vid entre otros.

#### Distribución

Ramírez et al. (1995), señalan que el nemátodo **Meloidogyne** se encuentra ampliamente distribuido en varias regiones del mundo y mencionan que se han descrito 45 especies; de las cuales **M. incognita, M. javanica, M. arenaria** y **M. hapla** son las especies más comunes en el mundo.

En México, el nemátodo agallador de las raíces se ha reportado en Guanajuato, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Sinaloa, Veracruz, Coahuila, Durango, Nuevo León, Tamaulipas, Nayarit, Chiapas, Puebla, Sonora, Tlaxcala, y Baja California (Castro *et al.*, 1990; Cid del Prado *et al.*, 1998; Godoy y Yánez, 1999; y Montes, 1988).

La amplia distribución de estos patógenos puede atribuirse a varios factores; por una parte la característica del organismo, de soportar condiciones adversas y por otra, las condiciones ambientales favorables para que se incrementen rápidamente las poblaciones; a esto debe agregarse el efecto de transportar material vegetal o implementos y maquinaria agrícola, infestados.

#### **Especies descritas**

Se ha trabajado intensamente en este grupo de nemátodos; Taylor y Sasser (1978), mencionan la existencia de 36 especies; Hirschmann en 1982 reporta 51 especies; Hewlett y Tarjan (1983), señalan 53 especies. De tal manera que a finales de 1985 había aproximadamente 62 especies.

Castilla (1992), menciona que se identificaron seis especies del género Meloidogyne afectando a diversos cultivos, malezas de numerosas familias botánicas; entre las especies identificadas de este género se menciona a Meloidogyne incognita, M. hapla, M. javanica, M. arenaria, M. attersoni, y M. decalineata.

Carneiro *et al.* (1995), mencionan una nueva especie de *Meloidogyne* que parásita al cultivo del café en Brasil, y la describe como *M. konaensis.* 

Mani et al. (1998), mencionan que 17 géneros de nemátodos fueron detectados en Dhofar en el gobierno de Oman, de los cuales ocho géneros y 11 especies son citados por primera vez. Los géneros de nemátodos económicamente importantes encontrados son: Helicotylenchus, Haplolaimus, Meloidogyne, Pratylenchus, Radopholus. Las especies observadas con mayor frecuencia y con una distribución más amplia en varios

cultivos hortícolas y árboles frutales fueron: *Meloidogyne incognita, M. javanica, Helicotylenchus multicinctus* y *Pratylenchus jordanensis.* 

## METODOS 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 tales como costos, tipo de cultivo y residualidad y/o fitotoxicidad del nematicida, ocasionan la baja adopción de los métodos (Agrios, 1996).

Numerosos organismos del suelo se han encontrado atacando nemátodos, entre ellos los hongos y bacterias son los más conocidos, aunque también protozoos, insectos, ácaros, virus y nemátodos depredadores ejercen regulación bajo diferentes condiciones del ecosistema (Kerry y Muller, 1981, Rodríguez –Kabana 1984)

Fernández et al. (2000), hacen mención de la panorámica de la situación actual y perspectiva de las alternativas de control de nemátodos en Cuba, tomando en cuenta los aspectos legales, culturales, genéticos, físicos, químicos y de manejo integrado, reflejando el desarrollo de los agentes biocontroladores como es el caso de los hongos Verticillium chlamydosporium, Trichoderma spp. Arthrobotrys spp, y Paecilomyces lilacinus, así como los notables éxitos en el empleo de las bacterias Corynebacterium pauromelabolum, Pausteria penetrans y Bacillus thuringiensis.

En forma general se emplean cuatro tipos de métodos de control. El control por medio de prácticas de cultivo, control biológico, variedades resistentes y agentes físicos; por ejemplo, mediante calor y compuestos químicos. Con frecuencia se emplea una combinación de varios de estos métodos para controlar las enfermedades de las plantas ocasionadas por nemátodos.

Los fitonemátodos han sido controlados tradicionalmente con sustancias químicas, pero el uso excesivo de estas sustancias (nematicidas), provoca una gran contaminación al medio ambiente y perjudica la salud humana (Duncan y Noling, 1998; Ramírez y Ramírez 1980).

Rojas y Mendoza, (1999) mencionan que los nemátodos son organismos que causan daños severos a los cultivos. Frecuentemente, éstos son controlados por medio de productos químicos, los cuales pueden contaminar los agroecosistemas. Una alternativa para controlar las poblaciones de fitonemátodos a niveles no perjudiciales es por medio de controladores naturales. Existen informes de diferentes especies parasíticas y depredadoras de nemátodos, apoyados en evidencias experimentales que hacen pensar en la posibilidad de controlar a las poblaciones de nemátodos fitoparásitos al mantener una alta relación de estos enemigos en el suelo.

Los hongos nematófagos aparecen en todos los grupos fungosos y están divididos en los que tienen estructuras adhesivas especializadas que capturan nemátodos y otros que son productores de toxinas (Jiménez, 1997).

Se presentó un nuevo reto para desarrollar tecnologías alternas y aplicarlas en el manejo de los fitonemátodos, esto como resultado de las restricciones que se han implantado en el uso de los nematicidas existentes y el incremento en las áreas de cultivo afectadas por parásitos. Tradicionalmente los métodos empleados para combatir nemátodos en la agricultura se han encasillado dentro de las categorías siguientes: uso de variedades resistentes, prácticas culturales, empleo de nematicidas, rotación de cultivos y medios sanitarios (Rich, 1986).

Un factor primordial que debe darse para que una especie ejerza una regulación biológica sobre otra, es el hecho de que sus ciclos biológicos coincidan en el tiempo y en el espacio; por su larga coevolución y por compartir el mismo hábitat; los nemátodos y los hongos de interés agrícola, en casi todos sus grupos han establecido diversos grados de asociaciones ínterespecíficas y así como existen nemátodos micófagos, es importante reconocer que los hongos continuamente invaden y degradan a los nemátodos en todo tipo de suelos (Mankau, 1980).

## Control Biológico de Nemátodos Mediante Enemigos Naturales

#### **Bacterias**

Zavaleta y Van Gundy (1985), en experimentos "in vitro" mostraron evidencias de que sustancias volátiles producidas durante la actividad metabólica de *Serratia marecescenses*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Micrococcus leteus*, *Escherichia coli*, y siete rizobacterias no identificadas estuvieron involucradas en la inactivación y muerte de la J2 de *M. incognita*. Los resultados indicaron que las bacterias fueron capaces de producir los volátiles nematóxicos solamente cuando la fuente de nitrógeno en su medio de crecimiento fue de origen orgánico y en la forma de grupo amino

Uno de los organismos más promisorios y con gran potencial biocontrolador es la bacteria *Pausteria penetrans* (Thorne) Sayre y Starr. Este organismo es un parásito obligado de nemátodos, en especial del género *Meloidogyne*, el cual inhibe la producción de masas de huevos y afecta las futuras generaciones (Sterling, 1991). Minton & Sayre (1989), encontraron una asociación entre una baja población de *M. arenaria* y la presencia de *P. penetrans*.

Stirling (1991), Mankau (1980) y Marban (1985), mencionan que es evidente que el biocontrol de fitonemátodos por *P. penetrans* es factible y

además no contamina el medio ambiente como lo hacen los compuestos químicos.

Dickson et al. (1994), y Chen et al. (1997), mencionan que **Pausteria** penetrans, ha demostrado un gran potencial para control biológico del nemátodo agallador.

Acosta et al. (1994), realizaron una inoculación "in vitro" de esporas de Pausteria penetrans a los estadios juveniles de Meloidogyne incognita, obteniendo como resultado la infestación de la espora de P. penetrans a Meloidogyne incognita. El descubrimiento de la bacteria natural del parásito aumenta la esperanza de que el organismo podría ser cultivado y agregar a suelos infestados con nemátodos como un nematicida natural.

La reducción en el agallamiento al utilizar *P. penetrans*, permite suponer que este organismo puede ser utilizado eficientemente como controlador de poblaciones de nemátodos agalladores de las raíces, Además, se podría realizar un manejo integrado de estos nemátodos utilizando control químico y control biológico como lo sugieren Daudie *et al.* (1999).

Se ha observado gran actividad de toxinas de *Bacillus thurigiensis* contra nemátodos parásitos de rumiantes (Edwards *et al.*, 1990).

Narva et al. (1991), y Payne en 1992, hacen mención de la toxina Cry 12 de *B. thurigiensis*, que posee el holotipo Cry 12 Aa (antes Cry VB). Esta toxina, en su forma inmadura presenta toxicidad hacia nemátodos y ácaros.

Narva *et al.* (1991), señalan que la toxina conocida hasta ahora como Cry VC es el único miembro de esta clase que exhibe actividad toxica hacia los nemátodos.

La actividad de diversas toxinas producidas por bacterias del género *Bacillus*; en particular *B. thuringiensis* ha sido comprobada en contra de nemátodos de vida libre y parásitos de plantas y animales (Yu Ziniu, 1993). La toxicidad de *B. thuringiensis krustaki* y *B. thuringiensis israelensis* en pruebas in vitro resultó ser elevada sobre huevos y larvas de nemátodo *Trichostrongylus colubrifor*mis (Bottjër y Bone, 1987). Resultados similares se obtuvieron con un aislamiento de esta bacteria contra larvas de *Strongyloides papillosus* (B'Oan *et al.*, 1995).

Brian (1995), menciona que las bacterias y los hongos reducen el ataque de nemátodos agalladores ya que afectan su desarrollo y pueden crear resistencia, por lo cual se debe considerar el papel de la planta hospedera en la interacción con sus enemigos naturales.

Mena et al. (1998), mencionan que cepas de bacterias del suelo y otras aisladas directamente de huevos y nemátodos enfermos han sido aisladas y

estudiadas en cuanto a su efecto nematicida para el control de varias especies de nemátodos en experimentos de laboratorio y de campo, dando como resultado que *Corynebacterium paurometabolum* C – 24 fue el nematicida biológico de mayor efectividad, fundamentalmente en el control de *Meloidogyne incognita* y *Radopholus similis*. Por otra parte, determinaron que la bacteria *Bacillus thuringiensis* var. *krustaki* cepa LBT –3 (Serotipo H - 3), demostró efectividad en el control de las altas poblaciones de los fitonemátodos parásitos *Radopholus similis*, *Pratylenchus coffeae*, *Helicotylenchus multicinctus* y *Meloidogyne incognita*.

Jonathan et al. (2000), realizaron experimentos bajo invernadero para determinar la eficacia de rhizobacterias promovedoras del crecimiento de las plantas (Bacillus cereus, B. subtilis, B. sphaericus, Agrobacterium radiobacter, Pseudomonas fluorences, P. chlororaphis y Burkholderia cepacia, actinomicetes no caracterizados y la bacteria parasitica Pausteria penetrans sobre Meloidogyne incognita raza 1 en tomate y banano. Tanto las bacterias como los hongos y actinomicetos favorecieron el crecimiento de ambos cultivos y suprimieron el desarrollo de agallas en las raíces de tomate en comparación con las plantas testigos.

# **NEMÁTODOS DEPREDADORES**

Los nemátodos depredadores juegan un papel importante en el equilibrio poblacional de otras especies de nemátodos en los suelos. Por la tanto, es

recomendable tratar de utilizar este comportamiento para encaminarlo en el control de nemátodos fitófagos; existen varios géneros de nemátodos depredadores los cuales son revisados por Mankau (1980) distribuidos en las siguientes superfamilias:

Mononchoidea. Los miembros de esta superfamilia presentan gran actividad como habitantes del suelo que supera a otros organismos. Se ha observado a Clarkus papillatus e Lotonchus brachylaimus devorando larvas de Meloidogyne spp y de Heterodera schachtii, lo cual les da importancia como agentes de control biológico. Asimismo, los nemátodos depredadores Mononchus aquaticus y M. tunbridgensis se alimentan de larvas de Heterodera y Meloidogyne, adultos y larvas de Pratylenchidae y larvas de Aphelenchus avenae; otros ejemplos comunes son el de Mylonchulus sigmaturus predando sobre Tylenchulus semipenetrans y Meloidogyne javanica, y el de Prionchulus punctatus que preda a Meloidogyne incognita.

En un estudio Al Azmi (1983), evaluó el efecto depredador que ejerce Lotonchus monhystera sobre Helicotylenchus dihystera.

Dorylaimoidea.- Algunos miembros de este taxón son omnívoros y otros son depredadores. Entre los depredadores de nemátodos, *Thorina* spp es el que ha recibido mayor atención por parte de los nematólogos; lo anterior se refleja en el considerable número de informes que existen y mencionan el

eficiente control que ejerce sobre el nemátodo de los cítricos *Tylenchulus* semipenetrans.

Diplogasteroidea. Dentro de esta superfamilia, *Dipleteron* spp se han encontrando devorando diversas especies de nemátodos, por lo que tiene factibilidad de ser utilizados como posibles agentes de control biológico.

Aphelenchoidea en esta superfamilia se encuentra el género depredador Seínura sp, que con frecuencia se asocia con ciertas especies de nemátodos, como es el caso del nemátodo agallador Meloidogyne spp. Existen también depredadores que se han observado devorando larvas "in vitro", los más comunes son: Mononchus sp, Mononchoides sp, Anatonchus sp, Diplogaster sp, Triplyla sp, Seinura spp, Dorylaimus sp y Discolaimus sp (Taylor y Sasser, 1980)

## **HONGOS ANTAGÓNICOS**

Los hongos antagónicos están representados por una gran variedad de organismos que incluyen los hongos depredadores - atrapadores, hongos endoparásitos, parásitos de huevos y quistes de nemátodos, así como hongos que producen metabolitos tóxicos a nemátodos; estas especies son cosmopolitas (Mankau, 1980).

Patil y Pendse (1983), mencionan a los siguientes hongos nematófagos como los más frecuentes en la India: Arthrobotrys arthrobotryoides, A. musiformis, Dactylaria haptospora, Haptoglassa heterospora, H. zoospora, Harposporuim helicoides, Meria coniospora, Monocrosporuim gephyropagum y M. megalosporum

Gintis et al. (1983),encontraron con mayor frecuencia como parásitos de Heterodera glycines a los siguientes hongos: Chaetomiun cochlioides, Exophiala pisciphla, Fusarium oxysporum, Paecilomyces lilacinus y Verticillium chlamydosporium. Así mismo, Juhl (1985), encontró a Hirsutella heteroderae sobre Heterodera schachtii.

En diversos experimentos se dieron a conocer las habilidades del hongo endoparásito de nemátodos *Meria coniospora* (*Drechmeria coniospora*) para adherirse a la cutícula y a la región de la cabeza del huésped, para penetrarlo, desarrollarse y esporular (Jansson, 1985; Jansson y Nordbring – Hertz, 1984; Jansson *et al.* 1985).

Mekhtieva *et al.* (1984), reportan como hongos nematófagos endoparásitos a *Nematoctonus hapoclades*, *N. haptocladus, N. concurrens* y *N. leptosporus*.

En algunas partes del mundo se conoce a *Paecilomyces lilacinus* como un efectivo parásito de huevos de *Meloidogyne* spp. Aún y cuando tiene una

amplia distribución, la especie se presenta con mayor frecuencia en áreas de clima caliente y en particular en los trópicos (Morgan – Jones *et al.*, 1984).

El hongo *Paecilomyces lilacinus* (Thorn) Samson, es un Hyphomyceto saprófito frecuente en muchos suelos del mundo; se le clasificó originalmente como *Penicillium lilacinum;* la especie fue reclasificada como *Paecilomyces* Bainer por Samson basándose en la morfología de los conidióforos; ha recibido varios nombres debido a su diverso rango de hábitat y a su variable expresión morfológica (Morgan - Jones *et al.*, 1984).

Mankau y Wu (1985), encontraron a *Monacrosporium ellipsosporium* asociado a masas de huevos de *Meloidogyne incognita* predando a las larvas recién emergidas, con una disminución en el número de agallas de 50 por ciento.

En estudios recientes sobre *Dactylella leptospora* y *Acaulopage pectospora* se describen a los órganos atrapadores creciendo de hifas con un hinchamiento terminal y la presencia de substancias adhesivas (Saikawa, 1985, Saikawa y Morikwa, 1985).

Los nematólogos del Centro Internacional de la Papa (CIP) en Lima, Perú, descubrieron que *P. lilacinus* controla eficientemente las poblaciones del nemátodo agallador, considerando que es un organismo que puede ser utilizado como un efectivo agente de control biológico (Jatala, 1985).

Posteriormente, Saikawa y Arai (1986), mostraron que **Nematoctonus** pachysporus es Hyphomyceto endoparásito de nemátodos que forma una masa fibrosa sobre el huésped, seguida por el surgimiento de apresorios y la secreción de substancias adhesivas para facilitar la infección.

Rich (1986), menciona que los reguladores biológicos han recibido interés por los fitopatólogos desde la publicación del trabajo de Sanford en 1926, sobre los factores que afectaban la patogenicidad de *Actinomyces* scabies en la producción de la roña de la papa.

Culbreath et al. (1986), y Román y Rodríguez – Marcano (1985) mencionan que entre los agentes biológicos existen hongos que limitan el incremento poblacional de los nemátodos; varios investigadores han estudiado a estos hongos y concluyen que estos patógenos ofrecen buenas perspectivas como agentes biocontroladores.

Cabanillas y Barker (1986), mencionaron que algunos hongos se han estudiado como organismos antagónicos para nemátodos; de estos *Paecelomyces lilacinus* (Thorn) fue descrito como parásito efectivo de huevecillos de *Meloidogyne* spp.

Gaspard y Ferris (1990), mencionan que *Paecilomyces lilacinus* (Thorne) Samson es un efectivo parásito de huevecillos de *Meloidogyne* spp.

López et al. (1991), y López (1995) mencionan que el hongo Paecilomyces lilacinus, muestra un efecto patogénico contra Meloidogyne incognita, en concentraciones a partir de 10<sup>7</sup> conidias por mililitro; puede además producir sustancias que actúen sobre los huevos y larvas y éstas presentan deformaciones y pérdida de movimiento.

Muchos hongos se han aislados de hembras, quistes y masas de huevos de *Heteroderidae* alrededor del mundo (Crump, 1991; Rodríguez – Kabana, 1990 y Morgan – Jones, 1988).

Jatala *et al.* (1992), identificaron 75 especies de hongos en el cultivo de cacahuate que fueron aislados de huevecillos de *Meloidogyne incognita*, entre estos se encuentran a *Penicillium* spp, *Aspergillus* spp, *Trichoderma* spp *y Fusarium* spp.

Santos et al. (1992), evaluaron 20 especies de hongos aislados de muestras de raíces y suelo recolectados en 50 localidades de Brasil, como agentes de control biológico frente a segundos estadios juveniles, huevos y masas de huevos de *Meloidogyne incognita*, ensayos " in vitro" mostraron que aislados de *Paecilomyces lilacinus*, *Arthrobotrys conoides*, *A. musiformis*, *A. robusta*, *Monoacrosporiun ellipsosporium*, *Dactylaria thaumasia*, *Cylindrocorpon* sp y *Trichoderma* sp fueron parásitos eficientes para *Meloidogyne incognita*.

Osorio *et al.* (1994), evaluaron el hongo antagonista *Paecilomyces lilacinus* para el control de *Meloidogyne* spp observando que la edad más efectiva del hongo en el control del nemátodo fue entre los 15 y 30 días con una reducción del 50 por ciento.

Freites et al. (1995), con 19 aislamientos de *P. lilacinus* de diferentes países y regiones de Brasil más un aislamiento de *Cylindrocarpon* destructans fueron evaluados" in vitro" por su parasitismo en huevos de *Meloidogyne javanica*. Los aislamientos variaron en su habilidad para colonizar huevos. Bajo condiciones de invernadero con plantas de tomate, aislamientos de *P. lilacinus* y *C. destructans* redujeron el número de agallas de *M. javanica*.

Lara et al. (1996), evaluaron en campo la eficiencia del hongo Paecilomyces lilacinus como agente de control biológico sobre nemátodo nodulador y su rentabilidad en tomate. Paecilomyces lilacinus redujo las poblaciones de Meloidogyne incognita en el suelo y en las raíces, parasitó los huevos del nemátodo, disminuyendo la modulación radical e incrementó los rendimientos y los beneficios económicos del cultivo

Chen et al. (1996), realizaron un trabajo en donde la colonización de hongos fue determinada por las masas de huevos colectados en raíces de tabaco infectadas con una población mezclada de **Meloidogyne incognita** y **M**.

javanica en un campo de Florida. De 467 masas de huevos examinadas, 48 por ciento fueron colonizados y más de 15 especies de hongos fueron aisladas. Paecilomyces lilacinus fue el hongo predominante y fue encontrado en 26 por ciento del total de masas de huevos y en un 54 por ciento de las masas de huevos, cuando la planta fue colonizada por los hongos Fusarium oxysporum, Pyrenochaeta terrestris y un hongo estéril también comunes en las masas de huevecillos.

Fernández (1997), menciona que *Paecilomyces lilacinus* es un hongo con efecto nematicida muy efectivo en el control de *Meloidogyne* en el cultivo de quayabo.

*P. lilacinus* parasita los huevos y hembras de los nemátodos, causando deformaciones, destrucción de ovarios y reducción de la eclosión. En condiciones de pH ligeramente ácido, produce toxinas que afectan además, el sistema nervioso de los nemátodos (Paecisav –1, 1997)

Fernández et al. (2000), mencionan que los hongos de los géneros Fusarium y Paecilomyces ,así como Veticillium chlamydosporium pueden ser una alternativa eficiente para el manejo de Meloidogyne spp, en sistemas de producción intensiva de hortalizas. Identificación de Poblaciones de Meloidogyne incógnita en el Guayabo (*Psidium guajava* L) y la Recuperación de Microorganismos Asociados a su Control en la Región de Calvillo, Aguascalientes

Ana Maria Acosta Zamarripa, SAGARPA - Sanidad Vegetal Av. Convención 2002, Aguascalientes, Ags., Gabriel Gallegos Morales, Melchor Cepeda-Siller, Jesús García-Camargo, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; Departamento de Parasitología Agrícola, Buenavista, Saltillo, Coah. y Rodolfo Velásquez Valle, Campo Experimental Pabellón –INIFAP, Apartado Postal No. 20, Pabellón de Arteaga, Ags. C.P 20660 \*ggalmor@narro.uaaan.mx

#### Resumen

Se identificó la especie del nemátodo agallador que parasita al cultivo del guayabo y la asociación de hongos y bacterias que pueden ser utilizados para su control. Se realizó colecta de suelo y raíz en las localidades de Cerro Blanco, Mesa Grande, La Labor y Malpaso, del municipio de Calvillo, Aguascalientes. Los nemátodos colectados se identificaron en el nivel de especie por medio de patrones perineales de hembras adultas, así como la observación de la parte anterior de los machos. De las cuatro localidades se obtuvo un total de 20 poblaciones diferentes de *Meloidogyne*, en las cuales se encontró una frecuencia del 100 por ciento de *Meloidogyne incognita*, además se identificaron dos diferentes géneros de nemátodos bacteriófagos y depredadores, *Rhabditis* y *Mononchus*; se aislaron tres bacterias del género *Bacillus*, (*B. cereus/thuringiensis*, *B. subtilis* y *B. megaterum*) y el hongo *Paecilomyces farinosus* 

Palabras clave adicionales: *Meloidogyne* spp, *Bacillus* spp, *Paecilomyces* sp, Guayabo.

### Sumary

The species of the gall nematode that parasitizes guava was identified as well as the fungi and bacteria associated with it which could be used for its control. Soil and root samples were collected in the areas of Cerro Blanco, Mesa Grande, La Labor and Malpaso, in the region of Calvillo, state of Aguascalientes. The species of nematodes were identified by perineal patterns of adult females as well as observations of the anterior part of males. A total of 20 different populations of *Meloidogyne* were found in the 4 localities sampled, with 100 per cent frequency of *Meloidogyne incognita*. Two different predaceous nematode genera were identified *Rhabditis* and *Mononchus*, as well as the isolation of three bacteria of the genus *Bacillus*, *B cereus / thuringiensis*, *B. subtilis* and *B. megaterum* and the fungus *Paecilomyces farinosus*.

Additional key words: *Meloidogyne* spp., *Bacillus* spp., *Paecilomyces* sp., Guava.

### INTRODUCCION

En México el cultivo del guayabo (Psidium guajava L) ocupa una superficie aproximada de 21,500 ha, distribuidas en 11 estados. Las principales regiones productoras de guayaba del país se localizan en Aguascalientes, Michoacán y Zacatecas. En el municipio de Calvillo, Aguascalientes, este frutal ocupa 7,679 ha que representan el 36 por ciento de la superficie plantada a nivel nacional, con un rendimiento promedio de 16 ton/ha. En Aguascalientes se producen 98 mil toneladas anuales de fruta y se dedican a este cultivo alrededor de 3 mil productores que generan 1.4 millones de jornales al año, sin considerar los empleos en la industria, transporte y comercialización de la fruta (González 1994). Los principales factores que limitan la productividad de las huertas de guayabo son de tipo agronómico: escasez y uso ineficiente del agua de riego; poco uso de fertilizantes químicos; podas inadecuadas; presencia de plagas ("picudo de la guayaba" Conotrachelus spp, "mosca de la fruta" Anastrepha striata y " temolillo" Cyclocephala lulunata) y la incidencia de enfermedades como Pestalotia spp ("peca") y Colletrotrichum spp ("clavo"), así como la presencia del nemátodo agallador Meloidogyne spp; este último se encuentra presente en el 90 por ciento de la superficie cultivada. Este problema constituye uno de los factores limitantes del cultivo debido a las grandes perdidas en la producción; los cuales fluctúan entre el 48 y 57 por ciento en la reducción del rendimiento (González et. al., 2000).

El nemátodo *Meloidogyne* se encuentra ampliamente distribuido en varias regiones del mundo y se menciona que se han descrito 45 especies de

Meloidogyne, de las cuales M. incognita, M. javanica, M. arenaria y M. hapla son las especies más comunes en el mundo (Ramírez et al., 1995)

Carrillo et al. (1990), reportaron en el Cañón de Juchipila en Zacatecas. presencia de algunos géneros de nemátodos fitoparásitos como Helicotylenchus spp., Ditylenchus spp., Aphelenchus spp., Aphelenchoides spp., Criconemoides spp., Tylenchus spp., así como el nemátodo depredador Dorylaimus spp., pero consideraron al nemátodo agallador M. javanica como el causante de los mayores daños en el cultivo del guayabo. Los síntomas en las raíces se manifiestan por la adhesión de partículas de suelo en los lugares donde se encuentra alojada la hembra adulta (Suárez et al., 1995). Los síntomas aéreos (Fig 1) se manifiestan por presencia de parches en el campo con zonas de clorosis, aún en presencia de fertilización adecuada; marchitez de las hojas; reducción del crecimiento y del rendimiento de la planta. Los síntomas subterráneos pueden ser necrosis externa e interna de las raíces. formación de agallas por multiplicación y aumento del tamaño de las células. así como proliferación del número de raíces por acumulación de sustancias de crecimiento. Se ha pretendido regular las poblaciones de nemátodos mediante el empleo de hongos (Tribe. 1980). Así Freites et. al. (1995), aislaron 19 cepas de Paecilomyces lilacinus y observaron que esos aislamientos redujeron el número de agallas producidas por Meloidogyne spp. en el cultivo de tomate. En experimentos " in vitro", Zavaleta y Van Gundy (1985) mostraron sólidas evidencias de que las sustancias volátiles producidas durante la actividad de Serratia marcescens, Bacillus subtilis, B. cereus, Micrococcus luteus. Escherichia coli, y siete rizobacterias no identificadas estuvieron involucradas en la inactivación y muerte de la segunda etapa larvaria de *M. Incognita*. Los resultados experimentales indicaron que las bacterias fueron capaces de producir nematóxicos volátiles, solamente cuando la fuente de nitrógeno en su medio de crecimiento fue de origen orgánico. Basado en lo anterior, este trabajo pretendió identificar la especie del nemátodo de la raíz en guayabo en la localidad de Calvillo, Aguascalientes, e identificar posibles agentes locales de control biológico de *Meloidogyne*.

## **MATERIALES Y METODOS**

### Colecta de muestra

La investigación se realizó en los ciclos 1999 y 2000 en las localidades de Cerro Blanco, Mesa Grande, La Labor y Malpaso, del municipio de Calvillo, Ags, México ubicado entre los paralelos 21° 43′ y 00 " y 22° 77′ 00′′ de latitud norte y entre 102° 33′ 00′′y 102 ° 52′ 00′′ de longitud oeste del meridiano de Greenwich, y a una altitud de 1680 msnm.

En cada localidad se seleccionó una huerta que presentaba árboles de guayabo con síntomas externos ocasionados por el nemátodo agallador *Meloidogyne* spp., tales como marchitez generalizada y reducción de tamaño, hojas pequeñas, cloróticas, con bordes quemados y frutos pequeños.

En cada huerta se seleccionaron 20 árboles al azar con diferente grado de daño. De cada árbol a una distancia de 1 m del tallo, con orientación norte, se obtuvo una submuestra de 2 kg de suelo y 200 g de raíz a una profundidad

de 0 – 30 cm; las 20 submuestras de suelo y raíz se mezclaron, de ellas se obtuvo una muestra representativa de la huerta que constó de 10 kg de suelo y 1kg de raíz, las cuales fueron colocadas en bolsas de polietileno para ser trasladadas a los laboratorios de Fitopatología y Nematología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

### Identificación de hembras y machos de Meloidogyne

Cada muestra de suelo o raíz se analizó en forma independiente por medio de la técnica de flotación con embudo de Baermann de acuerdo a la metodología reportada por Thorne (1961). Para cada muestra se colocaron cinco embudos de Baermann con 100 g de suelo por huerta; después de 48 horas se obtuvieron los nemátodos, se realizaron montajes de 20 machos de Meloidogyne, las cuales se identificaron de acuerdo al esquema de clasificación taxonómica, propuesto por Thorne (1961), Jepson (1983) y Luc et al., (1988), donde se mencionan las siguientes características: cutícula anillada, longitud del estilete delgado y nódulos básales definidos y cola conoide. Para confirmar la especie del nemátodo agallador de Meloidogyne, se tomó en cuenta el modelo perineal de las hembras; para ello de cada muestra de raíz de guayabo se seleccionaron al azar hembras de las cuales se obtuvo el patrón perineal. siguiendo según la técnica de Taylor (1974). Los cortes transversales perineales de las hembras colectadas de agallas se prepararon de la raíz infectada, la cual se corto en trozos de aproximadamente un centímetro, se observo en el microscopio estereoscópico y con la ayuda de agujas de disección se extrajeron las hembras, éstas se transfirieron a ácido láctico y se cortaron sobre una caja petri de plástico, dejando sólo la parte posterior del cuerpo, el tejido del interior del cuerpo se removió cuidadosamente con la ayuda de un pelo flexible, nuevamente se realizaron cortes para quitar los excedentes de cutícula y obtener solo el modelo perineal; éste se transfirió y se montó en una gota de glicerina o lactofenol, finalmente se sellaron con esmalte para uñas.

Los modelos perineales obtenidos en la forma descrita fueron fotografiados y comparados con los presentados por Eisenback *et al.* (1983). Para llevar a cabo la identificación de los nemátodos depredadores de cada una de las huertas se procedió a extraerlos del suelo mediante la técnica del embudo de Baermann. Se colectaron 10 ml de líquido de extracción para su observación y separación morfológica al microscopio estereoscópico. Se realizaron montajes de estos nemátodos y posteriormente se identificaron mediante claves pictóricas de Mai (1975) y claves para identificación de Cid del Prado (1995).

### Obtención de bacterias del suelo

Debido a que se han presentado evidencias de que las bacterias del género *Bacillus* producen sustancias tóxicas volátiles, las cuales influyen en la inactivación y muerte de nemátodos del género *Meloidogyne*, (Zavaletra y Van Gundy, 1985), se decidió aislar estas bacterias del suelo de huertas de guayabo en frascos con 90 ml de esta solución salina al 0.85 por ciento, se colocaron 10

a de suelo v se agitaron durante 10 minutos. De esta suspensión se realizaron diluciones seriadas desde 10<sup>-1</sup> hasta 10<sup>-5</sup>; posteriormente, los tubos se colocaron en baño María durante 10 minutos a una temperatura de 60° C; de los tubos se tomó 0.1ml y se colocó en caja petri con el agar nutritivo solidificado, dispersándose con una varilla de vidrio; se colocaron en la incubadora durante 48 horas a una temperatura de 28 °C. Pasado ese tiempo se seleccionaron colonias bacterianas que presentaron las características de forma y borde irregular, color blanco cremoso y seco, que corresponden al género Bacillus; se realizó la tinción de Gram y de esporas. Posteriormente, se seleccionaron las cepas 1, 2, 5, 8 y 13 (provenientes de suelo) y 14, 15, 16, 17 y 18 (originadas a partir de hembras parasitadas), ya que estas cepas presentaron las características mencionadas anteriormente, especialmente la presencia de espora, central o subterminal. A dichas cepas se les realizaron las siguientes pruebas bioquímicas: prueba de oxidación fermentación, crecimiento a 50 °C; crecimiento en NaCl al 7 por ciento; producción de ácido y gas de alucosa; crecimiento a pH 5.7; utilización de citrato; hidrólisis de almidón y producción de acetoina En la prueba de oxidación fermentación se utilizó el medio de Hugh y Leifson con un pH 7.2, adicionado con azul de bromotymol y glucosa. Se incubaron dos tubos por cepa, y a uno se le agregó aceite, para determinar crecimiento anaeróbico. Para verificar el crecimiento a 50 ° C, las colonias bacterianas se sembraron en el caldo caseína más glucosa, y se registró la turbidez del medio después de cinco días de incubación. Crecimiento en NaCl al 7 por ciento, se utilizó el mismo caldo que en la prueba anterior, pero se le adicionaron 7 g de NaCl por cada 100 ml de medio y se registró la turbidez después de cinco días de incubación. La producción de gas y ácido de glucosa se corroboró utilizando el medio de Hugh y Leifson pH 7.2 sin agar. Se usaron los tubos de Durban, invertidos en cada tubo de cultivo y se sembró la bacteria incubándose por cinco días. Pasado este período se observó la producción de ácidos por medio del cambio de color del medio de azul a amarillo; para la formación de gas, la presencia de una pequeña burbuja en el interior del tubo invertido.

Para observar el crecimiento en medio de cultivo con pH de 5.7, se utilizó el caldo caseína glucosa, se inocularon las colonias bacterianas, y se agitaron por cinco días y se registró la turbidez diaria. Para la utilización de citrato, las colonias bacterianas se sembraron en el medio de cultivo Citrato de Simmons agar, el cual contiene citrato de sodio y azul de bromotymol a 6.8. Las bacterias que utilizan el citrato de sodio son capaces de alcalinizar el medio de cultivo que presenta un cambio en la coloración de verde a azul oscuro. Para comprobar la hidrólisis de almidón se sembraron las bacterias en el medio agar almidón y después de cinco días se comprobó la hidrólisis, para la cual se agregó solución de lugol en la superficie de la caja, el obscurecimiento del medio de cultivo se debe a la presencia de almidón, cuando ocurre la hidrólisis se presenta un halo transparente alrededor del crecimiento bacteriano. La producción de Acetoina (Vogues Proskauer ) se efectuó sembrando las colonias bacterianas con caldo del cultivo YS con glucosa y se agitaron de dos a cinco días. Para realizar la prueba se tomó 1 ml del caldo donde se desarrollaba la colonia bacteriana; se le agregaron 0.6 ml de KOH al 40 por ciento y 0.2 ml de naftol; se agitaron vigorosamente en el Vortex y se dejaron reposar; la aparición de un anillo rojo en la superficie del medio indicaría una reacción positiva.

## Obtención de bacterias en hembras de Meloidogyne spp.

Las hembras de Meloidogyne que presentaron una coloración amarilla a café obscura fueron extraídas directamente de la agalla y se colocaron en medio de cultivo de Agar Nutritivo (AN) y se incubaron durante ocho días a una temperatura de 28 ° C. Las colonias bacterianas obtenidas se sembraron en estría y se efectuó la tinción de Gram. Se observó la presencia de flagelos y de la espora oval así como de su posición. Se realizaron las pruebas bioquímicas mencionadas anteriormente. Para B. cereus se utilizó el sistema de pruebas Biolog para identificar la especie correspondiente; la prueba del Biolog consiste en la utilización de una placa especial que contiene 96 pozos y cada uno de ellos contiene carbohidratos diferentes y un indicador. Las colonias bacterianas obtenidas se sembraron en medio de Bug (biological universal gram), al cual se adicionó maltosa y se humedeció la superficie solidificada con una solución de téoglicalato de sodio (para evitar la formación de esporas) y se incubaron 24 horas. Se repitió el procedimiento 2 días consecutivos, con el propósito de acondicionar la bacteria y colocarla en la miniplaca; se preparó la solución bacteriana a una concentración de 28 por ciento de trasmitancia en el turbidimetro (Biolog). Se colocaron 150 microlitros en cada pozo de la microplaca GP2; se incubaron a 35 ° C y se tomó la lectura después de 24 horas: se consideró un resultado positivo cuando el pozo se tornó de color morado intenso, y negativo cuando el pozo fue transparente; intermedio, cuando el color morado fue más tenue. En base a los resultados de coloración se conforma un patrón, el cual se interpreta por medio de un programa en la computadora, indicando en corto tiempo el resultado.

## Obtención de hongos en hembras de Meloidogyne spp.

De las agallas de las raíces se extrajeron 60 hembras aparentemente parasitadas (Figura 1), a las cuales se les proporcionó un proceso de desinfección superficial con una solución al 0.1 por ciento de NaOCI durante tres minutos. Se colocaron en medio de cultivo con Papa Dextrosa Agar (PDA) y se incubaron a 24° C durante tres semanas para permitir el crecimiento de colonias fungosas; estas se aislaron en cajas de petri con PDA. Las cepas puras se duplicaron para obtener fotografías, mientras que la cepa madre se mantuvo en refrigeración.





Figura 1. Síntomas externos causados por *Meloidogyne incognita* y hembras parasitadas por un hongo o bacteria.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

muestreadas se obtuvieron hembras de En las cuatro huertas Meloidogyne de las agallas formadas en las raíces de los árboles de guayabo (Figura 2). Las características de la región cefálica anillada (dos anillos) y la parte anterior del estilete en forma de "remo" con punta roma, nódulos basales redondeados y la distancia de la base de los nódulos a la (DGED) descarga de la glándula dorsal esofágica muy corta, corresponden a M. incognita (Figura 2). Las características del corte perineal donde el arco dorsal fue alto, formado por estrías que variaron de lisas a onduladas corresponden a M. incognita. En un muestreo adicional llevado a cabo en Los Arcos se identificó a M. javanica, de acuerdo con las características de la región cefálica (sin anillos) y la DGED corta; además el modelo perineal presentó líneas laterales visibles y el arco dorsal bajo y redondeado. La presencia de M. incognita y M. javanica coincide con otras investigaciones como la de Carrillo et al. (1990), quienes reportaron en el Cañón de Juchipila, Zac, la presencia de M. javanica; Mata y Rodríguez (1985) al consignar una relación de 22 especies de nemátodos que parasitan al quayabo en Hawai señalan a M. incognita entre los más importantes. Cañizares (1968) consigna un trabajo realizado por Kuhn, quien encontró cuando menos tres especies del género Meloidogyne parasitando las raíces de guayabo; sin embargo, no reportó de cuáles especies se trataba.

# BANCO DE TESIS





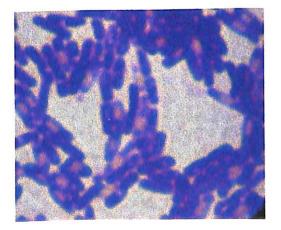
Fig 2 Raiz afectada y corte perineal de hembras de Meloidogyne incognita

En cuanto a los nemátodos depredadores que se presentaron en las cuatro huertas en donde se llevaron a cabo los muestreos se identificó a *Rhabditis* spp reportado como que se alimenta de hongos y bacterias (Cepeda 1996), así como *Mononchus* spp. que se alimenta de otros nemátodos. La presencia de *Rhabditis* spp. *y Mononchus* spp. no había sido reportada en el cultivo del guayabo en Aguascalientes, así mismo, los machos también fueron encontrados en la presente investigación.

## Aislamiento y caracterización de bacterias

Se lograron recuperar en (AN) Agar Nutritivo a partir de solución del suelo y hembras parasitadas 18 colonias bacterianas, las que presentaron un color blanco, de forma irregular, superficie convexa, color blanco cremoso y crecimiento abundante. Las colonias bacterianas numeradas del 1 al 17, las cepas 1, 2, 5, 8, 13, 14, 15, 16, 17a y 17b fueron positivas a la tinción de Gram, mostraron presencia de flagelos y espora central o subterminal (Figura 3); esto

último determinó que esas colonias pertenecían al género Bacillus de acuerdo con las características mencionadas por Schaad, (1980). Las pruebas bioquímicas que permitieron identificar las especies del género Bacillus de las colonias bacterianas obtenidas de suelo de huertas de guayabo y de hembras de Meloidogyne spp. parasitadas fueron: las colonias con bordes lisos, Gram. positiva, flageladas, y las pruebas bioquímicas citadas en la tabla 1 ubicaron a las bacterias en B. subtilis, en la colonia bacteriana número 8; mientras que B. megaterum se presentó en las número 1, 2, 5, 14, 15 y 16 colonias provenientes de suelo. Por otro lado, en las colonias 13, 17, 17a y 17b originadas en hembras de Meloidogyne parasitadas se identificó a la especie B. cereus, por lo cual se realizaron la prueba del Biolog y pruebas bioquímicas para determinar subespecie (Cuadros1); éstas indicaron que la subespecie que parasita las hembras de Meloidogyne es B. cereus/thuringiensis, bacteria va reportada por Zavaleta y Van Gundy (1985) como la más activa para el control de M.incognita.



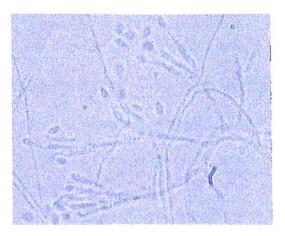


Fig. 3 Células de Bacillus cereus/thurigiensis y conidióforos y conidias de Paecilomyces farinosus

Cuadro 1. Características Morfológicas y Bioquímicas de las Cepas Bacterianas Obtenidas de Suelo y Hembras de *Meloidogyne* spp del Cultivo del Guayabo en el Municipio de Calvillo, Ags.

		UAAAN			Schaad		
Pruebas Bioquímicas	B. cereus	B. subtilis	B. megaterum	В. сетеця	B. subtilis	B. megaterum	
Gram	+*	+	+	+	+	+	
Flagelos	+	+	+	+	+	+	
Espora Oval	+	+	+	+	+	+	
Espora central	+	+	+	+	+	+	
Crecimiento a 50 °C	-	-	-	V	-	V	
Crecimiento en pH (5.7)	+	+	+	+	+	+	
Crecimiento NaCl (7.0%)	+	+	+	+	+	+	
Utilización de Citrato	+	+	+	+	+	+	
Fermentación	+	-	-	+	-	-	
Acetoina	+	+	-	+	+	-	
Hidrólisis de almidón	+	+	+	+	+	+	

<sup>• +</sup> reacción positiva de la bacteria, - reacción negativa y V reacción variable.

Para identificar las colonias de *B. megaterum*, *B subtilis* y *B. cereus/thuringiensis* se compararon con las claves de Schaad (1980). La prueba de crecimiento a 50°C en las tres especies fue negativa, no se presentó turbidez al medio; el crecimiento en NaCl al 7 por ciento fue positivo para las tres especies de bacterias. En la producción de gas y ácido de glucosa las tres bacterias presentaron reacción positiva. En la prueba de oxidación fermentación, las tres colonias de las especies de *Bacillus* mostraron una reacción positiva, (cambio de color de azul a amarillo) el pH del medio bajó a

menos de 6. En la prueba de acetoina, las colonias de *B. cereus* y *B. subtilis* mostraron una reacción positiva (anillo rojo en la superficie del medio), en tanto que en *B. megaterum* fue negativo. En la prueba de hidrólisis de almidón, las tres especies de *Bacillus* indicaron una reacción positiva, al observarse un halo transparente alrededor del crecimiento bacteriano.

El hallazgo de las bacterias reportadas, coinciden con los reportes de Zavaleta y Van Gundy, (1985), quienes presentaron evidencias de que sustancias volátiles producidas durante la actividad de B. subtilis y B. cereus estuvieron involucradas en la inactivación y muerte de la segunda etapa larvaria de M incognita. Sin embargo, no se han reportado evidencias de que las tres especies de B. cereus /thuringiensis, B. subtilis y B. megaterum parásiten hembras de M. incognita y M. javanica, tal y como se encontró en este estudio. pues se logró aislar tanto del cultivo como de hembras parasitadas. También se aisió una colonia fúngica a partir de hembras de Meloidogyne. El hongo presentó colonias color blanco - amarillo de crecimiento moderado; conidióforos erectos de hifas horizontales con fialides; los conidióforos y ramificaciones son más divergentes (Figura 3); conidias (fialosporas) en cadenas basipétalas unicelulares, ovoides o fusiformes, hialinas. Con base en las características taxonómicas de este hongo, se realizaron comparaciones con claves (Demach, 1980) de hongos del suelo: el hongo que se encontró parasitando a hembras de M. incognita en el cultivo del guayabo en Aguascalientes se identificó como Paecilomyces farinosus. Este hongo no se ha reportado previamente como parásito de hembras de Meloidogyne incognita. aunque se reporta como parásito de insectos (Demach, 1980).

En el presente trabajo se puede concluir que la especie del nemátodo agallador que se encontró parasitando al cultivo del guayabo en las cuatro localidades incluidas en el estudio fue *Meloidogyne incognita* 

Los géneros de nemátodos depredadores que se encontraron en suelo de árboles de guayabo parasitados por *Meloidogyne* spp. fueron: *Rhabditis* y *Mononchus*.

Las especies de bacterias *Bacillus subtilis* y *B. megaterum* se encontraron asociadas a suelo del cultivo del guayabo, mientras que *Bacillus cereus/thuringiensis* se encontró frecuentemente asociada a suelo y a hembras de *M. incognita*, así como también el hongo *Paecilomyces farinosus*.

•

### LITERATURA CITADA

- Anónimo. 1981. Síntesis Geográfica de Aguascalientes. Secretaría de Programación y Presupuesto. México, D.F. pp. 17-18.
- Cañizares, Z. J. 1968. La guayaba y otros frutos de myrtaceas. Edición revolucionaria Instituto del Libro. La Habana, Cuba. pp 82- 84.
- Carnerio, R.M.D.G., Carnerio, R.R.G., Abrantes I.M.O., Castagone Sereno, P. y Almeida, M.R.A. 1995. Una nueva especie de Meloidogyne Nematoda Meloidogynidae) parasito del café en Brasil. Nematropica 25, (2) 82
- Carrillo, R.J., F.C. Carrillo y A.J.L. Domínguez 1990. Nemátodos asociados al cultivo de la guayaba *Psidium guajava* L. y control químico en el Cañón de Juchipila, Zac, Méx. Revista Chapingo 67 y 68: 94–97.
- Culbreath, A. K., R. Rodriguez Kabana and G. Morgan Jones. 1986. Chitin and *Paecilomyces lilacinus* for control of *Meloidogyne arenaria*. Nematrópica 16: 153-66.
- Cepeda, S. M. 1996. Nematología Agrícola .Ed. Trillas, México, D.F. p. 135.
- Cid del Prado, V.C. 1995. Claves de nemátodos del orden Tylenchida Subordenes Tylenchina y Aphelenchina. Colegio de Posgraduados. Programa de Fitopatología Montecillos. México. 355 p.
- Demach, K.H. 1980. Compendium of soil fungi. Institute of Soil Biology Federal Agriculture Research Centre Braunchmeing. Federal Republic of Germany. pp 527-528.
- Eisenback ,J.D., H. Hirschmann, J.N. Sasser, and A.C. Triantaphyllou 1983. Guía para la identificación de las cuatro especies más comunes del nemátodo agallador (*Meloidogyne* especies), con una clave pictórica. Departamento de Fitopatología, Universidad del Estado de Carolina. Raleigh, N.C.p. 48.
- Freites, G., S. Feraz and J. J. Muchosvej. 1995. Effectiveness of different Isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Cylindrocarpon destructans* on the control of *Meloidogyne javanica*. Department of Plant Pathology. University of Florida Gainesville, FL pp 32-41.
- González, G. E. 2000. Tecnología para producir guayabo en Calvillo, Aguascalientes. Folleto para Productores No. 28, CAEPAB, CIANOC, INIFAP pp 3-4.

- González, G.E. y P. Rangel. 1985. El guayabo rojo en la región Calvillo-Cañón del Juchipila. Informe anual Inv. SARH-INIA-CIANOC CEDEC p 14.
- Hartman, K.M. and J.N. Sasser 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology. pp 69-77.In: Barker, K. R. C., C. Carter. and J. N. Sasser. (Eds). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*.Volume II.Methodology. North Carolina State University Graphics. Raleigh, NC.
- Mai, N. F. and Lyon, H.H.1975 Pictorial key to genera of plant parasitic. 4th. ed. Comstock/Cornell Univ. Press. Ithaca, N.Y.
- Mata, B. I y M. A. Rodríguez 1985 El guayabo, Aspectos de su cultivo y producción Depto. Editoril. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coah. México pp. 116-131
- Sasser, J. N. 1995. Worldwide dissemination and importance of the root-knot nematodes *Meloidogyne* spp .J. Nematol. 9:26-29
- Suárez. H. Z; L.C. Rosales; González; A. Rondón., V. Tellechea; R. Navas y R. Solórzano 1995. Asociación de hongos con el nemátodo agallador del guayabo *Psidium guajava* L. VIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Mérida 22 al 26 octubre. Resúmenes. Revista Forestal Venezolana 1(1):85
- Román, J. 1978. Fitonematología Tropical. Estación Experimental Agrícola. Río Piedras, Puerto Rico. 225 p.
- Román, J. y A. Rodríguez-Marcano. 1985. Effect of fungus *Paecilomyces lilacinus* on the larval population and root knot formation of *Meloidogyne incognita* in tomato. J. Agric.Univ. P.Rico. 69: 159-67.
- Ruiz, O. J. 1980. Fitonemátodos observados en el cultivo del guayabo y su control Universidad Autónoma de Aguascalientes. Inédito. 40 p.
- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1983. Hoja desplegable de divulgación del IV Distrito de Temporal, Jalpa, Zac. SARH- Sanidad Vegetal, Zac., México.
- Schaad, N.W. 1980. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria American Phytopathological Society. St Paul, Minessota USA. 158 p.
- Padilla, R J. S., G. E. González, V. E. Esquivel y M. L. Reyes. 2000. Manejo de Problemas Radicales del guayabo en Calvillo, Aguascalientes Folleto científico Núm.7 CAEPAP; CIANOC; INIFAP pp 4-5.

- Taylor, A.L. and J.N. Sasser, 1978. Biological identification and control of root knot nematodes (*Meloidogyne* species) North. Carolina State University and U.S. Agency for International Development, Raleigh.N C. 111p.
- Tribe, H .T. 1980. Prospects for the biological control of plant parasitic nematodes. Parasitology 81: 619- 639
- Thorne, G. 1961. Principles of Nematology. Mc Graw Hill, New York .pp. 53 58

Zavaleta, M. E. and S. D. Van Gundy. 1985. Antagonist effect of bacteria on second stage larvae of *Meloidogyne incognita* in " in vitro" conditions. XXV Annual Meeting. American Phytopthological Society, Caribbean Division. Guanajuato, Mex. p 198.

### **CONCLUSIONES GENERALES**

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, se puede concluir lo siguiente:

La especie del nemátodo agallador que se encuentra parasitando al cultivo del guayabo en las cuatro localidades bajo estudio fue *Meloidogyne* incógnita.

Los géneros de nemátodos depredadores que se encontraron en suelo de árboles de guayabo parasitando a *Meloidogyne* spp. fueron: *Rhabditis* y *Mononchus.* 

Las bacterias *Bacillus subtilis* y *B. megaterum* se encontraron asociadas a suelo del cultivo del guayabo, mientras que *Bacillus* cereus/thuringiensis se encontró frecuentemente asociada a suelo y a hembras de *M. incógnita*, así como también se detectó al hongo *Paecilomyces farinosus* parasitando a hembras del nemátodo mencionado.

#### LITERATURA CITADA

- Acosta, C., I. Peña, M. Umanzor, E. De Murguía, M. de Garay & H. E. Domínguez. 1994. Inoculación de *Pausteria penetrans* para el Control de Poblaciones de *Meloidogyne sp.* Nematropica 24 (2): 73.
- Agrios, N, G. 1996. Fitopatología. Editorial LIMUSA, S.A de C. V. Grupo Noriega Editores, México D. F. pp 747 –766.
- Anónimo. 1981. Síntesis Geográfica de Aguascalientes, Secretaria de Programación y Presupuesto. México, DF. 78p.
- Anónimo. 1989. Compendio de agronomía tropical. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José de Costa Rica. pp 356 –358.
- Aguirre, A. A. 2001. Nemátodos Asociados al cultivo del guayabo (*Psidium guajava* L.) en Calvillo, Ags. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. B.S.C.44 p.
- Alexopoulus, C. J. and C. W. Mims.1979. Introductory Mycology. 3rd edition Sons . Wileyand. New York. 632.p.
- Al Hazmi, A., D.P. Schmitt and J. N. Sasser. 1982. Population dynamics of *Meloidogyne incognita* on corn grown in soil infested with **Arthrobotrys conoides**. J. Nematol. 14 (1): 44 50.
- Azmi, M. I. 1983. Predatory behaviour of nematodes. Biological control of *Helicotylencus dihystera* through the predaceous nematode *Lotonchus monhytera*. Indian J. Nematol .13: 1-8.
- Belyakova, L. A., L. N. Nelepina, V. B. Udolova and N. V. Matskevich. 1986. Possibilities of preserving the cultures of nematophagous predaceous fungi in collections. Milkol. Fitopatol. 20: 64-67.
- Bird, F. A. 1972. The Structure of Nematodes. Academic Press, New York. 318 p.
- Brian, K. 1995. Microbial agents for the biological control of plant parasitic nematodes. Nematropica 25 (2): 91.
- Brown, S. M. y G. Smart., 1985 Root penetration by *Meloidogyne incognita* juveniles infected wiht *Bacillus penetrans*. J. Nematol 17:123- 126.
- Cabanillas, E. y K. R. Barker. 1986. Histological examination of the effects of fungus *Paecilomyces lilacinus* on root galling caused by *Meloidogyne incognita* on excised tomato roots grown in a synthetic medium. (Abstract ) J. Nematol 18: 601.

- Castilla, M. A. 1992. Especies del Género *Meloidogyne* en la Provincia de Tucumán en Argentina. Nematropica 22 (2): 86.
- Castro, A. A., E. M. Zavaleta V.I., Cid del Prado y G. V. Zamudio. 1990. Rotación e incorporación de *Tagetes erecta* L. para manejo de *Meloidogyne* en el cultivo del tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) en Tecamachalco Puebla. Revista Mexicana de Fitopatología 8:173 180.
- Carneiro, R. M. G. D. 1986 Etudé des possibilite d'útilisation de champignon nématophage *Paecilomyces lilacinus* (Tohm) Samson 1974, comme agent de lutte biologique contre *Meloidogyne arenaria*. Ph.D. disertation Academie de Montepellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, 82 p.
- Carnerio, R. M. G. D., R. R. G. Carnerio; I. M. O. Abrantes., P. Castogone Sereno y M. R. A. Almeida. 1995. A new species of *Meloidogyne* (Nematoda Meloidogynidae) Parasitizing coffea plants in Brazil. Nematropica 25(2): 82.
- Cañizares, I. J. 1968. La guayaba y otros frutos. Myrtaceas. Edición Revolucionaria Instituto del Libro. La Habana, Cuba pp 82 84.
- Carrillo, R. J., F.C Carrillo, y A .J. L. Domínguez. 1990. Nemátodos asociados al cultivo de la guayaba *Psidium guajava* L. y control químico en el Cañón de Juchipila, Zac. Méx. Revista Chapingo. No. 67 y 68, pp 94 –97.
- Cepeda, S. M.1996. Nematologia Agrícola. Edit Trillas, México D.F.pp 295.
- Cid del Prado, I., J. Hernández, T. V. Espinosa, S. A Tovar y C. R. Torres. 1998. Distribución Geográfica y Frecuencia de Especies de *Meloidogyne* en la República Mexicana. En: Avances en la Investigación. Instituto de Fitosanidad Colegio de Posgraduados, Montecillo, Estado de México pp 114 115.
- Culbreath, A. K., R. Rodríguez Kabana and G. Morgan Jones. 1986. Chitin and *Paecilomyces lilacinus* for control of *Meloidogyne arenaria*. Nematropica 16: 153 156.
- Cook, R.J. 1985. Biological control of plant pathogens:Theory to application. Phytopathology 75: 25 29.
- Crezzoli, P. R., P. A M, Casassa, G. D. Rivas y C. J. Matheus . 1992. Nemátodos fitoparásitos asociados al cultivo del guayabo en el Estado Zulia, Venezuela. Fitopatología Venezolana 4(8): 2 - 6.

- Crump, D. H. 1991. Fungal species isolated from beet (BCN),cereal (CCN) and potato(PCN) cyst nematodes Bulletin. Section Regional Oest Paleartique (SROP) 14: 58 64.
- Chen, Z. X. 1994. Fungal antagonists of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*. Ph D dissertation, University of Florida, Gainesville, FL. pp 144 -151
- Chen , Z. X., D. W. Dickson, J. W. Kimbrough, R. Sorley, and D. J. Mitchell. 1994. Fungi associated whit females and cysts of *Heterodera glycines* in a Florida soybean field . J. Nematol. 26: 296 303.
- Chen, Z. X., D. W. Dickson and E. B. Whitty. 1996. Fungi Associated with egg Masses of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* in Florida Tobacco Field Nematropica 26: 153 57.
- Chen,z.x.,D.W.Dickson. 1997.Estimating incidence of attachment of *Pausteria penetrans* endosporas to *Meloidogyne spp*. With tslly threhols. Journal of Nematology 29: 289 295
- Crump, D. H. 1991. Fungal species isolated from beet (BCN),cereal (CCN) and potato(PCN) cyst nematodes Bulletin. Section Regional Oest Paleartique (SROP) 14: 58 64.
- Chitwood, B. G. 1949. Root Knot Nematodes Part 1 A. Revision of the Genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. Proc,. Helminthol. Soc. Wash.116 (2): 90-104.
- Christie, R.J. 1991. Nemátodos de los Vegetales su Ecología y Control. Editorial LIMUSA, S. A. México D. F. pp 62 128.
- Daudi, A. T., A. G. Channer, R. Ahmed and S. R. Gowen. 1999. *Pausteria penetrans* a biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* in Malawi and in microplots in Pakistan. Brighton Crop Protection Conference, Pests and Diseases. pp. 253 257.
- Duncan, L., W and J. W. Noling. 1998. Agricultural Sustainability and Nematode Integrated Pest Management. In: K. R. Barker, G. A. Pederson and G. I. Windham (eds) Plant and Nematode Interactions. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp 251 288.
- Domach, K. H. 1980 Compendium of Soil fungi: Institute of Soil Biology Federal Agriculture Research Centre Braunchneiny Federal Republic of Germany. 532 p.

- Dutky, E. M. and R. M. Sayre. 1978. Some factors affecting infection of nematodes by the bacterial spore parasite *Bacillus penetrans*. J. Nematol. 10: 285.
- Eisenback ,J. D., H. Hirschmann, J. N. Sasser, y A. C. Triantaphyllou. 1983. Guía para la Identificación de las Cuatro Especies más Comunes del nemátodo agallador (*Meloidogyne* spp), con una clave pictórica. Departamento de Fitopatología, Universidad del Estado de Carolina. Raleigh, N.C. p. 48.
- Esser, R. P. 1983. *Monacrosporium lysiphagum* infecting egg masses of *Meloidogyne acrita*. J. Nematol. 15: 642 643.
- Fernández E, L.1997. III Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica Universidad Central de las Villas. Villa Clara, Cuba.
- Fernández E, L. Sánchez, J.H. Mena y M. Montes. 2000. Alternativas de control de nemátodos en Cuba. Nematropica 30 (2): 127.
- Franco, J. P. Jatala and M Bocangel. 1981. Efficiency of *Paecilomyces lilacinus* as biological agent of *Meloidogyne incognita* and *Globodera pallida*. J Nematol. 13 (14): 438.
- Freire, F. C. and G. Bridge 1985. Parasitism of eggs, females and juveniles of *Meloidogyne* sp. by *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamydosporum*. Fitopatol. Bras. 10(39): 577 596.
- Freites, G., S. Feraz and J. J. Muchosvej. 1995. Effectiveness of Different isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolte of *Cylindrocarpon destructans* on the control de *Meloidogyne javanica*, Department of Plant Pathology, University of Florida, Gainesville, FL 32611. pp.109 115.
- Gaskin, T. A and H. W Crittenden.1956. Studies of the host range of *Meloidogyne hapla*. Plant Dis. Reptr. 40 (4): 272 274.
- Gaspard. J.T., B. A. Jaffee and H. Ferris. 1990. *Meloidogyne incognita* survival in soil infested with *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamydosporium* Nematol. 22: 176 81.
- Gamundi, I. J. and H. A. Spinedi. 1982. Record of nematode trapping fungi in Argentina. Physis Secc. C. Cont. Org. Terr. (Canada) 41: 37 46.
- Gintis, B. O., G. Morgan- Jones and R. Rodríguez- Kabana. 1983. Fungi associated whit several development stages of *Heterodera glycines* from Alabama soybean (*Glycine max*) field soil. Nematropica 13: 181 200.

- Godoy, G., R. Rodríguez- Kabana and G. Morgan- Jones. 1982. Parasitism of egg of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne arenaria* by fungi isolated from cysts of *Heterodera glycines*. Nematropica 12 (1): 11–19.
- Godoy, A. T. P y M. J. Yánez. 1999. El nemátodo agallador In: Memorias del curso de Fitopatógenos del Suelo en Hortalizas. Universidad Autónoma de Sinaloa. pp 19 22.
- Gómez, R. O M., A. D. Valencia y F. Castillo. 1987. *Paecilomyces lilacinus* como posible agente de control biológico para *Fusarium oxysporum* fsp *lycopersici* y *Nacobbus aberrans* en tomate. Memorias del XIV Congreso Nacional de Fitopatogía 14: 67.
- González, G. E. 1994. Picudos del género *Conotrachelus* ( Coleoptera Curculionidade) asociados a la guayaba (*Psidium guajava* L) y su importancia en el Cañón de Juchipila, Zac. Tesis de Maestria UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 77 p.
- González, G. E. 2000. Tecnología para producir guayabo en Calvillo Aguascalientes (SAGAR INIFAP CIRNOC ), Campo Experimental Pabellón. Folleto para Productores No. 28.
- González, G. E. y J. P. Rangel. 1985. El guayabo rojo de la región Calvillo Cañón de Juchipila. Informe anual Inv. SARH INIA- CIANOC-CEDEC. 114 p.
- Hartman, K. M., and J. N. Sasser. 1985 Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology. In: Barker, K. R., C. C. Carter; and J. N. Sasser. (Eds). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Vol II Methodology. North Carolina State University Graphics. Raleigh. N. C. pp 69 77.
- Hewlett, T. E. and A, C. Tarjan. 1983. Synopsis of the genus **Meloidogyne** Goldi, 1887. Nematropica 13 (1): 79–102.
- Hirschmann, H. 1982. Taxonomy of cyst and root–knot nematodes. In: Southern Cooperative Series (Ed.). Nematology in the Southern Region of the United States. Bulletin 276. pp. 54 70.
- INISAV. 1997. Peacisav –1 Nematicida Biológico. Boletín técnico. La Habana, Cuba.
- Jatala , P., R. K. Altenbach and M . Bocangel. 1979. Biological control of *Meloidogyne incognita acrita* and *Globodera pallida* in potatoes J. Nematol. 11: 303.

- Jatala, P., R. K. Altenbach, M. Bocangel., A. J. Devaux and R. Campos. 1980. Field application of *Meloidogyne incognita* on potatoes (Abstract) J. Nematol. 12: 226 27.
- Jatala, P., R Salas, R, Kaltenbach and M, Bocangel. 1981. Multiple application and long- term effect of *Paecilomyces lilacinus* in controlling *Meloidogyne incognita* on potatoes. (Abstract) J. Nematol .12: 226 27.
- Jatala, P. 1985. Biological control of nematodes. In: Sasser, J. N., and C. C. Carter (Eds). An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. North Carolina State. Univ. Graphics, Raleigh, N.C. pp 303 308.
- Jenkins, W.R y D.P.Taylor. 1967. Plant Nematology. Reinhold Publish. Corp., New York. 229 p.
- Janson, H. and E. Nordbring Hertz. 1980. Interactions between nematophagous fungi and plant parasitic nematodes. Attraction induction of trap formation and capture. Nematropica 26: 383 389.
- Jansson, H. B., A. Jeyaprokosh and B. M. Zuckerman. 1985. Differential adhesion and infection of nematodes by the endoparasitic fungus *Meria conosporia* (Deuteromycetes). Appl. Environ. Microbiol. 49: 552 555.
- Jansson, H. B. 1985. The Biology of the Nematophagous Fungi *Drechmeria* coniospora In: Marban M. N. and N. J. Thomason (Eds). Fitonematología Avanzada. Colegio de Posgraduados. Montecillos, México. pp 177 194.
- Johnson, A. W., and R. H. Littrell. 1985. Effect of *Meloidogyne incognita, M. hapla* and *M. javanica* and the severity of Fusarium wilt of Chrysanthemun. J. Nematol. 1(2): 122 125.
- Jonathan, E. I., K. R. Barker, F. F. Abdel Alim, T. C. Vrain and D. W. Dickson. 2000. Biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato and banana with rizobacteria, actinomycetes and *Pausteria penetrans*. Nematropica 30: 231 240.
- Jones, M. M. G. K. 1981. The development and function of plant cell modified by endoparasitic nematodes. In: Zuckerman, B. M., Mai, W. F. and Rohde, R. A.( Eds). Plant Parasitic Nematodes. Vol III. Academic New York. Press. pp. 225 279.
- Kerry, B. R. and L. A. Mullen. 1995. Fungal parasites of some plant parasitic nematodes. Nematropica 11: 187 189

- Lara, J., N. Acosta, C. Betancourt, N. Vicente and R, Rodríguez. 1996. Biological control of *Meloidogyne incognita* in tomato in Puerto Rico. Nematropica 26:143 –152.
- Mata, B. I. y A. Rodríguez, . 1990. El guayabo, Aspectos de su cultivo y producción. Dpto. Edit.ORIAL UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, Mexico. pp 116 131.
- Mankau, R. 1980. Biological control of nematodes pests by natural enemies. Ann. Rev. Phytopathol. 18: 415 440.
- Mankau, R., and X. Wu. 1985 Effects of the nematode trapping fungus *Monacrospoporium* ellipsosporium on *Meloidogyne incognita* populations in field soil. Rev. Nematol. 8: 147 – 154.
- Mekhtieva, N. A., E. M. Islamov and T. B. Shilova.1984. Nematophagous fungi of the genus *Nematoctonus* found in the Azerbaijan. Milkol. Fitopatol. 18: 189 –191.
- Mena, J., R. Velásquez, M. Fernández., E. Pimentel, R. García., Z. Zaldua., R. Moran, A. López y D. Somontes. 1998. Empleo de Microorganismos para el control de nemátodos en la Agricultura Cubana. Nematropica 28 (2): 140.
- Mani,A.,M.S. I-Hinai y Z.A Handoo.1998 Plant- parasitic nematodes of crops in Dhofor Gpvernorate Sultanate of Oman. Nematropica 28:61-71
- Montes, B. R. 1988 Nematología Vegetal en México Inv. Documental Soc. Méx. de Fitopatología. 158p.
- Morgan-Jones, G., J. F. White and R. Rodriguez- Kabana. 1983. Phytonematode pathology: Ultrastructural studies. I. Parasitism of *Meloidogyne arenaria* eggs and larvae by *Verticillium chlamydosporium*. Nematropica 13: 245 260.
- Morgan- Jones, G., J. F. White and R. Rodríguez Kabana. 1984a. Fungal parasites of *Meloidogyne incognita* in an Alabama soybean field soil. Nematropica 14: 93 96.
- Morgan- Jones, G., J. F. White and R. Rodríguez Kabana. 1984b Phytonematode pathology: Ultarestructural studies II. Parasitism of Meloidogyne arenaria eggs and larvae by *Paecilomyces lilacinus*. Nematropica 14 (1): 57 71
- Morgan– Jones, G. and R. Rodríguez Kabana. 1985. Phytonematode Pathology: Fungal modes of action. A perspective. Nematropica 15 (1): 107 114.

- Narva, K. E., J.M. Payne., G.E. Schneab., I.aGalason y A.J., Sick 1991. Novel *Bacillus thuringiensis* microbes active against nematodes and genes encoding novel nematode- active toxin cloned from *Bacillus thuringiensis* isolete. No publicado. Ene GeneBank 85 ( Gene Works 2.4. nelease
- Nieto, A. D. 1996. Fisiología, Bioquímica y Patógenos en Frutos de Guayaba (*Psidium guajava* L.). Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Posgraduados. Montecillos, Mex 111 p.
- Niembro, R.A. 1986. Árboles y arbustos útiles de México. Edit. Limusa. México. 157 p.
- O'Brien, P. C. 1980. Studies on parasitism of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penetrans*. J. Nematol. 12 (4): 234.
- Osorio A. A. 1994 Biological control of *Meloidogyne spp*, with *Paecilomyces lilacinus* Nematropica 24 (2): 85.
- Padilla, R. J. L., G. E. González, E., F. Villagrana., y L. M Reyes. 2000. Manejo de Problemas Radicales del Guayabo en Calvillo, Aguascalientes. Edit. CEPAB, INIFAP. México. 6 –12 pp.
- Page, S. I. L, and J. Bridge, 1985. Observation on *Pasteuria penetrans* as a parasite of *Meloidogyne acornea*. Nematologica 31: 238 240..
- Patil, S.D. and M. A. Pendse. 1983. Some Nematophagous Fungi from Msharastra State (India). Kavaka 11: 21 30.
- Payne, J.M., R.J.C Cannon y A.L. Bagley 1992. Novel *Bacillus thuringiensis* isoletes from controlling acarides. PCT International Patent Application No. W.O 92/19.106
- Rhoades, H. L. 1985. Comparison of Fenamiphos and *Arthyrobotrys amerospora* for controlling plant nematodes in Central Florida. Nematropica. 15: 1 8.
- Rich, J. R. 1986. New trends in managing plant parasitic nematodes J. Nematol. 18: 121–122.
- Rich, J. R. 1986. Trapping effectiveness of five species of nematophagous fungi cultured whith mycophagous nematodes. Mycologia. 60: 788 801.
- Rojas, M.T., and N. Marban –Mendoza 1999. Pausteria penetrans adherence and parasitism in *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne arabicida*. Nematropica 29:233-240

- Rodríguez, H., F. Fernández and A. A. Shesteperov. 1985. Adverse effect of *Meloidogyne* infection on guava. Helminthological Abstracs. 1988. Serie B. Vol 57 (2).
- Rodríguez Kabana, R., G. Morgan Jones, G. Godoy and B. O. Gintis. 1984. Effectiveness of species of *Gliocladium*, *Paecilomyces* and *Verticillium* for control of *Meloidogyne arenaria* in field soil. Nematropica 14 (2): 155 170.
- Rodríguez- Kabana, R. and G. Morgan- Jones. 1988. Potential for nematodes control by myclofora endemic in the tropics. J. Nematol. 20: 191 -203.
- Román, J. 1978. Fitonematologia Tropical. Estación Experimental Agrícola. Río Piedras, Puerto Rico. 250 p.
- Román, J., and A. Rodríguez Marcano. 1985. Effect of the fungus *Paecilomyces lilacinus* on the larval population and root knot formation of *Meloidogyne incognita* in tomato. J. Agric. Univ. P. R. 69 (2): 159 167.
- Rosenzneig, W. D. and D. Ackroyd. 1984. Influence of soil microorganisms on the trapping of nematodes by nematophagus fungus. Canada Microbiol. 30(12):1437 1439.
- Rosenzneig, W. D., D. Premachandrom and P. Pramer. 1986. Role of trap lectins in the specifity of nematode capture. Canada Microbiol. 31: 693.
- Ruíz, O. J. 1980. Fitonemátodos observados en el cultivo del guayabo y su control. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Inédito. pp 26 –29.
- Saikawa, M. 1985. Ultrastructural features of the nonconstring ring trap in *Dactylella leptospora*. Trans. Mycol. Sec. Jpn. 26: 209 214.
- Saikawa, M., and C. Morikawa.1985a. Electron microscopy on a nematode trapping fungus, *Acaulopage pectospora* Can. J. Bot. 63: 1386 1390
- Saikawa, M. and C. Morikwa 1985b. An electron microscope study of initation of infection by conidia of *Harposporium subuliforme* an endozoic nematophagous. Trans. Mycol. Soc. Jpn. 26: 215 220.
- Saikawa, M. and K. Arai. 1986. Electron microscopy on the nematode endoparasitic fungus *Nematoctonus pachysporus*.Trans. Mycol. Soc. Jpn. 27: 33 40.
- Sasser, J. N. 1997. Worldwide Dissemination and importance of the Root knot nematodes *Meloidogyne* spp. J. Nematol. 9: 26 29.

- Sayre, B. M. and M. P. Satar. 1985. *Pausteria penetrans* new species, new combination rewined name a mycelial and endospore- forming bacterium parasitic in plant- parasitic nematodes. Proc. Helminthol. Soc. Was. 52:149 –165
- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). 1983. Hoja desplegable de divulgación del IV Distrito de Temporal, Jalpa, Zac. SARH. Sanidad Vegetal, Zac. México.
- Stirling, G. R. 1991. Host specificity of *Pausteria penetrans* within the genus *Meloidogyne*. Nematologica 31: 203 209.
- Schaad, N. W. 1980. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria American Phytopathological Society. St Paul, Minessota USA.158 p.
- Suárez, H. Z., L. C. Rosales, M. González, A. Rondón, V. Telechea, R. Navas y R. Solórzano. 1995. Asociación de hongos con el nemátodo agallador del guayabo *Psidium guajava* L. In: Resúmenes del VIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología y XIV Congreso Venezolano de Fitopatología. Revista Forestal Venezolana 1 (1): 85.
- Suárez, H. Z., L. C. Rosales, M. González, A. Rondón, E. Arnal, V. Tellechea, R, Navas, F. Ramos y R. Solórzano. 1996. Factores bióticos que limitan algunos frutales. In: Resúmenes Jornadas Técnicas del CENIAP. pp 11 12.
- Taylor, A.L. 1983 Biologia y Control de los Nemátodos de Nódulos de la Raíz *Meloidogyne spp*. Centro Internacionall de la Papa ( CIP) Proyecto Internacional de Meloidogyne Universidad del Estado Carolina del Norte. Raleigh.N.C.111p
- Tribe, H .T. 1980. Prospects for the biological control of plant parasitic nematodes. Parasitology 81: 619- 639
- Van Gundy, S. D. and M. V. McKenry. 1977. Action of nematicides. In: Horsfall, G. J. and E. B. Cowling. (Eds.) Plant Disease, An advanced Tratise, Academic Press. New York Vol. I .pp 263 283
- Webster, R. J. 1972. Economic Nematology. Academic Press. New York. pp. 34 43.
- Wu, D., X.L. Cao ., Y. Y Bai y A. I.Arson 1991. Sequence of an operon containing a novel deltaendotoxin gene from *Bacillus thuringiensis* FEMS Microbial Lett 81:31-36

Zavaleta, M.E and Van Gundy, S.D. 1985. Antagonist effect of bacteria on second stage larvae of *Meloidogyne incognita* in "in vitro" conditions XXV Annual Meting. American Phytopalogical Society Caribbean Division Guanajuato, Mex. p.198.



Cuadro A1. Características Morfológicas y Bioquímicas de las Cepas Bacterianas Obtenidas de Suelo y Hembras de *Meloidogyne* spp del Cultivo del Guayabo en el Municipio de Calvillo, Ags.

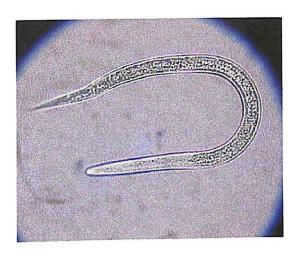
		UAAAN			Schaad	
Pruebas Bioquímicas	B. cereus	B. subtilis	B. megaterum	B. cereus	B. subtilis	B. megaterum
Gram	+*	+	+	+	+	+
Flagelos	+	+	+	+	+	+
Espora Oval	+	+	+	+	+	+
Espora central	+	+	+	+	+	+
Crecimiento a 50 °C	-	-	-	V	-	V
Crecimiento en pH (5.7)	+	+	+	+	+	+
Crecimiento NaCl (7.0%)	+	+	+	+	+	+
Utilización de Citrato	+	+	+	+	+	+
Fermentación	+	-	-	+	-	-
Acetoina	+	+	-	+	+	-
Hidrólisis de almidón	+	+	+	+	+	+

<sup>\* +</sup> reacción positiva de la bacteria, - reacción negativa y V reacción variable.

Cuadro A2. Identificación de la Cepa de *B. cereus/thurigiensis* de acuerdo a la Técnica del Biolog.

						Colu	mnas	8	9	10	11	12
Hileras	1	2	3	4	5	0		. 0	7	IV	L.L.	12
A	_*	-	+	+	+	-	+	+	+	1	-	-
В	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-
C		-	+	+	-	-+	-	-	-	-	+	-
D	-	-	+	-+	-	-	-	-	-	-	-	/
E	-	+	1	-	-	1	1	1	-	-	-+	+
F	-	-+	+	-	+	+	-	-	+	/	/	1
G	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Н	+	+	+	+	+	+	+	+	_		-	/

<sup>\*</sup> Tipos de reacciones a Bacillus cereus/thuringiensis + .- color morado intenso,- color transparente +.- color morado bajo,/.- intermedio



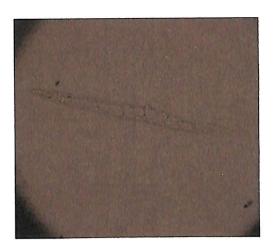


Figura A.1. Fotografias a microscopio del macho de *Meloidogyne incognita* (izquierda) y *Rhabditis* sp (derecha).

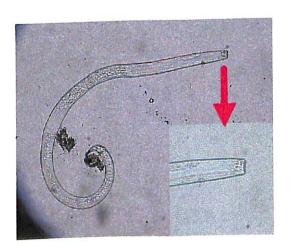




Figura A.2. Fotografía a microscopio del nemátodo depredador **Mononchus** sp y aspecto de la prueba del Biolog.

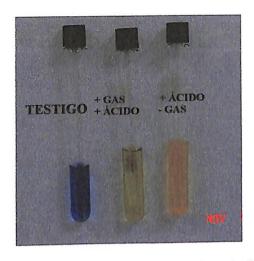
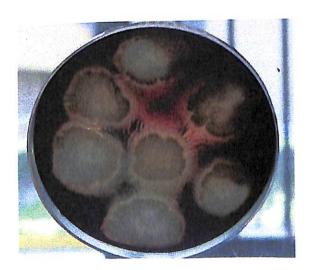




Figura A.3. Pruebas Bioquímica de Producción de Gas y Acido (izquierda) y de Oxidación (derecha).



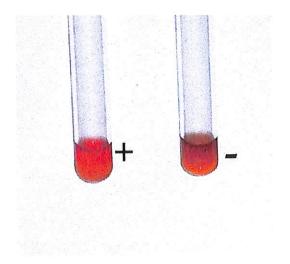


Figura A.4. Pruebas Bioquímica de Hidrólisis de Algodón (izquierda) y de Acetona (derecha).

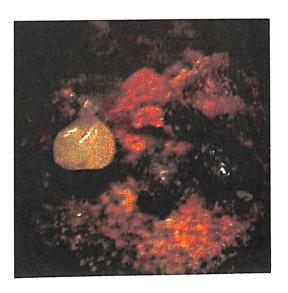




Figura A.5. Hembras de **Meloidogyne incógnita** sanas y parasitadas por el hongo **Paecilomyces farinosus** y desarrollo del hongo en medio de cultivo PDA.



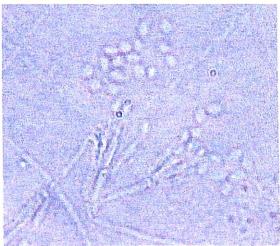
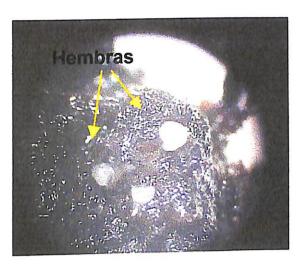


Figura A.6. Fotos de microscopio que muestran las conidias y conidióforos de *Paecilomyces farinosus*.



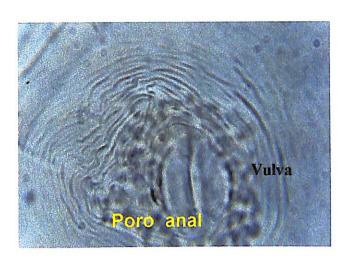


Figura A.7. Fotografia de hembras de *Meloidogyne incognita* fuera de la agalla y corte perineal característico de la especie.





Figura A.8.- Fotografía a microscopio de cortes perineales de *Meloidogyne javanica* y *Meloidogyne* sp