

**EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE NOGAL *Carya illinoensis*
(Wangenh) K. Koch, PARA EL CONTROL DE *Meloidogyne incognita* (Kofoid
&White, 1919) Chitwood, 1949**

FABIOLA GARRIDO CRUZ

TESIS

**Presentada como requisito parcial
para obtener el grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS EN
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México

Diciembre de 2013.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE NOGAL *Carya illinoensis*

(Wangenh) K. Koch, PARA EL CONTROL DE *Meloidogyne incognita* (Kofoid

&White, 1919) Chitwood, 1949

POR

FABIOLA GARRIDO CRUZ

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada
como requisito parcial para optar al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

EN

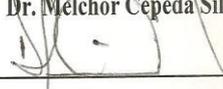
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

COMITÉ PARTICULAR:

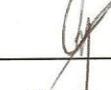
Asesor principal: _____


Dr. Melchor Cepeda Siller.

Asesor: _____

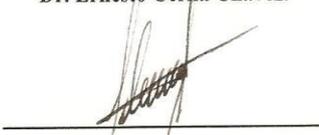

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo.

Asesor: _____


Dra. Yisa María Ochoa Fuentes.

Asesor: _____


Dr. Ernesto Cerna Chávez.


Dr. Fernando Ruíz Zárate.

Subdirector de Postgrado.

Saltillo, Coahuila, Diciembre de 2013.

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a Dios, por darme la oportunidad de vivir cada día con salud, rodeada de mis seres queridos.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por permitirme realizar mis estudios en sus instalaciones, donde he aprendido grandes conocimientos y valores de las personas que la forman.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo económico brindado en estos dos años.

Al Dr. Melchor Cepeda Siller, por sus enseñanzas, la confianza que depositó en mí al aceptarme en sus proyectos, su tiempo, sus consejos y siempre alentarme a seguir estudiando.

Al Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo, por su valiosa ayuda y formar parte de mi formación en esta maestría.

A la Dra. Yisa María Ochoa Fuentes, por su apoyo brindado siempre, su disposición amabilidad, su confianza y compartirme sus conocimientos.

Al Dr. Ernesto Cerna Chávez Castillo, por la contribución de sus conocimientos, y apoyo brindado en este proyecto.

A mi amiga la Dra. Miriam Desireé Dávila Medina, por todos estos años de amistad, por invitarme a conocer esta parte de la ciencia, por sus conocimientos, su apoyo, consejos y su ayuda en todo momento.

A mis compañeros y amigos, Yanis L. Muñoz, Beatriz Aguirre, Roberto Morales, Epifanio Castro, Salvador Ordaz, Yoseni Martínez y Violeta Aspeitia, por brindarme una gran amistad, por su apoyo, por resolver mis dudas, y tantos buenos momentos dentro y fuera de clases. Especialmente a mi amiga Livier Guizar, por tu apoyo incondicional y tantos momentos de risas y pláticas interminables.

Al Dr. Faustino Lara Victoriano, por compartir sus valiosos conocimientos, por todo el apoyo brindado, por su amistad, paciencia y consejos.

A las laboratoristas María Cristina Sánchez y Silvia Ovalle, que siempre estuvieron con toda la disposición de ayudarme en mis prácticas y mi tesis, gracias infinitas por su apoyo, confianza y amistad.

Al personal del Centro Internacional de Servicios Fitosanitarios (CISEF), por permitir utilizar sus instalaciones, así como el apoyo brindado de todo el personal que ahí labora.

A la empresa Fitokimica Industrial de México S. A. de C. V., por la oportunidad brindada al trabajar con sus productos, así como al personal que me apoyó durante mi investigación.

DEDICATORIAS

A mi esposo Pedro Ezequiel Aguirre Figueroa, por su paciencia y comprensión durante estos años de estudio. Te amo y gracias por tu confianza y apoyo brindado en cada decisión que tomo.

A mis padres que tanto amo, María del Carmen Cruz Martínez y David Garrido Sepúlveda, por su apoyo brindado en toda mi vida y en esta nueva etapa, solo intento seguir su ejemplo de trabajo, constancia y superación, gracias por guiarme con valores y amor, impulsándome siempre a tener confianza en mí, seguir adelante y no rendirme.

A mis hijos que son el motor de mi vida. Armando, por todos aquellos momentos que me ausenté, porque algunas veces se quedaron a un lado los juegos y los cuentos, intentando explicarte que mamá tenía que estudiar. Y a ti, que aún te llevo en mi vientre, eres otra gran bendición y motivo para seguir superándome.

A mi hermano David Garrido Cruz, que siempre estuviste al pendiente de mí y tu apoyo brindado.

A todas las personas que estuvieron siempre apoyándome durante este tiempo de estudio, quienes me brindaron la mano al cuidado de Armando y quienes me hicieron olvidar un poco los momentos de presión.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
COMPENDIO.....	X
ABSTRACT.....	XIII
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	5
REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
Nematodos.....	6
Clasificación.....	7
<i>Meloidogyne</i> spp.....	8
Clasificación taxonómica.....	9
Biología y distribución.....	9
Importancia económica.....	14
Ciclo de vida.....	14
Sintomatología.....	17
<i>Meloidogyne incognita</i>	21
Hembras.....	21
Machos.....	22
Juveniles del segundo estadio.....	23
Medidas útiles.....	23
Sintomatología.....	23
Manejo.....	24
Tratamientos con nematicidas de síntesis.....	24
Fumigantes del suelo.....	25
No fumigantes del suelo.....	26
Alternativas no químicas.....	26
Plantas antagonistas.....	27
Compuestos alelopáticos presentes en las plantas.....	27
DESCRIPCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.....	30
<i>Carya illinoensis</i>	30
Características del cultivo.....	31
Importancia a nivel mundial.....	32
Importancia a nivel nacional.....	33
Características nutrimentales.....	34
Compuestos fenólicos presentes en los extractos.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Comparación de patrones perianales de 12 especies de <i>Meloidogyne</i>	13
2	Ciclo de vida del nematodo agallador <i>Meloidogyne</i> spp.....	18
3	Sistema radical de tomate infectado con <i>Meloidogyne</i> spp..	21
4	Tubérculos con agallas causadas por <i>Meloidogyne</i> spp.....	21
5	Daño debido al nematodo agallador <i>Meloidogyne</i> spp.....	22

COMPENDIO

**EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE NOGAL *Carya illinoensis*
(Wangenh) K. Koch, PARA EL CONTROL DE *Meloidogyne incognita* (Kofoid
&White, 1919) Chitwood, 1949**

POR

FABIOLA GARRIDO CRUZ

MAESTRÍA EN CIENCIAS

EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA DE ZARAGOZA,

DICIEMBRE DE 2013

Dr. Melchor Cepeda Siller

Palabras clave: *Carya illinoensis*, *Meloidogyne incognita*, Nematodo agallador

El trabajo se desarrolló durante el 2012 en el Departamento de Parasitología, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con el objetivo de evaluar extractos vegetales derivados del nogal *Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch, para el control del nematodo agallador *Meloidogyne* sp. Göeldi 1892. Los nematodos fueron obtenidos a partir de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) var. “Alpha”, que presentaban sintomatología (mezquinos). Se realizó la extracción de hembras adultas y masas de huevos, para los análisis morfológicos como el modelo perineal de hembras, así como la medida de distintos caracteres de juveniles del segundo estadio y se determinó que corresponde a *Meloidogyne incognita*.

Para el estudio de evaluación de efectividad biológica de los extractos bajo condiciones de laboratorio, se utilizaron placas plásticas, donde se colocaron los extractos a diferentes concentraciones, (1.0%, 1.5% y 2.0%) y una población de 30 ± 5 especímenes de *Meloidogyne incognita* activos, se estableció un experimento completamente al azar, con once tratamientos incluyendo al testigo y cinco repeticiones. Se observaron al microscopio estereoscópico a las 24, 48 y 72 h de exposición con los extractos, para determinar el porcentaje de mortalidad. De los extractos evaluados, los que presentaron mayor actividad nematicida fueron el FIM8 (Ruezno acuoso) con 89.16%, FIM6 (Ruezno etanolítico) con 69.22%, y el FIM7 (Cáscara acuoso) con 60.77%, todos estos en la concentración al 2.0% en la observación a las 72 h de exposición con el extracto.

Los tratamientos FIM8, FIM6 y FIM7, fueron evaluados bajo condiciones de invernadero, donde se llevó a cabo en macetas de unicel con plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) var. Pony Express F1, colocando una población de 100 J₂ de *Meloidogyne incognita* por cada una de éstas. Después de 10 días se procedió a la aplicación de los extractos anteriormente descritos, en diferentes concentraciones (1.5% y 2.0%) con un total de cuatro repeticiones por tratamiento en cada una de sus concentraciones y sus testigos, estableciendo un diseño experimental de bloques al azar. Las muestras de suelo fueron evaluadas 45 días después, por la metodología del Embudo de Baerman. Para determinar el porcentaje de mortalidad, se tomaron los datos de cada unidad experimental, en base a la población inicial inoculada. El extracto que presentó mayor actividad nematocida fue el FIM8 (Ruezno acuoso) en la concentración del 2.0% con un 99.0% de mortalidad, y en la concentración del 1.5% con 97.0%, seguido por FIM6 (Ruezno etanolítico) con 87.25% en la concentración del 2.0% y 71.0% en la de 1.5%.

ABSTRACT

**EVALUATION OF BIOLOGICAL EFFECTIVENESS OF VEGETAL
EXTRACTS DERIVED FROM *Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch TO
CONTROL THE ROOT-KNOT NEMATODE *Meloidogyne incognita* (Kofoid
&White, 1919) Chitwood, 1949**

DIGEST

BY:

FABIOLA GARRIDO CRUZ

MASTER IN SCIENCE OF AGRICULTURAL PARASITOLOGY

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SALTILLO, COAHUILA DE ZARAGOZA, DECEMBER 2013

Keywords: *Carya illinoensis*, *Meloidogyne incognita*, root-knot nematode.

This study was done in 2012 in the laboratory of Nematology, Department of Parasitology, in the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, in Buenavista Saltillo, Coahuila. The objective of this study is to evaluate botanical extracts from walnut *Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch to control the root-knot nematode *Meloidogyne* sp. Göeldi 1892. The nematodes were obtained from galls of potato tubers (*Solanum tuberosum* L) Var. Alpha. Females and egg masses were extracted and used to do morphological analysis of female perineal model and measurement of distinct characters of second-stage juveniles and it was determined that they corresponded to *Meloidogyne incognita*. For the evaluation of biological effectiveness of the extracts they were placed in plastic plates with cavities, at different concentrations (1.0%, 1.5% and 2.0%) testing a population of 30 ± 5 active specimen of *Meloidogyne incognita*. The experiment was completely randomized with eleven treatments each one including control with five replicates. Nematodes were observed with a stereoscopic microscope at 24, 48 and 72 h, to determine the percent of mortality. The extracts with higher nematicidal activity were FIM8 (Husk aqueous extract) with 89.16%, FIM6 (Husk ethanolic extract) 69.22%, and FIM7 (Shell aqueous extract) with 60.77% at a concentration of 2% and observed after 72 h of exposure.

In a greenhouse of the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, the extracts FIM6 (ethanolic extract of husk), FIM7 (aqueous extract of peel) and FIM8 (aqueous extract of husk), was evaluated, in order to determine their effects on *Meloidogyne*

incognita in tomato plants *Solanum lycopersicum.*, var. Pony Express. Tomato plants grown in sterile substrate (Peat Moss) were used, and inoculated with 100 J₂ of *M. incognita*, and two different concentrations of each extract were evaluated (1.5% and 2.0%). After 30 days of incorporating the extracts to the substrate, it was processed by the Baerman funnel methodology to determine the mortality rate of the final nematode population, these data were analyzed with a randomized block of six treatments and an absolute control (water) with four replicates. The extracts with higher nematicidal activity were FIM8 (aqueous extract of husk) at the concentration of 2.0% and 1.5% with 99.00% and 97.00% of mortality respectively, followed by the FIM6 (ethanolitic extract of husk) with 87.25% and 71.00% of mortality.

INTRODUCCIÓN

Los nematodos fitoparásitos son organismos importantes en las plantas, como agentes causantes de enfermedades. Es un grupo con una amplia variedad de hábitats, encontrándose en el suelo a densidades cercanas a los 30 millones de individuos por metro cuadrado. Estos en la mayoría de los casos se alimentan de las raíces de las plantas, aunque es posible encontrar algunos géneros que atacan las partes aéreas (Arauz, 1998; Agrios, 2004).

Además del daño directo a la sanidad de la planta, los nematodos pueden desempeñar diferentes funciones en los complejos de enfermedades; actúan como vectores de ciertos virus, lesionadores, modificadores del huésped, interruptores de resistencia y modificadores de la rizósfera (Desaeger *et al.*, 2004).

Los fitonematodos del Género *Meloidogyne*, son responsables de grandes pérdidas en cultivos de importancia económica (Abad *et al.*, 2003). El primer registro que se conoce de éste género fue hecho por Berkeley en 1855 de especímenes colectados en invernaderos de Inglaterra. En 1949 Chitwood y Brodie, describieron las cuatro especies de *Meloidogyne* más comunes y ampliamente distribuidas en la actualidad: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* y *M. hapla* (Cepeda y Gallegos, 2003).

Los nematodos han desarrollado la capacidad para manipular las funciones de sus hospederos, para su propio beneficio induciendo la diferenciación celular del parénquima de la raíz en multinucleadas y causando hipertrofia de las células de alimentación, llamadas células gigantes. Las cuales constituyen la única fuente de nutrientes para el desarrollo de nematodos. La hiperplasia de los alrededores de las células, conduce a la formación de las típicas agallas en raíz, que es el síntoma visible de la infección primaria (Abad *et al.*, 2009).

Como otros nematodos fitoparásitos, tienen estilete, que se utiliza para perforar las paredes celulares de las plantas, liberando secreciones de las glándulas faríngeas en el tejido del huésped y así absorber los nutrientes de las células gigantes, por lo tanto las plantas infectadas son débiles, presentando enanismo, clorosis, marchitez, falta de vigor, caída de flores y bajo rendimiento. A diferencia de otros nematodos que dañan a las células de las cuales se alimentan, es esencial para *Meloidogyne* sp. que las células de alimentación estén sanas y metabólicamente activas, a lo largo del ciclo de vida del nematodo (Triviño, 2004; Abad *et al.*, 2009).

Se han utilizado métodos de control de nematodos como son: físicos, químicos y culturales, generalmente en combinación con una estrategia de manejo integrado (Perry, 1996). En diversos cultivos de solanáceas, cucurbitáceas y frutales, se realizan aplicaciones de nematicidas químicos sintéticos, para reducir los daños causados por *Meloidogyne incognita* (Rosso *et al.*, 2004), estos han conllevado a la alteración del equilibrio dinámico de los ecosistemas, como la resistencia de plagas y la eliminación de sus enemigos naturales, acumulación de residuos tóxicos en las

cadenas tróficas, muerte de humanos y animales por intoxicación e incremento en los costos de producción (Hernández *et al.*, 2000; Castillo, 2004).

Debido a estos efectos, con mayor frecuencia se cuestiona el uso de plaguicidas químicos, para el control de plagas y enfermedades en los cultivos agrícolas (Fernández y Juncosa, 2002). La búsqueda de estrategias que incrementen la productividad agrícola y mantengan el equilibrio ecológico sin agredir los ecosistemas, sin arriesgar la salud humana, constituye hoy en día un gran reto para la agricultura y su desarrollo (Gallegos *et al.*, 2003).

Para el control de nematodos, se han estudiado muchas plantas de las cuales se usan simplemente semillas, hojas, raíces en forma de extracto o simplemente como abono verde, las propiedades nematocidas de algunas plantas, se relacionan directamente con el contenido de ciertos químicos, que resultan tóxicos a los nematodos como fenoles, taninos, azadiractinas, alcaloides y glicósidos, entre otros, (Reina *et al.*, 2002; Aballay, 2005). Sus mecanismos de acción son variables; por ejemplo, la toxicidad de los fenoles en microorganismos, se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos. El modo de acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos. De los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el DNA y de las lectinas y polipéptidos, se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva, por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999).

El Nogal *Carya illinoensis* es considerado un cultivo muy importante económicamente, se ha demostrado la actividad antimicrobiana de la nuez, y otras partes del árbol, especialmente de hojas, frutos y corteza. Las cáscaras de nuez verde, se pueden utilizar como una fuente fácilmente accesible de compuestos bioactivos naturales. Se ha demostrado, que los extractos acuosos de cáscaras de nuez verde, presentan una fuerte actividad antioxidante e inhibitoria para el crecimiento de diferentes bacterias patógenas (Gram positivas), que causan diversos problemas a la salud humana (Pereira *et al.*, 2008). Si se considera que la mayoría de los compuestos obtenidos de las plantas, son biodegradables e inocuos, y que en México se encuentran aproximadamente 10 % de las especies de plantas superiores del mundo y más de 40 % de ellas son habitantes exclusivas de nuestro país (CONABIO, 1998), resulta conveniente explorar, el potencial de empleo de sus extractos vegetales para controlar las enfermedades.

Por tal razón y con el propósito de contribuir en la búsqueda de productos naturales, para el control del nematodo agallador *M. incognita*, se evaluaron extractos vegetales por sus antecedentes como potenciales controladores de nematodos fitopatógenos.

OBJETIVOS

1. Identificar los nematodos a nivel de género y especie.
2. Evaluar la efectividad biológica de 10 extractos de nogal, para el manejo de *Meloidogyne incognita* bajo condiciones de laboratorio.
3. Evaluar la efectividad biológica de los mejores 3 extractos de nogal, para el manejo de *Meloidogyne incognita* bajo condiciones de invernadero.

REVISIÓN DE LITERATURA

Nematodos

Los nematodos son organismos pluricelulares que miden generalmente menos de 2 mm de largo. A pesar de su pequeño tamaño, su organización es bastante compleja. Poseen todos los órganos y sistemas de órganos encontrados en los animales superiores, excepto sistema circulatorio y respiratorio, los cuales no están definidos. Numerosas especies de ellos parasitan al hombre y a los animales, en los que producen diversas enfermedades. Sin embargo, se sabe que varios centenares de especies se alimentan de plantas vivas en las que producen una gran variedad de enfermedades (Agrios, 1996; Bridge y Williams, 2002).

La mayor parte de estos organismos son generalmente alargados y cilíndricos. Se plantea que en el caso de las hembras adultas de algunas especies fitoparásitas, cambian su forma cilíndrica por la de saco, riñón u otras mostrando así un dimorfismo sexual entre la hembra y el macho, aunque en otros casos el macho es quien presenta diferencias menos marcadas (Bello *et al.*, 1994).

En su mayoría, se reproducen de forma bisexual. Algunas especies presentan reproducción partenogenética. Su sistema de alimentación consta de: boca, esófago e intestino. La boca en la mayor parte de estos organismos está provista de un estilete, dicha estructura está compuesta de un conducto interior y una musculatura que

permite que el órgano sea retráctil y se pueda introducir en la raíz y los tejidos de la planta para su alimentación (Bello *et al.*, 1994).

Clasificación

Los nematodos parásitos de plantas pertenecen al Phylum Nematoda. Generalmente se clasifican en tres grupos de acuerdo a su hábito alimenticio (Mai, 1985).

Los menos especializados son los ectoparásitos, son aquellos que atacan la parte exterior de los tejidos. Se alimentan introduciendo su estilete en los tejidos vegetales, pero cumplen todo o casi todo su ciclo evolutivo en el exterior de la planta huésped (Sijmons, 1993). Con la excepción de unas pocas especies que se alimentan de ápices radicales, los nematodos con este tipo de hábito alimenticio, generalmente causan un daño poco evidente al tejido vegetal (Agrios, 1996).

Otro grupo corresponde a los endoparásitos migratorios, los cuales penetran y se movilizan dentro del tejido vegetal para alimentarse, pudiendo abandonarlo y penetrar nuevamente al vegetal, causando una considerable destrucción de tejidos (Barria, 1997; Bridge y Williams 2002).

Bridge y Williams (2002), indican que el tercer y más importante grupo son los endoparásitos sedentarios, los cuales están altamente especializados en la relación de alimentación que establecen con sus hospederos. Sasser y Carter (1985), señalan que estos nematodos entran en las raíces como juveniles vermiformes y luego al

comenzar a alimentarse, sus cuerpos comienzan a engrosar y van quedando inmóviles dentro de ellas.

Los endoparásitos sedentarios pueden ser divididos en dos grandes grupos: los nematodos formadores de quistes y los nematodos formadores de nódulos o agallas en la raíz, dentro de este último grupo se encuentran ubicados los géneros *Meloidogyne* y *Heterodera* (Herrerros *et al.*, 2001).

***Meloidogyne* spp.**

El primer registro que se conoce del género *Meloidogyne* fue hecho por Berkeley en 1855, como un nematodo que causaba nudos en las raíces de pepino, en invernaderos de Inglaterra (Cepeda 1996).

Miles Joseph Berkeley fue un eminente científico (1803-1889) ministro ordenado, experto dibujante y pionero en la Zoología de plantas, patólogo y micólogo. Fue autor de más de 6000 especies, quien describió los síntomas así: “Los tubérculos son de un color crema sucio, casi globosos, oscuros y en casi todos los casos se desarrollaron en un lado de la raíz”. “En un examen más detallado se encuentra la raíz cubierta con excrecencias que varían desde el tamaño de la cabeza de un alfiler al de un pequeño grano de nuez moscada” (Moens *et al.*, 2009).

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

El género *Meloidogyne*, agrupa a los nematodos formadores de nódulos radicales y comprende al menos 80 especies (Siddiqi 2000). Este género y sus especies son cosmopolitas y parásitos de muchas especies de plantas; tiene un rápido desarrollo y reproducción durante el ciclo del cultivo, provocando graves daños. La hembra al alimentarse induce deformaciones típicas en la raíz llamadas agallas o nódulos debido a la modificación y crecimiento anormal de las células radicales (células gigantes), provocando diferentes grados de retraso en el crecimiento, pérdida del vigor de la planta, además, el tejido infectado es más susceptible de infección por otros patógenos (Perry *et al.*, 2009).

Clasificación taxonómica

Cepeda (1996), reporta la siguiente clasificación taxonómica:

Clase.....Secernentea (Von Linstow 1905, Dougherty 1958).

Subclase.....Diplogasteria (Chitwood y Chitwood 1937).

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

Suborden.....Tylenchina (Chitwood 1950).

Superfamilia...Tylenchoidea (Orley 1880).

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

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

Género..... *Meloidogyne* (Göeldi 1892).

Biología y distribución

El nematodo agallador *Meloidogyne* spp. está distribuido en todo el mundo, aunque ocurre con mayor frecuencia y abundancia en regiones con clima cálido y

tórrido e inviernos cortos y moderados. Con respecto a sus requerimientos climáticos estos nematodos pueden ser agrupados en dos grupos: termófilos y criófilos dependiendo de su capacidad para sobrevivir y desarrollarse, considerando su temperatura basal de 10 °C y a partir de la cual pueden completar su ciclo biológico (Lyons *et al.*, 1975).

Meloidogyne hapla es criófila y tiene la capacidad de sobrevivir a temperaturas por debajo a los 10 °C, a diferencia de *M. arenaria* y *M. javanica* que son termófilas y no sobreviven a temperaturas por debajo de los 10 °C, además de ser especies cuya eclosión es determinada principalmente por la temperatura (Curtis *et al.*, 2009).

La mayoría de los trabajos del género *Meloidogyne* se centra en cuatro especies, tres que son consideradas de clima tropical: *M. arenaria*, *M. incognita*, y *M. javanica* y una cuarta, *M. hapla*, de clima templado. La gran gama de hospederos de cada una de las especies y su amplia distribución, contribuyen al reconocimiento de su importancia (Moens *et al.*, 2009).

Según Eisenback *et al.* (1983) las principales características de estas especies, basadas en la morfología de los modelos perineales de los genitales de hembras adultas son: (Figura 1).

Meloidogyne incognita: Arco dorsal alto, cuadrado y sin líneas laterales claramente visibles, es la característica determinante para identificar esta especie.

Meloidogyne javanica: Arco bajo a redondeado y con líneas laterales bien visibles que separan estrías dorsales de las ventrales, es la característica determinante para identificar esta especie; sin embargo, en ocasiones el arco puede ser alto.

Meloidogyne arenaria: Arco dorsal con “hombreras”, formadas por ondulaciones pronunciadas de las estrías dorsales, cerca de las líneas laterales que son visibles, y las estrías que se bifurcan, también cerca de las líneas laterales, son los caracteres más importantes de esta especie.

Meloidogyne hapla: El modelo perineal no presenta líneas laterales bien visibles; en conjunto, presenta la forma de hexágono redondeado a óvalo aplanado y la presencia de puntuaciones en el área en que termina la cola.

Además de éstos caracteres, Einsenback *et al.* (1983), menciona que existen otros que son de utilización para la diferenciación entre ellas. Estos caracteres incluyen: la morfología de cabezas de hembras, machos y juveniles del segundo estadio y la morfología del estilete de hembras y machos.

Diversas familias vegetales albergan a este nematodo, algunas además de ser parasitadas por diferentes especies de *Meloidogyne* son plantas de gran importancia agrícola tales como: solanáceas, cucurbitáceas y leguminosas entre otras (Montes, 2000).

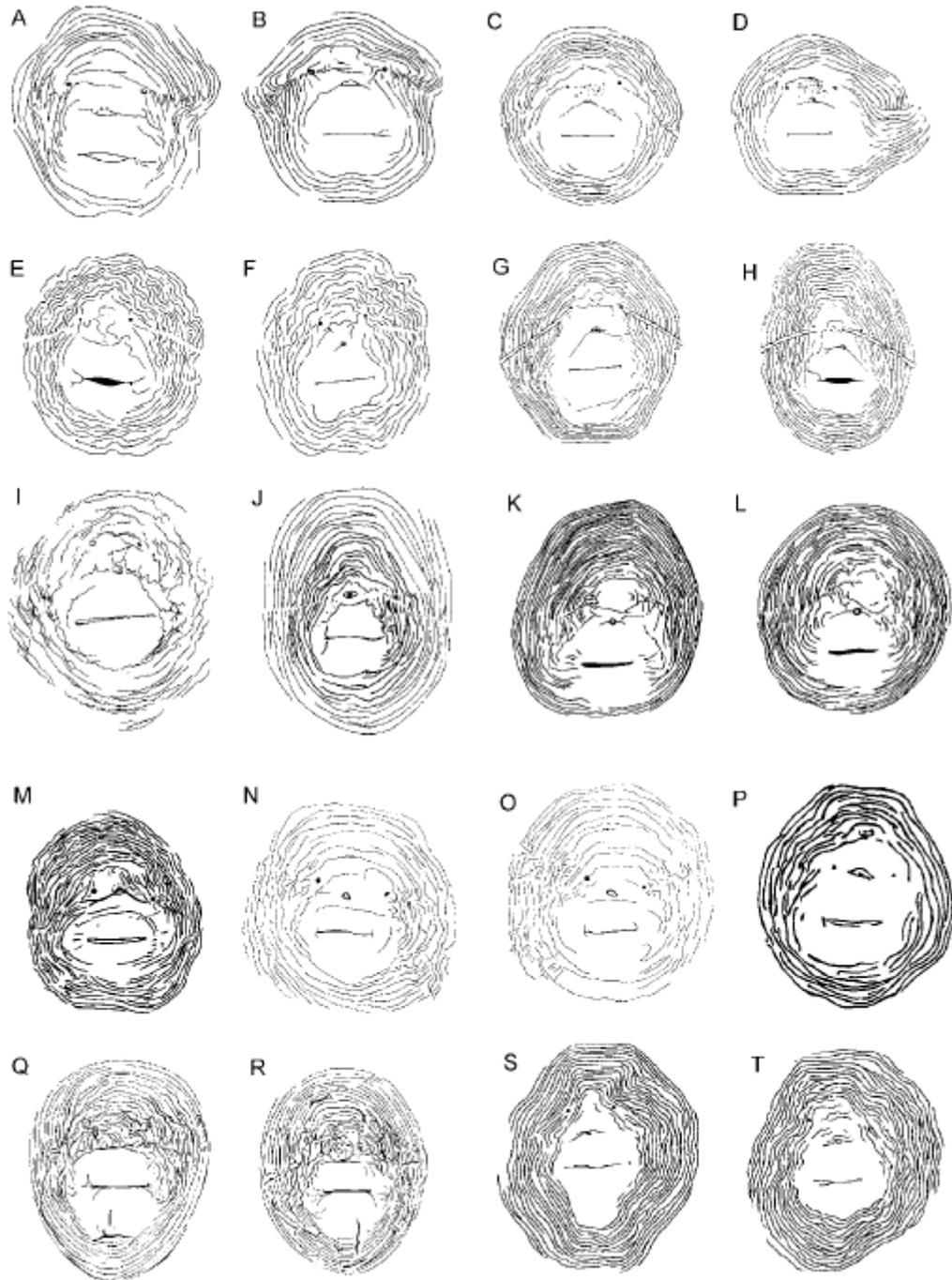


Figura 1. Comparación de patrones perineales de 12 especies de *Meloidogyne*. A, B: *M. arenaria*; C, D: *M. hapla*; E, F: *M. incognita*; G, H: *M. javanica*; I: *M. acrona*; J: *M. chitwoodi*; K, L: *M. enterolobii*; M: *M. ethiopica*; N, O: *M. exigua*; P: *M. fallax*; Q, R: *M. graminicola*; S, T: *M. paranaensis*. (Moens *et al.*, 2009).

En México, *Meloidogyne* spp., se distribuye en gran parte del territorio nacional (Cid del Prado *et al.*, 2001), debido a su amplio rango de hospedantes y a la

diversidad de cultivos en nuestro país. Las principales especies que atacan a cultivos y alguna maleza en el territorio nacional son: *M. hapla*, presente en el Distrito Federal, y en los estados de México, Guerrero, Guanajuato, Jalisco, Nayarit, Puebla y Zacatecas en cultivos como cresta de gallo (*Celosia argentea* L.), crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Hemsl), chinito (*Impatiens balsamina* L.), epazote (*Chenopodium ambrosioides* L.), fresa (*Fragraria* L.), jitomate (*Solanum esculentum*.), lechuga (*Lactuca sativa* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), pino (*Pinus hartwegii* Lindt.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y zanahoria (*Daucus carota* L.). *Meloidogyne incognita* en los estados de Baja California Norte, Colima, Chiapas, Durango, Estado de México, Guerrero, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas, Tlaxcala y Veracruz en cultivos como algodón (*Gossypium hirsutum* L.), cacahuete (*Arachis hipogea* L.), cafeto (*Coffea arabica* L.), calabaza (*Cucurbita pepo*.), chayote (*Sechium edule* (Lacq) Swl), chile (*Capsicum annuum* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), garbanzo (*Cicer arietinum* L.), jitomate (*Lycopersicum esculentum* L.), maíz (*Zea mays* L.), melón (*Cucumis melo* L.), papa (*S. tuberosum* L.), papaya (*Carica papaya* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), plátano (*Musa* spp.), sandía (*Citrullus vulgaris* Schard.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), tomate de cascara (*Physalis ixocarpa*.), vid (*Vitis vinífera*.) y violeta africana (*Saintpaulia* spp.). Otra especie importante en nuestro país es *M. javanica* en el Estado de México, Colima, Morelos, Nayarit, Tlaxcala y Veracruz, en cultivos como cacahuete (*Arachis hipogea* L.), cafeto (*Coffea arabica* L.), clavel (*Dianthus caryophyllus* L.), jitomate (*Solanum esculentum* L.), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y yerbabuena (*Mentha spicata* L.) (Montes, 2000).

Importancia económica

Los daños y pérdidas ocasionados por *Meloidogyne* spp., al igual que la mayoría de los nematodo fitoparásitos se incrementa en regiones con clima tropical debido a que se incrementa la diversidad de los patógenos; las condiciones para la colonización, desarrollo, reproducción y dispersión se ven favorecidas, además la falta de recursos humanos y financieros para el manejo de los cultivos incrementa el problema (Moens *et al.*, 2009).

Estos nematodos están considerados como los más perjudiciales en la agricultura, causando un estimado de 100 billones de pérdidas a nivel mundial en alrededor 3000 plantas hospederas para este nematodo (Abad *et al.*, 2003; Pino, 2010). De acuerdo a Sikora y Fernández (2005), los nematodos en zonas tropicales causan pérdidas hasta del 80% en campos altamente infestados.

Ciclo de vida

Los nematodos formadores de agallas poseen un marcado dimorfismo sexual, siendo el macho vermiforme y activo y la hembra piriforme y sedentaria (Whitehead, 1968). Algunas especies se reproducen por anfimixis (reproducción sexual), pero la mayor parte de las especies tropicales se reproducen por partenogénesis (reproducción asexual) (Triantaphyllou, 1985).

El desarrollo embrionario comprende dos procesos: multiplicación de oogenias y crecimiento y maduración de los oocitos, al final se producen los huevos (Triantaphyllou, 1985), que son depositados a través de la vulva, en una matriz

gelatinosa que es segregada por glándulas rectales (Maggenti y Allen, 1960). Esta matriz conteniendo los huevos se denomina también ooteca. La reproducción del nematodo sólo es posible en presencia de hospedantes susceptibles y el número de huevos producidos por cada hembra oscila entre 300 y 500 (Ritter, 1973).

Los procesos que se producen en el huevo dan lugar al juvenil de primer estadio, que se transforma en segundo estadio (J_2) dentro de la envoltura del huevo. Cuando éstos eclosionan, los J_2 son liberados (al suelo o el interior de las raíces). Estos juveniles son vermiformes de cutícula finamente estriada, fuerte esclerotización del estilete y las cabecitas basales, buena diferenciación del esófago, apertura de la glándula dorsal esofágica (en inglés DEGO) cercana a la base del estilete y el recto (dilatado o no) en la zona caudal (Ritter, 1973).

La penetración de los juveniles en las raíces se produce generalmente entre las 24-72 h. posteriores a su emergencia del huevo (D'Arc y Ferraz, 1985), preferentemente en la zona de crecimiento de los extremos de las raíces (Mende, 1997). En el caso de las plantas de cafeto, se ha observado que los juveniles de *M. exigua* se sitúan en la región terminal de la raíz, cercana a la cofia, transcurriendo 2-3 días desde la penetración hasta la fijación del J_2 cerca del cilindro central (D'Arc y Ferraz, 1985). Después de la fijación y el período de infección inicial que se extiende entre 3 y 8 semanas, donde los juveniles sufren 2 mudas (J_3 - J_4) se producen las hembras y machos (Eisenback, 1985). (Figura 2).

Las hembras adultas son piriformes y sus dimensiones oscilan alrededor de las 700 μm de longitud y 400 μm de ancho. Presentan el estilete con nódulos

basales, robustas y el esófago bien desarrollado. Los dos ovarios desembocan en la vagina y ésta a su vez en la vulva, la que se localiza transversalmente en la porción posterior del cuerpo, en un área denominada perineo (Eisenback, 1985).

La matriz gelatinosa comienza a ser segregada entre los 20 -30 días después de la infestación y las hembras comienzan a depositar los huevos 5 ó 6 días después. El número de generaciones (más de 10) que se producen en un año dependen de la susceptibilidad de la planta hospedante, especie de nematodo, temperatura del suelo y longitud del período de crecimiento de las plantas (Whitehead, 1998).

Por su parte, los machos son vermiformes, su longitud oscila entre 1000 y 1500 μm , poseen casquete cefálico con variaciones en su morfología e importancia en el diagnóstico (Eisenback, 1985). El estilete es fuerte y su longitud varía en dependencia de la especie. Generalmente, los machos poseen un testis y el sistema reproductor desemboca en una cloaca. Las espículas son estructuras que penetran en la vagina de la hembra durante la cópula, formando como un tubo por el que se desliza el esperma (Eisenback, 1985).

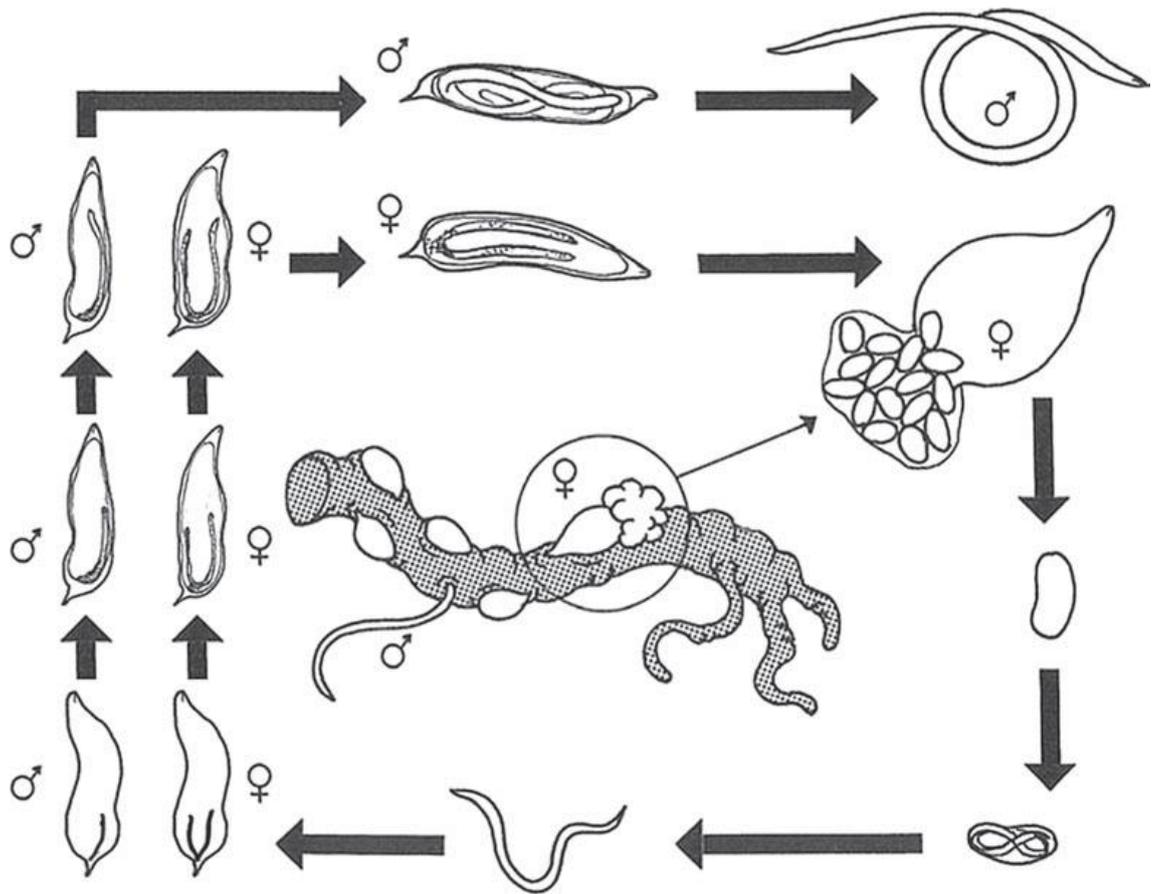


Figura 2. Ciclo de vida del nematodo agallador *Meloidogyne* spp (Adaptado de Karsen y Moens, 2006.)

Sintomatología

Los efectos de la infección de *Meloidogyne* spp., sobre el desarrollo de las plantas son bien conocidos. Por una parte se produce una deformación y reducción del sistema radicular, tubérculos y cormos (Figuras 3 y 4). Las raíces de las plantas atacadas presentan los típicos nódulos, están poco o nada ramificadas y carentes de pelos radiculares. Las agallas pueden medir desde 1 o 2 mm de diámetro en las raíces pequeñas y hasta 1 cm o más en las raíces grandes. Por otra parte, decrece notablemente la eficiencia en la normal translocación de agua y nutrientes por obstaculación mecánica y como consecuencia ocurren las típicas marchitez de las plantas infectadas (Rodríguez *et al.*, 1997; Magunacelaya y Dagnino, 1999).

Las agallas, producidas por una hipertrofia e hiperplasia celular en respuesta al ataque de las especies de *Meloidogyne*, traen como consecuencia plantas achaparradas o poco desarrolladas y un gran número de raíces en relación al vástago de la planta (Southey, 1978). Sasser y Carter (1985), agregan que las plantas infectadas aumentan su susceptibilidad al estrés hídrico y además se incrementa la síntesis de proteínas en las agallas ocurriendo un trastorno en el normal transporte de sustancias entre raíces y sector aéreo.

Southey (1978), señala que en un cultivo establecido las raíces con agallas son más fácilmente infectadas por otros microorganismos patógenos, que raíces sanas. Existe evidencia de que los exudados producidos por raíces infectadas, afectan la microflora de la rizosfera de la planta.

De acuerdo a Taylor y Sasser (1983) y Hussey y Janssen (2002), los efectos de la infección causada por las especies de *Meloidogyne* en el crecimiento de las plantas, pueden clasificarse en efectos físicos, como el acortamiento y deformación de las raíces y la disminución de la eficiencia radicular; por otro lado, esta infección trae consigo efectos fisiológicos en la planta como la pérdida de eficiencia radicular o la reducción en crecimiento y rendimiento. Un tercer efecto sería la predisposición a otras enfermedades, debido a que las especies de *Meloidogyne* hacen más susceptible a las plantas para la infección provocada por hongos y bacterias.

En cuanto al sistema aéreo, los síntomas de una planta infestada por *Meloidogyne* son similares a los que presenta una planta con otro tipo de daño en las raíces. Estos pueden ser: inhibición de la brotación, disminución del crecimiento y

deficiencias nutricionales que se manifiestan como clorosis del follaje, ya que los nematodos interfieren la producción y translocación de sustancias provenientes de las raíces, como las hormonas giberelinas y citoquininas, y también de sustancias que regulan la fotosíntesis. Otro síntoma característico es la aparición de marchitez temporal a pesar de haber humedad adecuada en el suelo, debido al menor tamaño del sistema radical y a que los elementos vasculares en los nódulos se rompen y se deforman, interrumpiendo mecánicamente el flujo normal de agua y nutrientes (Mella, 2004).(Figura 5).

En general, los efectos de los nematodos parásitos de plantas sobre los cultivos se subestiman, situación que ocurre también en el caso de las especies de *Meloidogyne*, debido a los síntomas inespecíficos que producen, suelen confundirse con desordenes nutricionales, estrés hídrico, problemas de fertilidad del suelo, así como con otras infecciones secundarias causadas por hongos y bacterias (Hussey, 1985).

Los nematodos son especialmente problemáticos en condiciones marginales de suelo o irrigación, es decir, en suelos muy arenosos o demasiado arcillosos, en perfiles poco profundos, cuando el agua es un factor limitante y cuando las prácticas agrícolas no son las adecuadas (marcos de plantación demasiado altos, monocultivos y rotaciones con varios cultivos susceptibles al mismo nematodo) (Montealegre, 2005).



Figura 3. Sistema radical de tomate infectado con *Meloidogyne* spp. (Castro *et al.*, 2011)



Figura 4. Tubérculos con agallas causadas por *Meloidogyne* spp. Fotografía tomada por el Dr. Melchor Cepeda Siller (UAAAN, 2013).



Figura 5. Daño debido al nematodo agallador *Meloidogyne* spp. (Mitkowski y Abawi 2003)

Meloidogyne incognita

Eisenback, et al. (1983), define la siguiente morfología para esta especie:

Hembras

Estilete: En *M. incognita* el cono del estilete está claramente curvado dorsalmente. La porción anterior del cono es cilíndrica y la mitad posterior cónica. La columna es ligeramente más ancha en la base. Los nódulos son anchos y planos, separados de la columna y con proyecciones hacia la parte anterior tan marcadas en algunos especímenes, que cada nódulo se ve como si fueran dos.

Morfología de la cabeza: El disco labial y los labios medios de *M. incognita*, tienen forma de “mancuerna”. (Los labios menores son más anchos que el disco labial) en vista frontal. En el lado ventral del disco labial, están presentes dos protuberancias. Los labios laterales son grandes y están separados de los labios medios redondeados; generalmente se fusionan con la región cefálica, en un tramo lateral corto que está frecuentemente surcada por un anillo discontinuo.

Machos:

Morfología de la cabeza: La forma de la cabeza de los machos de *M. incognita* es muy característica, porque no se confunde fácilmente con ninguna otra especie. El disco labial es grande y redondeado, cóncavo centralmente y más alto que los labios medios, los cuales son tan anchos como la región cefálica que generalmente presenta 2 o 3 anillos incompletos.

Estilete: La punta del estilete de machos de *M. incognita*, es roma y más ancha que la porción media del cono. Una proyección en el lado ventral del cono, marca la abertura del lumen del estilete, la cual queda localizada a una distancia equivalente a un cuarto de la longitud del cono, a partir de la punta del estilete. La columna es generalmente cilíndrica y con frecuencia es más angosta cerca de los nódulos basales; éstos están separados de la columna, presentan proyecciones hacia la parte anterior y pueden ser de anchos y planos a redondeados.

Juveniles del segundo estadio.

Morfología de la cabeza: El disco labial y los labios medios presentan forma de mancuerna, en vista frontal. El disco labial es pequeño y redondo, ligeramente más elevado que los labios medios. Los labios laterales forman un mismo perfil con la región cefálica, la que usualmente presenta de dos a cuatro anillos incompletos.

Medidas útiles

Longitud total de los juveniles del segundo estadio, longitud de la cola, distancia de la terminación de la cabeza a la base del estilete, longitud del estilete de la hembra longitud del estilete del macho.

Prueba de hospedantes diferenciales: De acuerdo a la prueba de hospedantes diferenciales de Carolina del Norte, *M. incognita* presenta cuatro razas. Todas las poblaciones de las cuatro razas se reproducen en chile, sandía y tomate; pero varías en su respuesta al tabaco resistente y algodón. Las poblaciones de la raza 1 no se reproducen en tabaco ni algodón; las de raza 3 no se reproducen en tabaco pero si en algodón y las de raza 4 se reproducen en ambos vegetales.

Sintomatología

En plantas susceptibles las poblaciones de *M. incognita* pueden producir agallas individualizadas, pero generalmente están coalascen para formar agallas

grandes y algunas veces masivas (por ejemplo en cucurbitáceas). Generalmente el tipo de agallamiento no se considera útil para la identificación de la especie.

Manejo

El objetivo de realizar un manejo de nematodos fitoparásitos, es disminuir la densidad de población de la plaga existente, de manera que no provoque un daño económico importante (Sánchez, 2006). La forma tradicional de enfocar este problema en los huertos ha sido por medio de productos sintéticos (métodos químicos con la aplicación de distintos productos nematicidas) (Aballay, 2005).

Tratamientos con nematicidas de síntesis

En épocas pasadas los nematicidas de síntesis fueron la técnica de manejo de estos parásitos en la mayoría de los casos, particularmente cuando la enfermedad se presenta de modo severo. Por otro lado, la mayoría de los nematicidas de síntesis han sido eliminados o su uso en determinadas áreas geográficas tiene limitaciones para su aplicación por su impacto sobre la salud de las personas o sobre el ambiente. Diversas fuentes documentales, coinciden en clasificar los nematicidas de síntesis en dos grandes grupos, los fumigantes y los no fumigantes. Estos últimos en diversas situaciones han demostrado menor eficacia que los fumigantes y tienen su actividad nematicida fundamentalmente sobre los estadios activos de los nematodos pero no sobre huevos, retrasando su eclosión. Estos nematicidas no fumigantes no son tan fitotóxicos como los fumigantes, por lo que en muchas ocasiones solo se pueden usar

en postplantación. El uso de fumigantes para el suelo ha sido el método químico más comúnmente usado, pero las tendencias a la prohibición de los mismos y el precio elevado ha limitado su utilización, cuanto menos en determinados cultivos (Sanz y Dueñas, 1973).

El potencial de carcinogenicidad de los productos nematicidas de síntesis, así como su efecto en la contaminación de las aguas, o el impacto de sus emisiones a la atmosfera, han figurado entre las razones presentadas para la revisión por las autorizaciones de registro y de uso de algunos de estos productos (Barres *et al.*, 2006).

Fumigantes del suelo.

Los fumigantes utilizados y permitidos en la actualidad como nematicidas incluyen las mezclas de 1,3-dicloropropeno, generadores de isotiocianato de metilo (metam sodio, metam potasio y dazomet), tetratiocarbonato de sodio que libera disulfuro de carbono y el ioduro de metilo (este último no registrado en muchos de los países que aún utilizan bromuro de metilo). En un principio los metam ya sea el sódico o el potásico así como el dazomet no son fumigantes pero tras su aplicación en el suelo desprenden metilisotiocianato (Barres *et al.*, 2006). La mayoría se utilizan como fumigantes de suelo, algunos impiden la absorción de oxígeno en la respiración celular, otros interfieren en acciones de ciertas enzimas, etc. (Liñán, 2009).

No fumigantes del suelo.

Los nematicidas o nematostáticos no fumigantes pueden ser una alternativa al bromuro de metilo. Dentro de este grupo se incluyen organofosforados como etóprofos y el fenamifos, así como el carbamato oxamilo. Los nematicidas no fumigantes actualmente existentes en el mercado se aplican al suelo, salvo el oxamilo, que se puede aplicar foliarmente. Estos actúan interfiriendo en la transmisión de impulsos nerviosos por inhibición de la acetilcolinesterasa (Liñán, 2009).

Alternativas no químicas

Ante la gravedad de los problemas fitonematológicos y la dificultad de su control con alternativas químicas, es necesario encontrar alternativas no químicas que se adapten a las características agronómicas de cada área. En la actualidad los ciudadanos están exigiendo una agricultura respetuosa con el ambiente y la salud, lo que está derivando en un cambio en el enfoque de la producción agrícola hacia nuevos modelos de gestión de los cultivos, en especial para el manejo de plagas y enfermedades (Castro, 2010).

Algunas alternativas no químicas actualmente disponibles para el manejo de los problemas que causan los nematodos, principalmente del género *Meloidogyne* en los cultivos son: medidas sanitarias, tratamiento con agua caliente, vapor de agua, solarización, cultivares resistentes, resistencia inducida, agentes de control biológico, prácticas culturales, así como el uso de plantas antagonistas (MBTOC 2007).

Plantas antagonistas

La producción de sustancias nematocidas por los vegetales superiores es conocida desde principios del siglo XX. Los conocimientos adquiridos sobre el terreno por los nematólogos (Netscher y Sikora 1990) y etnobotánicos (Bourdy *et al.*, 1995) que confirman la actividad de determinados vegetales utilizados tradicionalmente en África, Asia, Pacífico y América del Sur, en las alternativas, ya sea cultivos intercalares o en forma de restos, enmiendas o extractos. Por sus propiedades nematocidas, se ha citado (Publicaciones norteamericanas, indias, japonesas y brasileñas, principalmente) más de 200 especies de plantas pertenecientes a unas 80 familias botánicas. El estado actual de las investigaciones se sitúan a 3 niveles diferentes, según los países donde se desarrollan (Regnault *et al.*, 2004).

Compuestos alelopáticos presentes en plantas

De acuerdo a Morend (1999), los vegetales producen dos tipos de componentes químicos, los metabólicos primarios (proteínas, glúcidos y lípidos), que derivan de la fotosíntesis y los metabólicos secundarios, que derivan de la asimilación del nitrógeno. Estos últimos ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, que reduce el desequilibrio orgánico propio de una enfermedad.

Los metabolitos secundarios, fenólicos, terpénicos y nitrogenados no proteicos (alcaloides), constituyen la parte esencial de los mecanismos de defensa y subsistencia de las plantas. Algunos de ellos pueden utilizarse en agricultura, para mejorar la resistencia al ataque de plagas en la elaboración de plaguicidas biorracionales (Sepúlveda, 2003).

Varias especies de plantas liberan compuestos alelopáticos a través de la volatilización, exudación de las raíces, o de la disolución y descomposición de las plantas o residuos. Muchos de estos compuestos son nematóxicos o nematostáticos, sobre distintas especies de nematodos fitoparásitos. Estos compuestos pueden ser biocidas, o interferir de otras formas en el ciclo vital del nematodo (Aballay e Insunza, 2002).

Según Aballay (2005), los compuestos de estas plantas además pueden interferir en la localización del hospedero, reconocimiento, alimentación y actividad reproductiva, estos componentes pueden tener más de un modo de acción, los que interactúan interfiriendo en el desarrollo del nematodo. Pueden tener efectos indirectos sobre la planta hospedera, ya sea estimulando el crecimiento de la planta, aumentando la tolerancia al daño o también aumentando la reacción de defensa en el hospedero.

Navarro (1997), informa de la actividad nematicida contra *Meloidogyne* spp. de los extractos de *Ruta graveolens*, *Bidens pilosa* y *Taraxacum officinale* en pruebas de laboratorio.

Mora (2004), comprobó que el extracto botánico de *Tagetes erecta* provoca la inmovilización de *Meloidogyne* spp. y posteriormente la muerte .

También se logró la inhibición de la eclosión de huevos y se incrementó la mortalidad de J₂ de *M. incognita* al aplicar tratamientos de *Chromolaena odorata* L., *Azadirachta indica* A.Juss, *Ricinus communis* L. y *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., observándose que al incrementar la concentración de las diluciones de los tratamientos y aumentar el tiempo de exposición se incrementó la mortalidad del nematodo (Adegbite y Adesiyani, 2005).

Ya que una forma de comprobar la factibilidad del uso de extractos vegetales es confrontarlos con los nematicidas químicos o comerciales, se confrontó un extracto acuoso de *Tagetes erecta* L. con el nematicida carbofuran en plantas infestadas con *Meloidogyne incognita* obteniendo como resultado un efecto similar por lo que se consideró viable la posibilidad de sustituir el nematicida químico por el extracto de *T. erecta* (Natarajan *et al.*, 2006).

Así también se realizaron ensayos en invernadero y cubiertas climatizadas para evaluar la efectividad de extractos acuosos de *Euphorbia myrsinites* L. y *Urginea maritima* L. en la reducción del índice de agallamiento provocado por *M. incognita*, observándose que en dosis altas de los extractos se logra un efecto similar al oxamil (Vydate L, carbamato como ingrediente activo) (Kaşkavalaci y Civelek, 2009).

McKenry (2003), reporta una mortalidad del 100% en juveniles del segundo estadio de *Meloidogyne incognita*, al evaluar la efectividad biológica de extractos de nogal bajo condiciones *in vitro*.

Ahora sabemos que los metabolitos pueden actuar como repelentes, inducen parálisis, reducen la eclosión o incluso pueden causar la muerte del nematodo (Wuyts, 2006). Existen numerosos trabajos en los que se brinda información sobre las posibilidades para controlar las poblaciones de nematodos mediante la acción de estos metabolitos, principalmente con el nematodo fitopatógeno *Meloidogyne* spp., que representa uno de los nematodos de gran importancia económica en el mundo (Moens *et al.*, 2009).

Descripción del material vegetal

Carya illinoensis

El nogal pecanero del cual obtenemos la nuez encarcelada pertenece a la familia Juglandaceae, que comprenden plantas arbóreas que producen una drupa, en el cual durante la fase de maduración el pericarpio y el mesocarpio se secan y el endocarpio (cáscara) y la semilla (almendra) son considerados como la nuez. Los géneros más importantes de esta familia son *Junglans* y *Carya* destacando en el primero el nogal de Castilla y en el segundo el nogal pecanero (Méndez, 2010).

La nuez es la fruta del nogal y se considera una drupa (fruto carnoso que contiene una sola semilla), la cual consta de pericarpio, mesocarpio y semilla

(almendra). El pericarpio y el mesocarpio son estructuras segmentadas en 4 partes que al deshidratarse se abre dejando libre al endocarpio y a la semilla. A la porción del mesocarpio y endocarpio se le conoce como ruezno. Las nueces compuestas por el endocarpio y la semilla normalmente miden de 2 a 6 cm. de largo y pesan de 4 a 12 gr. cada una (SAGARPA 2007).

Características del cultivo

El nogal pecanero es un árbol que puede superar los 30 m de altura, muy vigoroso y longevo, el cual inicia su vida productiva entre los 6 a 10 años de edad y continúa produciendo en niveles óptimos y comerciales durante poco más de 50 años, aún y cuando con un buen manejo técnico adecuado se puede alargar su vida productiva teniendo casos de árboles que duran hasta 100 años (SAGARPA, 2007).

El nogal de la nuez pecanera crece comúnmente en suelos arcillo-arenosos bien drenados no sujetos a inundaciones prolongadas. Sin embargo, aparece en suelos de textura pesada, donde se limita a suelos aluviales de origen reciente. Rara vez crece en suelos planos mal drenados. En su área de origen crece en clima húmedo; con precipitaciones medias anuales de 760 mm y un máximo de 2,010 mm. Las temperaturas promedio en verano que oscilen entre los 27 °C, con extremas de 41 a 46 °C, las temperaturas promedio en invierno adecuadas son entre 10 y -1 °C, con extremas de -18 a 29 °C (COMENUEZ, 2012).

Importancia a nivel mundial

Las áreas productoras de nuez alrededor del mundo se localizan principalmente entre los 25° y 35° de latitud Norte y entre 25° y 35° latitud Sur. En varios centros de origen de este frutal se encuentran numerosas extensiones de formaciones nativas sujetas a aprovechamiento comercial. En los Estados Unidos se localizan principalmente en los estados de Georgia, Kansas, Louisiana, Missouri, Oklahoma y Texas. En México, la distribución natural del nogal se encuentra en catorce estados, siendo los centros más importantes de asociaciones nativas los estados de Nuevo León, Coahuila y Chihuahua (Ojeda *et al.*, 2003).

La producción mundial de nuez pecanera en cáscara, se estima en alrededor de las 210,000 ton. Los principales productores son Estados Unidos (72 %) y México (25%). Otros productores menores son Australia, Sudáfrica, Israel, Brasil, Argentina, Perú y Egipto. Además de ser el principal productor y exportador de nuez encarcelada, Estados Unidos es el más grande consumidor. Otros países que son importantes consumidores son: Reino Unido, Alemania, Canadá y Japón. Los Estados Unidos exportan e importan nueces, y México es el principal exportador (nuez con cáscara) hacia ese país (25,000 ton anualmente). Los productores de ambos países tienen como objetivo ofertar su producto en el período previo al «Día de Acción de Gracias», ya que es cuando se tiene el mayor volumen de demanda (FIRA, 2002).

La mayor cantidad de nuez pecanera se comercializa sin cáscara, es decir la almendra, la cual constituye alrededor del 50 % del peso total de la nuez. Los precios

al consumidor de nuez pecanera sin cáscara en Estados Unidos fluctúan entre los cuatro y cinco dólares la libra (FIRA, 2005).

Importancia a nivel nacional.

En México, las primeras plantaciones comerciales de nogal se establecieron el año de 1946, y para el año 2000 se tenían plantadas más de 60 mil ha a nivel nacional (Tarango, 2004).

Actualmente, la superficie cosechada del nogal pecanero se localiza en el norte del país y prácticamente en su totalidad en las áreas de riego (gravedad y bombeo), y en áreas muy marginales de temporal. Los principales distritos de riego con plantaciones de nogal en el país son los de Chihuahua, Delicias y Río Florido, en el estado de Chihuahua, y el de Hermosillo, Sonora (SIAP, 2009).

Los estados con mayor producción de nuez en la República Mexicana son Chihuahua con 60,031.31 ton y un rendimiento de 1.54 ton/ha; Sonora con una producción de 17,146.93 ton y un rendimiento de 2.32 ton/ha; Coahuila con una producción de 15,002.86 ton y un rendimiento de 1.24 ton/ha. y Durango con una producción de 6,548.65 ton y un rendimiento de 1.26 ton/ha (SIAP, 2012).

El nogal se cultiva en menor medida en los estados de Jalisco, Nuevo León, Aguascalientes, Querétaro, Oaxaca e Hidalgo. Otros estados tienen superficies sembradas pero aún se encuentran en etapa de desarrollo (FIRA, 2005).

Características nutrimentales

Nuez: La nuez pecanera es rica en ácidos grasos mono y poli insaturados, es fuente de proteína rica en arginina, fitoesteroles y compuestos fitoquímicos contiene vitamina E, vitaminas del complejo B y Hierro (Moreno, 2012).

Cáscara: La cáscara representa aproximadamente el 50% de la nuez y tiene poco o nulo valor actualmente. Tiene usos tales como: material para jardinería, abrasivo, carbón activado y como fuente de pigmentos y taninos, entre otros (Ramos 2012).

La cáscara de nuez es una fuente excepcional de taninos y pueden ser obtenidos con altos rendimientos (cerca del 40% en base al peso seco) y son más reactivos que aquellos provenientes de la Mimosa, el estándar industrial para taninos condensados. Esta ventaja puede ser aprovechada en mercados de especialidad química (Ramos, 2012).

Ruezno: Del pericarpio y mesocarpio (Ruezno), se obtiene un colorante denominado nogalina, es un aceite que se utiliza como base de distintos colorantes y tintes. Por otro lado estas dos capas externas del fruto, junto con las hojas, contienen abundantes taninos que le confieren una propiedad fuertemente astringente; así como también, derivados quinónicos, de donde la glucona es la más importante. Esta sustancia es amarga lo que le permite tener propiedades antisépticas, cicatrizantes, tonificantes, vermífugas e hipoglucemiantes (Pamplona, 2006).

Tallo: Otro subproducto que se obtiene del nogal es su madera. Ya que ésta, toma tonalidades marrones veteadas de negro según el árbol va envejeciendo; estas características le dan valor a la madera, pero esto se consigue hasta los 60 a 80 años de vida del árbol (Luna, 1990).

Compuestos fenólicos presentes en los extractos

Polifenoles: Son moléculas complejas que tienen dos o más anillos aromáticos enlazados, se forman a partir de la ruta del ácido shiquímico (Swain, 1979), en el retículo endoplásmico liso y rugoso, y se depositan dentro de las vacuolas celulares. Los compuestos fenólicos pueden ser clasificados de acuerdo a su estructura química en ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos estos son los compuestos fenólicos más comunes en el reino Plantae (Strack, 1997).

Taninos: son compuestos no nitrogenados con un peso molecular entre 300 y 20,000 Da (Khanbabaee y Ree, 2001), amorfos, débilmente ácidos la mayoría de ellos solubles en agua que se encuentran presentes en el citoplasma y las vacuolas de las células como metabolitos secundarios. Después de las ligninas, los taninos son el segundo grupo más abundante en compuestos fenólicos presentes en las plantas y se encuentran distribuidos principalmente en cortezas, maderas, hojas, frutos, raíces y semillas (Haslam, 1998).

Pertenece al grupo de los antioxidantes, los cuales pueden retardar o inhibir la oxidación de lípidos o de otras moléculas inhibiendo la iniciación o propagación de cadenas reactivas de oxidación (Ramos, 2012).

Clasificación de los taninos:

Taninos hidrolizables (TH)

Este grupo involucra un alcohol polihídrico esterificado con ácido gálico o alguno de sus derivados. Compuestos por ésteres de glucosa u otros polioles, como pueden ser el ácido gálico, digálico, m-digálico, hexahidroxidifénico o sus derivados. Los hidroxilos de estos carbohidratos están parcial o totalmente esterificados con grupos fenólicos como el ácido gálico o el ácido elágico, y por hidrólisis con ácidos, bases o enzimas se rompe el enlace glucosídico para liberarse azúcar y otros compuestos fenólicos que lo integran (López, 1989).

Los taninos hidrolizables se pueden dividir en los siguientes subgrupos:

Galotaninos: son compuestos que consisten de una molécula de glucosa, la cual se encuentra rodeada por unidades de ácido gálico. La fuente más famosa de galotaninos es el ácido tánico de origen vegetal, el cual tiene una molécula de D-glucosa y de 5 a 9 unidades de galoilos ligados a uno de los centros del núcleo de azúcar. Es fácilmente hidrolizable por la acción de la enzima tanasa (Sánchez, 2001).

Elagitaninos: En una molécula de elagitanino un grupo hexahidroxidifenoilo (HHDP) se encuentra unido por un enlace éster a los grupos hidroxilo de una glucosa. Los elagitaninos pueden liberar ácido elágico y gálico por hidrólisis ácida o básica (Hong, 1995).

Taninos condensados (TC)

Los taninos condensados también llamados proantocianidinas corresponden a un grupo muy particular de oligómeros y polímeros de polihidroxi-flavan-3-ol ligados por enlaces covalentes carbono-carbono entre las diversas subunidades flavonoides. Su elevado número de grupos fenólicos hidroxilados le dan una elevada capacidad de formar compuestos complejos o quelatos con proteínas (Hagerman *et.al.*, 1998) con iones metálicos (Van Acker *et.al.*, 1998) y con otras moléculas como los polisacáridos (Mueller-Harvey y McAllan, 1992).

Los taninos condensados son más abundantes en cortezas y maderas que los lagitaninos y los galotaninos, y son más resistentes al ataque microbiano (Ventura Sobrevilla *et.al.*, 2006). Incluyen los flavonoides; que a su vez se subdividen en antocianidinas y leucoantocianidinas y la catequina (Sánchez, 2001).

Taninos complejos

Son aquellos compuestos que se forman por el resultado de la unión de catequinas o epicatequinas con ácido gálico o elágico, debido a las reacciones catalizadas con luz, oxígeno y calor (Aguilera *et al.*, 2008).

Con esta información se comprueba que los productos naturales son cada vez más investigados debido a su acción contra plagas y enfermedades, siendo los residuos del nogal una fuente importante de metabolitos para el control del nematodo agallador *Meloidogyne* spp., generando un impacto económico en los

ingresos de los productores nogaleros de la zona norte del país y para el desarrollo de nuevas formulaciones para su aplicación en cultivos de importancia agrícola.

**EFFECTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE *Carya illinoensis*, PARA
EL CONTROL DE *Meloidogyne incognita*.**

**Fabiola Garrido Cruz¹, Melchor Cepeda Siller¹, Francisco Daniel Hernández
Castillo¹, Yisa María Ochoa Fuentes¹, Ernesto Cerna Chávez¹, Diana Margarita
Morales Adame².**

¹Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma Agraria Antonio
Narro. Buenavista. Saltillo, Coahuila de Zaragoza. C.P. 25315. Tel: 8444 11 03
26 ² Fitokimica Industrial de México, S. A. de C. V. Brasilia No. 1000 Col.
Latinoamericana, Saltillo, Coahuila de Zaragoza. C.P. 25270. Tel: 844 416 23
98. Autor correspondiente: Fabiola Garrido Cruz, fabygarrido@hotmail.com.
Rio Vístula No.191 Col. Misiones Quinta Manantiales, Ramos Arizpe, Coahuila
de Zaragoza. CP.25904. Tel: 844 180 52 65.

RESUMEN

El trabajo se desarrolló durante el 2012 en el Laboratorio de Nematología del Departamento de Parasitología, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con el objetivo de evaluar extractos vegetales derivados del nogal *Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch, para el control del nematodo agallador *Meloidogyne* sp. Göeldi 1889. Los nematodos fueron obtenidos a partir de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) Var. "Alpha", que presentaban sintomatología. Se realizó la extracción de hembras adultas y masas de huevos, para los análisis morfológicos como el modelo perineal de hembras, así como la medida de distintos caracteres de juveniles del segundo estadio y se determinó que corresponde a *Meloidogyne incognita*. Para el estudio de evaluación de efectividad biológica de los extractos, se

utilizaron placas plásticas con cavidades, donde se colocaron los extractos a diferentes concentraciones, (1.0, 1.5 y 2.0%) utilizando una población de 30 ± 5 especímenes de *Meloidogyne incognita* activos, se estableció un experimento completamente al azar, con once tratamientos incluyendo al testigo y cinco repeticiones. Se observaron al microscopio estereoscópico a las 24, 48 y 72 h de exposición con los extractos, para determinar el porcentaje de mortalidad. De los extractos evaluados, los que presentaron mayor actividad nematocida fueron el FIM8 (Ruezno acuoso) con 89.16% , FIM6 (Ruezno etanolítico) con 69.22%, y el FIM7 (Cáscara acuoso) con 60.77% , todos estos en la concentración al 2.0% y en la observación a las 72 h de exposición con el extracto.

Palabras clave: *Carya illinoensis*, *Meloidogyne incognita*, Nematodo agallador.

ABSTRACT

This study was done in 2012 in the laboratory of Nematology, Department of Parasitology, in the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, in Buenavista Saltillo, Coahuila. The objective of this study is to evaluate botanical extracts from walnut *Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch to control the root-knot nematode *Meloidogyne* sp. Göldi 1889. The nematodes were obtained from galls of potato tubers (*Solanum tuberosum* L.) Var. Alpha. Females and egg masses were extracted and used to do morphological analysis of female perineal model and measurement of distinct characters of second-stage juveniles and it was determined that they corresponded to *Meloidogyne incognita*. For the evaluation of biological effectiveness of the extracts they were placed in plastic plates with cavities, at different concentrations (1.0%, 1.5% and 2.0%) testing a population of 30 ± 5 active specimen of *Meloidogyne incognita*. The experiment was completely randomized

with eleven treatments each one including control with five replicates. Nematodes were observed with a stereoscopic microscope at 24, 48 and 72 h, to determine the percent of mortality. The extracts with higher nematocidal activity were FIM8 (Husk aqueous extract) with 89.16%, FIM6 (Husk ethanolic extract) 69.22%, and FIM7 (Shell aqueous extract) with 60.77% at a concentration of 2% and observed after 72 hrs of exposure.

Key words: *Carya illinoensis*, *Meloidogyne incognita*, Root-Knot Nematode.

INTRODUCCIÓN

Los nematodos fitoparásitos son organismos importantes en las plantas como agentes causantes de enfermedades. Es un grupo con una amplia variedad de hábitats, encontrándose en el suelo a densidades cercanas a los 30 millones de individuos por metro cuadrado. Estos en la mayoría de los casos se alimentan de las raíces de las plantas, aunque es posible encontrar algunos géneros que atacan las partes aéreas (Arauz, 1998; Agrios, 2004).

Además del daño directo a la sanidad de la planta, los nematodos pueden desempeñar diferentes funciones en los complejos de enfermedades; actúan como vectores de ciertos virus, lesionadores, modificadores del huésped, interruptores de resistencia y modificadores de la rizósfera (Desaeger *et al.*, 2004).

La mayoría pertenecen al Orden Tylenchida, dentro de este orden, los fitonematodos del Género *Meloidogyne*, son responsables de grandes pérdidas en cultivos de importancia económica (Abad *et al.*, 2003).

El primer registro que se conoce del Género *Meloidogyne* fue hecho por Berkeley en 1855 de especímenes colectados en invernaderos de Inglaterra. En 1949 Chitwood y Brodie, describieron las cuatro especies de *Meloidogyne* más comunes y ampliamente distribuidas en la actualidad: *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* y *M. hapla* (Cepeda y Gallegos, 2003).

Han desarrollado la capacidad para manipular las funciones de sus hospederos, para su propio beneficio induciendo la diferenciación celular del parénquima de la raíz en multinucleadas y causando hipertrofia de las células de alimentación, llamadas células gigantes. Las cuales constituyen la única fuente de nutrientes para el desarrollo de nematodos. La hiperplasia de los alrededores de las células, conduce a la formación de las típicas agallas en raíz, que es el síntoma visible de la infección primaria (Abad *et al.*, 2009).

Como otros nematodos fitoparásitos, tienen estilete, que se utiliza para perforar las paredes celulares de las plantas, liberando secreciones de las glándulas faríngeas en el tejido del huésped y así absorber los nutrientes de las células gigantes. Por lo tanto las plantas infectadas son débiles, presentando enanismo, clorosis, marchitez, falta de vigor, caída de flores y bajo rendimiento. A diferencia de otros nematodos que dañan a las células de las cuales se alimentan, es esencial para *Meloidogyne* sp. que las células de alimentación están sanas y metabólicamente activas, a lo largo del ciclo de vida del nematodo (Abad *et al.*, 2009; Triviño, 2004).

En el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L), especies de este género causan importantes daños alrededor del mundo, disminuyendo el rendimiento por el daño al sistema radical o al infectar los tubérculos y causar agallas que les confiere una apariencia verrugosa, que afecta la calidad y reduce su valor comercial (Montero *et al.*, 2007).

La papa es una de las principales hortalizas que se producen en México, su cultivo y las diversas labores que involucra, representa una gran importancia económica y social para 21,600 familias que dependen de su cultivo; alrededor de 8,700 productores están involucrados en la producción, generando 17,500 empleos directos, el valor de su producción es alrededor de 500 millones de dólares y genera inversiones por un monto de 25,935,000,000 de pesos (CONPAPA, 2010). El cultivo de este tubérculo, se realiza actualmente en 22 estados de la República Mexicana durante todo el año (SIAP, 2011).

Se han utilizado métodos de control de nematodos como son: físicos, químicos y culturales, generalmente en combinación con una estrategia de manejo integrado (Perry, 1996). En diversos cultivos de solanáceas, cucurbitáceas y frutales, se realizan aplicaciones de nematicidas químicos sintéticos, para reducir los daños causados por *Meloidogyne incognita* (Rosso *et al.*, 2004), estos han conllevado a la alteración del equilibrio dinámico de los ecosistemas, como la resistencia de plagas y la eliminación de sus enemigos naturales, acumulación de residuos tóxicos en las cadenas tróficas, muerte de humanos y animales por intoxicación, e incremento en los costos de producción (Hernández *et al.*, 2000; Castillo, 2004). Debido a estos efectos, con mayor frecuencia se cuestiona el uso de plaguicidas químicos, para el control de plagas y enfermedades en los cultivos agrícolas (Fernández y Juncosa, 2002).

La búsqueda de estrategias que incrementen la productividad agrícola y mantengan el equilibrio ecológico sin agredir los ecosistemas, sin arriesgar la salud humana, constituye hoy en día un gran reto para la agricultura y su desarrollo (Gallegos *et al.*, 2003). Para el control de nematodos, se han estudiado muchas plantas de las cuales se usan simplemente semillas, hojas, raíces en forma de extracto o simplemente

como abono verde, las propiedades nematocidas de algunas plantas, se relacionan directamente con el contenido de ciertos químicos que resultan tóxicos a los nematodos como fenoles, taninos, azadiractinas, alcaloides y glicósidos, entre otros, (Reina *et al.*, 2002; Aballay, 2005). Sus mecanismos de acción son variables; por ejemplo, la toxicidad de los fenoles en microorganismos, se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos. El modo de acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos. De los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el DNA, y de las lectinas y polipéptidos, se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva, por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999).

El Nogal *Carya illinoensis* es considerado un cultivo muy valioso, se han demostrado la actividad antimicrobiana de la nuez, y otras partes del árbol, especialmente de hojas, frutos y corteza. Las cáscaras de nuez verde, se pueden utilizar como una fuente fácilmente accesible de compuestos bioactivos naturales. Se ha demostrado, que los extractos acuosos de cáscaras de nuez verde, presentan una fuerte actividad antioxidante e inhibitoria para el crecimiento de diferentes bacterias patógenas (Gram positivas) que causan diversos problemas a la salud humana (Pereira *et al.*, 2008). Si se considera que la mayoría de los compuestos obtenidos de las plantas, son biodegradables e inoocuos, y que en México se encuentran aproximadamente 10 % de las especies de plantas superiores del mundo y más de 40 % de ellas son habitantes exclusivas de nuestro país (CONABIO, 1998), resulta conveniente explorar, el potencial de empleo de sus extractos vegetales para controlar las enfermedades.

Por tal razón y con el propósito de contribuir en la búsqueda de productos naturales, para el control del nematodo agallador *M. incognita*, se evaluaron extractos vegetales por sus antecedentes como potenciales controladores de nematodos fitopatògenos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente estudio, se utilizaron tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.), procedente de Navidad, Municipio de Galeana, Nuevo León, que se localiza a 84 Km al Oriente de la ciudad de Saltillo, Coahuila de Zaragoza, abarcando una extensión de 7000 Ha; está situada a 25° 00'00" de Latitud Norte y 100° 32'00' de Longitud Oeste del Meridiano de Greenwich, a una altura de 1895 msnm. Los tubérculos presentaban agallas o protuberancias con una apariencia verrugosa, causadas por el nematodo agallador *Meloidogyne* sp. Los tubérculos fueron llevados al laboratorio de Nematología del Departamento de Parasitología, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, donde se llevó a cabo el experimento.

Extracción del nematodo agallador a partir de tubérculos de papa.

Se realizó una inspección directa visual de la sintomatología de los tubérculos (mezquinos) y con un bisturí, se realizaron cortes longitudinales de la cutícula de 3 a 5 mm de profundidad, que fueron observados bajo un microscopio estereoscópico a 45 X localizando pequeños puntos de color café, posteriormente las hembras adultas blancas-crema así como sus masas de huevos, con ayuda de una aguja de disección, fueron extraídos y colocados en un vidrio de reloj en 3 ml de agua destilada estéril. Las masas de huevos se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1.0% por 1 min., con el fin de favorecer el desprendimiento de los huevos y eliminar

microorganismos, que pudieran afectar su viabilidad. Las hembras y masas de huevos, se enjuagaron con agua destilada estéril varias veces y se colocaron en una caja Petri estéril, en una incubadora a 25 °C por un periodo de 48 a 72 h, hasta observar la eclosión de juveniles del segundo estadio, lo que permitió tomar las medidas correspondientes y complementar el resultado de la identificación.

Las hembras adultas se utilizaron para realizar los cortes perineales, para su identificación microscópica, en base a la técnica propuesta por Taylor y Netscher (1974).

Identificación morfológica del nematodo *Meloidogyne* sp.

Hembras adultas

Se realizaron cortes perineales de hembras, extraídas de los tubérculos con sintomatología, siguiendo la técnica de Taylor y Netscher (1974), donde la hembra se colocó a bajo el microscopio estereoscópico, se realizó un corte ecuatorial del cuerpo y se transfirió a un portaobjetos con ácido láctico al 45%, para eliminar tejidos que se adhieren a la cutícula, posteriormente se transfirieron a un portaobjetos con una gota de glicerina. Los patrones se colocaron con la superficie interna hacia el portaobjetos, alienándolos con el ano y la vulva hacia abajo. Para la identificación de las especies a partir de los modelos perineales, se siguieron las claves taxonómicas de Eisenback , *et al.* (1981).

Juveniles

Para la identificación de los nematodos, se realizó el análisis morfométrico de 10 especímenes, obteniendo el promedio de cada caracter medido, para tener una fuente de variación aceptable. Se realizaron montajes de juveniles en portaobjetos con

lactofenol-azul de algodón y se observaron al microscopio compuesto marca Labomed con cámara Digi 2 1500 de 10 a 100 X, midiendo mediante un software Digi Pro 4.0. Los índices de De Man (1880) para la identificación de juveniles que se midieron, fueron: longitud del cuerpo, ancho, índice A, índice C, largo del estilete, distancia del estilete a la desembocadura de la glándula dorsal (DGO), longitud de la cola, y longitud de la región hialina.

Extractos a evaluar

Los extractos de distintas partes del nogal, fueron otorgados por la empresa Fitokimica Industrial de México, S.A. de C.V., para su evaluación.

Las claves que se utilizaron para nombrarlos, fueron: FIM1, FIM2, FIM3, FIM4, FIM5, FIM6, FIM7, FIM 8, FIM9 y FIM10.

Los componentes de cada extracto son los siguientes:

FIM1: Cáscara acuoso 1 Alto contenido de taninos hidrolizables , condensados y actividad antioxidante respectivamente.

FIM2: Ruezno acuoso1 Presencia de taninos hidrolizables y muy baja presencia de taninos condensados.

FIM3: Tallo acuoso 1 Presencia de taninos hidrolizables y muy baja presencia de taninos condensados.

FIM4: Cáscara acuoso 2 Presencia de taninos hidrolizables y muy baja presencia de taninos condensados.

FIM5: Ruezno etanolítico 1 Alto contenido de taninos hidrolizables.

FIM6: Ruezno etanolítico 2 Alto contenido de taninos condensados y actividad antioxidante respectivamente.

FIM7: Cáscara acuoso 3 Alto contenido de taninos hidrolizables y condensados respectivamente.

FIM8: Ruezno acuoso 2 Alto contenido de azúcares totales y presencia de taninos hidrolizables.

FIM9: Cáscara acuoso 4 Alto contenido de taninos hidrolizables y actividad antioxidante respectivamente.

FIM10: Ruezno acuoso 3 Presencia de taninos hidrolizables.

Los extractos fueron diluidos con agua destilada estéril, a diferentes concentraciones (1.0, 1.5 y 2.0%) y se almacenaron por siete días en refrigeración a 4 °C para su posterior utilización.

Evaluación de efectividad biológica de extractos, bajo condiciones de laboratorio.

Se utilizaron placas plásticas para cultivo celular con 24 cavidades de 1.5 cm de diámetro, con capacidad de 3 ml en cada cavidad, donde se colocaron los 11 tratamientos a evaluar con cinco repeticiones a diferentes concentraciones, (1.0, 1.5 y 2.0%) y una población de 30 ± 5 especímenes vivos de J₂ de *Meloidogyne incognita*. Así mismo se colocó igual número de nematodos con agua destilada estéril que representa al testigo. Cada cavidad de la placa, se tomó como una unidad experimental, las 55 unidades experimentales se incubaron a temperatura de 25 °C, posteriormente se observaron al microscopio estereoscópico a las 24, 48 y 72 h de exposición con el extracto y se realizó el conteo de J₂, vivos y muertos en cada tratamiento y repetición. Se calculó el porcentaje de mortalidad, utilizando la fórmula de Ashoub y Amara, 2010: (Número de nematodos muertos / Número de nematodos por tratamiento) x 100. Se repitió la observación a las 96 h de exposición, estimulando los nematodos con una punta adelgazada de una varilla de bambú, con el objetivo de confirmar el efecto nematocida y no nemostático del tratamiento.

Análisis de datos

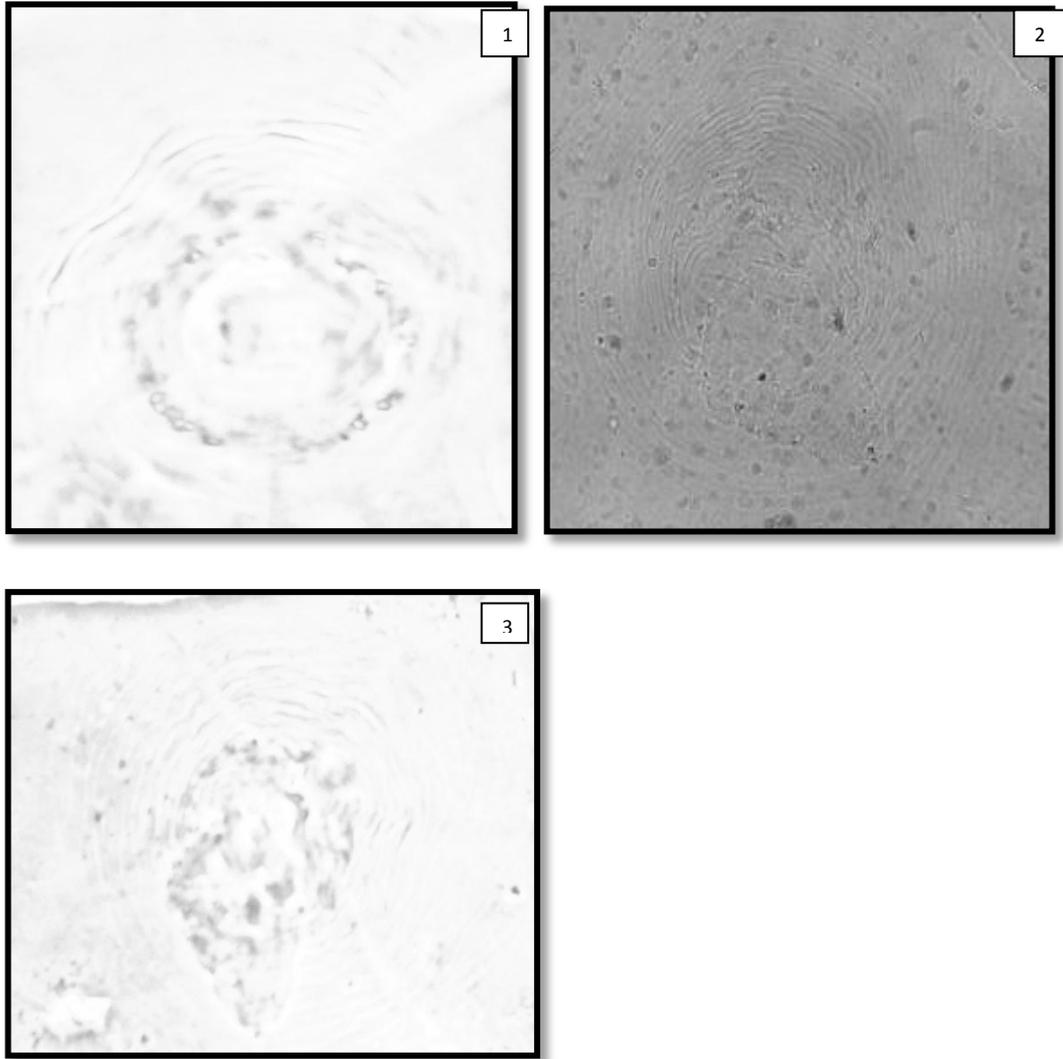
Se utilizó un diseño experimental completamente al azar y a los datos obtenidos, se les realizó un análisis de varianza (ANVA) y prueba de diferenciación de medias de Tukey, en base al programa estadístico SAS Versión. 8.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de nematodos de tubérculos de papa

Hembras adultas: De acuerdo a los modelos perineales y las claves taxonómicas de identificación de Eisenback (1981), se determinó que el nematodo corresponde a *Meloidogyne incognita*, ya que presentaron un arco dorsal alto y cuadrado formado por estrías, algunas onduladas, sin líneas laterales (Figuras 1, 2 y 3).

Juveniles del segundo estadio (J₂): Al observar los valores morfométricos de los juveniles y determinar el promedio de 10 especímenes, se compararon con los establecidos por Jepson (1987), y se comprobó que pertenecen a juveniles de *Meloidogyne incognita*. (Cuadro 1).



Figuras 1, 2 y 3. Modelos perineales de hembras de *Meloidogyne incognita*, aisladas de tubérculos de papa mostrando un arco dorsal alto y cuadrado sin líneas laterales.

Cuadro 1. Media aritmética de 10 especímenes.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Media Aritmética
L	348.5	351.7	416.3	405.8	427.7	404.0	410.6	405.3	384.5	395.2	394.96
A	14.2	15.8	14.3	13.8	14.9	15.6	15.1	13.9	14.4	15.8	14.78
Índice A	24.5	22.3	29.1	29.4	28.7	25.89	27.2	29.2	26.7	25.0	26.799
Índice C	8.0	8.2	7.8	7.7	8.6	8.0	7.9	8.1	7.3	7.7	7.93
LE	10.7	10.3	11.2	11.1	10.9	11.5	10.8	11.2	11.4	10.1	10.92
DGO	2.1	2.3	3.2	2.9	3.2	2.8	3.0	3.2	2.6	2.2	2.75
LC	43.5	42.9	53.5	52.8	49.6	50.5	51.5	49.9	52.9	51.0	49.81
LRH	7.1	9.2	7.8	8.5	13.8	10.8	12.5	9,2	8.9	10.5	9.9

L: Longitud del cuerpo, A: Ancho del cuerpo, Índice A (longitud del cuerpo dividido entre lo más ancho del cuerpo) Índice C (Longitud del cuerpo dividido entre longitud de la cola) LE: Largo del estilete, DGO: Distancia del estilete a la desembocadura de la glándula dorsal, LC: Longitud de la cola, y LRH: Longitud de la región hialina.

Evaluación de efectividad biológica de extractos

Los diferentes extractos evaluados, mostraron efectos en la mortalidad del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*, siendo la concentración del 2.0% y a las 72 h de exposición, la que presentó mayor porcentaje de mortalidad. El extracto FIM8 (Ruezno acuoso), obtuvo el mayor porcentaje de mortalidad con 89.16%, seguido por el FIM6 (Ruezno etanolítico) con 69.22%, y el FIM7 (Cáscara acuoso) con 60.77% esto a las 72 h de exposición con los extractos.

A las 48 h de exposición con los extractos, también se observaron efectos notables en la mortalidad a esta misma concentración con el extracto FIM7 con 52.57% y FIM6 con 47.39%.

De igual forma, en la concentración de 1.5%, se obtuvieron resultados satisfactorios a las 72 h de exposición, como el extracto FIM8 con un 78.65%, seguido por el FIM7 con 58.05% de mortalidad.

Cuadro 2. Resultado de los bioensayos de efectividad biológica de extractos vegetales, contra J₂ de *Meloidogyne incognita*.

	24 HRS			48 HRS			72 HRS		
	1.0%	1.5%	2.0%	1.0%	1.5%	2.0%	1.0%	1.5%	2.0%
FIM1	3.83* b	4.82* ab	9.08 BCD ab	3.83* b	4.82 CD ab	9.08 DE ab	3.83 AB b	5.82 D ab	9.88 E a
FIM2	2.83*c	5.08*c	24.79 A b	2.83*c	5.08 CD c	30.00 C b	7.31 AB c	12.20 D c	42.83 CD a
FIM3	3.34*b	5.93* b	7.45 CD b	5.30* b	7.34 CD b	8.88 DE b	7.30 AB b	8.50 D b	16.22 E a
FIM4	0.95*c	5.44*abc	5.89 Dabc	1.86*bc	7.44 CD ab	8.09 E a	4.88ABabc	8.31 D a	10.34 E a
FIM5	2.98*d	7.53*cd	14.43 ABCDc	2.98*d	12.66 BCDc	25.93 CD b	2.98 B d	13.77 D c	58.96 BC a
FIM6	0.69 *d	7.88*cd	15.35 ABCDc	1.26*d	17.91 ABCc	47.39 ABb	3.94 ABd	41.13 Cb	69.22 AB a
FIM7	0*d	4.38*cd	17.21 ABCcd	4.38*cd	28.90 Abc	52.57A ab	6.73 ABcd	58.05 Ba	60.77 BC a
FIM8	3.88*e	8.36*cde	19.43 ABbcd	7.44*de	22.98 ABbc	30.63 BCb	8.55 Acde	78.52 Aa	89.16 Aa
FIM9	3.34*b	6.23*b	9.64 BCDb	3.34*b	6.66 CDb	11.36 DEb	4.02 ABb	9.15 Db	24.95 DEa
FIM10	0*c	2.25*bc	8.01 CDbc	2.59*bc	2.25 Dbc	9.84 DEb	2.59 Bbc	9.58 Db	28.49 DEa

*=No presentaron diferencia significativa.

Distintas letras mayúsculas en las columnas indican diferencia significativa ($P=0.01$).

Distintas letras minúsculas en las filas indican diferencia significativa ($P=0.01$).

Esto concuerda con lo reportado por McKenry (2003), quien igualmente realizó pruebas de efectividad biológica de extractos de nogal, para el control del nematodo *Meloidogyne incognita* donde obtuvo mortalidad favorable, en las concentraciones de 10, 25 y 50 g/L observadas a las 24, 48 y 144 h de exposición de los juveniles del

segundo estadio con el extracto. De igual forma, Dama en el 2002 reportó una mortalidad de 100%, al evaluar el efecto de naftoquinonas, compuesto orgánico del nogal (Barajas *et al.*, 2012) sobre el nematodo agallador *Meloidogyne javanica*. *in vitro*. Khurma y Mangotra (2004), determinaron que la concentración de los extractos, influye significativamente en la mortalidad de los J₂ de *Meloidogyne* sp.

CONCLUSIONES

El extracto FIM8 de Ruezno acuoso en la concentraciones del 1.5% y 2.0% fué el que presentó mayor actividad nematicida observada a las 72 h de exposición.

Los extractos de distintas partes del nogal, presentan propiedades nematicidas, y estas varían de acuerdo a la dosis y el tiempo de exposición.

Los extractos de nogal, son una fuente potencial de metabolitos con efectos en el control del nematodo agallador *Meloidogyne incognita*.

LITERATURA CITADA

Abad, P., Castagnone-Sereno P., Rosso M. N., Engler JA., Favery B. Invasion, Feeding and Development. 2009. In: Moens M, RN Perry, JL Starr (Eds). Root-knot Nematodes. CAB International. p. 163-164.

Aballay, E. 2005. Uso de plantas antagónicas para el control de nematodos fitoparásitos en vides. Santiago de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Disponible en http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_agronomicas/montealegre_j/19.html).

Agrios, George N. 2004. Fitopatología, Ed. Limusa, 2da Ed. 838 p.

Arauz, L. 1998. Fitopatología: Un Enfoque Agroecológico. San José, Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica. 476 p.

Ashoub, A.H. and M.T. Amara, 2010. Biocontrol Activity of some Bacterial Genera Against Root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. J. American Science. 6: 321-328.

Barajas, B. L; Cantú G. RL; López L. L; Nery F. S.; Palomo L. L. 2012. Naftoquinonas: de simples pigmentos a moléculas terapéuticas. Biológicas. 14(2):48-56.

Castillo, J. 2004. Determinación de metabolitos secundarios en plantas silvestres del parque nacional Terepaima, Municipio Palavecino, Estado Lara, Venezuela. Tesis Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, Venezuela. 103 p.

Cepeda, S. M. y Gallegos, G. M., 2003. La Papa: El Fruto de la Tierra. Ed. Trillas. p. 137-139.

Confederación Nacional de Productores de Papa (CONPAPA) 2010. Plan Rector Nacional Papa. Sistema Producto Papa. Disponible en línea http://www.inforural.com.mx/producto.php?&id_rubrique=174&id_article=9291

Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev.10: 564-582.

Dama, L. B. 2002. Effect of naturally occurring naphthoquinones on root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. Indian Phytopathology. 55(1): 67-69.

Desaeger, J. R., Bridge, J. 2004. Nematodes and others soilborne pathogens in agroforestry. In M. van Noordwijk, G. Cadisch and C.K.Ong, (Eds) Below-Ground interactions in Tropical Agroecosystems: Concepts and models with multiple plant Components, CABI, Wallingford. pp. 263-283.

De Man, J. G., 1880. Die einheimischen, frei in der reinen Erde und im sussen Wasser Lebenden Nematoden. Tijdschr. Ned.Dierk. Ver. 5: 28-29.

Eisenback, D., H. Hirschmann, J. Sasser y A. Triantaphyllou. 1981. Guide to the four most common species of root-knot nematodes *Meloidogyne* sp. Plant Pathology and Genetics North Carolina State University and the United States Agency for International Development. Raleigh, North Carolina. pp. 321-348.

Fernández, C. y R. Juncosa. 2002. Biopesticidas ¿la agricultura del futuro?. Rev. Phytoma 141:14-19.

- Gallegos, M. G, Cepeda S. M. y Olayo, P. R. P. 2003. Entomopatògenos. Ed. Trillas, México, 9-10. pp.
- Hernández, H. G., Johansen, R., Gazca, L., Equihua, A., Salinas, A., Estrada, E., Duran, F. & Yalle, A. 2000. "Plagas del aguacate". In: Telliz, D. (Ed.) El aguacate y su manejo integrado. México: Ediciones Mundi-Prensa. 117-136.p.
- Jepson, S. B. 1987. Identification of root-knot nematodes *Meloidogyne* species. CAB International, Wallingford, UK. 265 p.
- Khurma, U. R. and Mangotra, A. 2004. Screening of some Leguminosae seeds for nematicidal activity. *South Pacific Journal of Natural Science* 22: 50-52
- McKenry, M.V., Anwar, S.A. 2003. Nematicidal activity of walnut extracts against root-knot nematodes. *J. Nematology*. 35:358.
- Montero, Z., C. García, L. Salazar, R. Valverde y L. Gómez-Alpízar. 2007. Detección de *Meloidogyne incognita* en tubérculos de papa en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 31(1):77-84.
- Pereira, J. A., Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I.C.F.R., Bento, A., Estevinho, L., 2008. Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *Food Chem. Toxicol.* 46: 2103–2111
- Perry, N. R. 1996. Chemoreception in plant parasitic nematodes. *Annu. Rev. Phytopathology*. 34: 181-199.
- Perry, N. R, Moens M.2006. Plant Nematology. 1a edición. CABI, UK. 2006.

Reina, Y., Crozzoli, R. y Greco, N. 2002. Efecto nematocida del extracto acuoso de hojas de algodón de seda *Calotropis procera*, sobre diferentes especies de nematodos fitoparasíticos. *Fitopatología Venezolana*. 15: 44-49.

Rosso, L., A. de Candida, P. Leonetti, y A. Ciancio. 2004. Alteraciones histopatológicas causadas por *Meloidogyne incognita* en almendro (*Prunus amygdalus*). *Nema trópica*. 34:257-261.

Taylor, D .P., Netscher, C. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. *Nematológica* 20:268-269.

Triviño, G. C. 2004. Tecnología Biológica para el manejo del nematodo agallador de raíces *Meloidogyne* spp., en tomate. Boletín Técnico No. 109. Estación Experimental Boliche, Guayaquil, Ecuador. 15 p.

SIAP, 2010. Cierre de la producción por estado. Producción anual. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), SAGARPA. En línea: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=3
51.

EFECTO NEMATICIDA DE EXTRACTOS DE NOGAL *Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch, EN SUSTRATO INFESTADO CON *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949.

NEMATICIDE EFFECT OF WALNUT EXTRACTS *Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch, IN INFESTED SUSTRATE WITH *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949.

Fabiola Garrido Cruz*¹, Melchor Cepeda Siller¹, Francisco Daniel Hernández Castillo¹, Yisa María Ochoa Fuentes¹, Ernesto Cerna Chávez¹, Diana Margarita Morales Adame², Catalina Chávez Betancourt².

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Parasitología. Buenavista, Saltillo, Coahuila de Zaragoza. C.P. 25315. Tel: 8444 11 03 26 ² Fitokimica Industrial de México, S. A. de C. V. Brasilia No. 1000-3 Col. Latinoamericana, Saltillo, Coahuila de Zaragoza. C.P. 25270. Tel: 844 416 23 98. Autor correspondiente: Fabiola Garrido Cruz. Rio Vístula No. 191, Col. Misiones Quinta Manantiales, Ramos Arizpe, Coahuila de Zaragoza. C. P. 25204. Tel: 844 1 80 52 65. Correo electrónico: fabygarrido@hotmail.com.

RESUMEN

El trabajo se realizó durante el 2012, en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, donde se evaluó la efectividad biológica de extractos vegetales del nogal *Carya illinoensis*, identificados como: FIM6 (extracto etanólico de ruezno), FIM7 (extracto acuoso de cáscara) y FIM8 (extracto acuoso de ruezno), con el objetivo de determinar sus efectos nematocida sobre *Meloidogyne incognita*, en plantas de *Solanum lycopersicum.*, var Pony Express F1. El estudio se llevó a cabo en invernadero, utilizando plantas de tomate sembradas en sustrato (Peat Moss) estéril, las cuales fueron inoculadas con 100 nematodos filiformes J₂ de *M. incognita* activos, donde se evaluaron los extractos a dos diferentes concentraciones (1.5% y 2.0%). Después de 30 días de la incorporación de los extractos al sustrato, éste fue procesado por la metodología del embudo de Baerman, para determinar el porcentaje de mortalidad en la población final de nematodos. Se estableció un experimento de bloques al azar, de siete tratamientos incluyendo un testigo absoluto (agua) con cuatro repeticiones. De los extractos evaluados, los que presentaron mayor actividad nematocida fueron el FIM8 (extracto acuoso de ruezno) en las concentraciones de 2.0% y 1.5%, con 99.0% y 97.0% de mortalidad respectivamente, seguido por el FIM6 (extracto etanólico de ruezno) en las concentraciones de 2.0% y 1.5%, con 87.25 % y 71.0 % de mortalidad.

Palabras clave: *Carya illinoensis*, *Meloidogyne incognita*, Nematodo agallador.

ABSTRACT

The experiment was held in 2012, in a greenhouse of the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, where the biological effectiveness of vegetal extracts derived from *Carya illinoensis* identified as: FIM6 (ethanolic extract of husk), FIM7

(aqueous extract of peel) and FIM8 (aqueous extract of husk), was evaluated, in order to determine their effects on *Meloidogyne incognita* in tomato plants *Solanum lycopersicum.*, var. Pony Express. Tomato plants grown in sterile substrate (Peat Moss) were used, and inoculated with 100 J₂ of *M. incognita*, and two different concentrations of each extract were evaluated (1.5% and 2.0%). After 30 days of incorporating the extracts to the substrate, it was processed by the Baerman funnel methodology to determine the mortality rate of the final nematode population, these data were analyzed with a randomized block of six treatments and an absolute control (water) with four replicates. The extracts with higher nematicide activity were FIM8 (aqueous extract of husk) at the concentration of 2.0% and 1.5% with 99.00% and 97.00% of mortality respectively, followed by the FIM6 (ethanollic extract of husk) with 87.25% and 71.00% of mortality.

Keywords: *Carya illinoensis*, *Meloidogyne incognita*, root-knot nematode.

INTRODUCCIÓN

El cultivo del tomate (*Solanum lycopersicon*, L), es la hortaliza más difundida en todo el mundo y la de mayor valor económico. Su demanda aumenta continuamente y con ella su cultivo, producción y comercio. El incremento anual de la producción, en los últimos años se debe principalmente, al aumento en el rendimiento y en menor proporción al aumento de la superficie cultivada (Infoagro, 2009).

Los nematodos fitoparásitos, han causado grandes pérdidas en el cultivo de hortalizas, donde el tomate es de los más afectados. Según Baker et al. (1994), citado por Dupal (2004), los nematodos parásitos de plantas, anualmente provocan pérdidas aproximadas del 12% de la producción total de alimentos en el mundo.

Páez (1997), citado por Fleitas et al. (2004), plantea que los daños por fitonematodos, se estiman en pérdidas de alrededor del 10% de la producción agrícola mundial, lo cual representa un tercio de las pérdidas atribuidas a plagas y enfermedades.

El nematodo agallador *Meloidogyne* spp., es uno de los patógenos más importantes del cultivo del tomate y limita su producción a nivel mundial, con pérdidas estimadas del 28 al 68% (Pakeerathan *et al.* 2009).

Las plantas infestadas muestran un limitado desarrollo del sistema radical, caracterizado por la formación de agallas (Williamson *et al.* 1996), que pueden medir de 1.0 a 2.0 mm de diámetro en las raíces pequeñas y hasta 1.0 cm o más en las raíces grandes. Las raíces altamente infestadas, son mucho más cortas que las sanas, tienen menos raíces laterales y pelos radicales (Taylor y Sasser 1983). En cuanto al sistema aéreo, los síntomas de una planta infestada por *Meloidogyne*, son similares a los que presenta una planta con otro tipo de daño en las raíces. Estos pueden ser: inhibición de la brotación, disminución del crecimiento y deficiencias nutricionales que se manifiestan como clorosis del follaje, ya que los nematodos interfieren la producción y translocación de sustancias provenientes de las raíces, como las hormonas giberelinas y citoquininas y también de sustancias que regulan la fotosíntesis. Otro síntoma característico, es la aparición de marchitez temporal, a pesar de haber humedad adecuada en el suelo, debido al menor tamaño del sistema radical y a que los elementos vasculares en los nódulos se rompen y se deforman, interrumpiendo mecánicamente el flujo normal de agua y nutrientes (Mella, 2004). Como resultado, aparecen síntomas de deficiencia, los cuales conllevan a la disminución de los rendimientos, en dependencia de la severidad de la infestación del suelo (Jacquet, 2005).

Durante las últimas décadas, el control de los nematodos se ha realizado por medio de nematicidas y fumigantes de suelo como el bromuro de metilo. Sin embargo, estos productos resultan inefectivos, cuando las poblaciones de nematodos son altas, además, pueden llegar a generar resistencia, afectan la salud humana y el medio ambiente (Akhtar y Malik 2000, Pakeerathan *et al.* 2009).

Algunos de los metabolitos secundarios presentes en el reino vegetal, poseen propiedades plaguicidas (insecticidas y nematicidas) que los convierten en herramientas útiles para el control de plagas agrícolas (Vázquez-Luna *et al.* 2007; Sosa y Tonn, 2008), han llegado a un primer plano de interés, debido a su variada actividad biológica. Estas sustancias comprenden más de 30,000 compuestos diferentes identificados hasta ahora, que se han clasificado como: triterpenos, saponinas, fitoesteroles y/o sus precursores (Briekson *et al.* 1974, Kristo *et al.* 2001).

En el nogal se encuentran sustancias fitoquímicas, a los cuales se les han atribuido diversas propiedades antimicrobianas de importancia clínica (Clark *et al.* 1990).

Dependiendo de la parte analizada, se pueden encontrar diferentes principios activos por ejemplo: Naftoquinonas (junglona, plumbagina, beta-hidroplumbagina). Pericarpio, ácidos orgánicos, taninos y naftoquinonas. Cotiledones: ácidos grasos insaturados. Tegumento: polifenoles y taninos. Nuez: vitaminas A, B, C y E, sales minerales y Yodo (Raissouni, 2005).

El proceso para obtener metabolitos secundarios de los extractos vegetales es variable; se pueden obtener extractos acuosos (Bautista *et al.*, 2002) o polvos (Bautista *et al.*, 2003), o utilizar otros disolventes para obtener diferentes compuestos, según su polaridad (Abou-Jawdah *et al.* 2002).

Según CONABIO, 1998, resulta conveniente utilizar extractos vegetales para controlar las enfermedades, ya que en México se encuentran aproximadamente 10 % de las especies de plantas superiores del mundo y más de 40 % de ellas son habitantes exclusivas del país y la mayoría de los compuestos obtenidos de las plantas, son biodegradables e ino cuos. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo fue la evaluación de la efectividad nematocida de tres extractos del nogal, sobre el nematodo agallador *Meloidogyne incognita*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Extractos: Los extractos de distintas partes del nogal, fueron otorgados por la empresa Fitokimica Industrial de México, S.A. de C.V., para su evaluación. Cada uno se utilizó en dos concentraciones: 1.5% y 2.0%, diluyendo 1.5 ml y 2.0 ml del extracto en 100 ml de agua destilada estéril respectivamente.

Las claves que se utilizaron para nombrarlos, fueron FIM6, FIM7 y FIM8.

Los componentes de cada extracto son los siguientes:

FIM6: Extracto etanolítico de ruezno, con alto contenido de taninos condensados y actividad antioxidante respectivamente.

FIM7: Extracto acuoso de cáscara, con alto contenido de taninos hidrolizables y condensados respectivamente.

FIM8: Extracto acuoso de ruezno, con alto contenido de azucares totales y presencia de taninos hidrolizables.

Plantas de tomate: Para la siembra de la semilla de tomate, se utilizó sustrato Peat Moss mezclado con perlita en una proporción de 3:1, hidratado con agua destilada estéril, la mezcla fue distribuida en charolas de plástico nuevas, para la germinación

de la semilla. La siembra se realizó manualmente con semilla certificada de la var. Pony Express F1.

Las plántulas se mantuvieron en invernadero por 30 días y fueron trasplantadas en vasos de unicel de 28 oz con un aproximado de 100 g de Peat Moss estéril semi-húmedo.

Obtención de *Meloidogyne incognita*: De la cosecha del ciclo 2012 de papa (*Solanum tuberosum* L.), en la región de Navidad, Galena, Nuevo León, se obtuvieron, tubérculos de papa de la var. Alpha, que presentaban daño a manera de nódulos sobre la corteza del citado tubérculo, los cuales fueron transportados al laboratorio de Nematología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Se realizó una inspección directa visual, de la sintomatología de los tubérculos (mezquinos) y con un bisturí, se realizaron cortes longitudinales de la cutícula de 3.0 a 5.0 mm de profundidad, que fueron observados bajo un microscopio estereoscópico a 45 X, localizando pequeños puntos de color café, posteriormente las hembras adultas blancas-crema así como sus masas de huevos, con ayuda de una aguja de disección, fueron extraídos y colocados en un vidrio de reloj en 3 ml de agua destilada estéril.

Las hembras adultas se utilizaron para realizar los cortes perineales, para su identificación taxonómica bajo microscopía, en base a la técnica propuesta por Taylor y Netscher (1974).

Las masas de huevos se desinfestaron con hipoclorito de Sodio al 1.0% por 1 min., con el fin de favorecer el desprendimiento de los huevos y eliminar microorganismos, que pudieran afectar su viabilidad, se enjuagaron con agua destilada estéril 5 veces y se colocaron en una caja Petri estéril, en una incubadora a

25 °C por un período de 48 a 72 h, hasta observar la eclosión de juveniles del segundo estadio, lo que permitió tomar las medidas correspondientes y complementar el resultado de la identificación, así como seleccionar la población de 100 J₂ fue utilizada para la inoculación de plantas de tomate.

Infección al Sustrato por *Meloidogyne incognita*: La inoculación de las plantas se realizó colocando una población de 100 nematodos J₂ de *Meloidogyne incognita* en cada unidad experimental con una micro pipeta, con la cual se colocaron cerca de la raíz por medio de orificios que se realizaron al sustrato, procurando que los nematodos aplicados se localizaran e infectaran al sistema radical. Después de 10 días se procedió a la aplicación de los extractos anteriormente descritos (Abo-Elyousr *et al.* 2010).

Procesamiento de muestras: Después de 30 días de exposición con los extractos, las muestras de sustrato infestado con J₂ de *Meloidogyne incognita*, fueron procesadas bajo el método del embudo de Baermann (Cepeda, 1995), para la extracción de la población final de nematodos vivos de las 28 unidades experimentales.

Metodología:

1. Se etiquetaron y colocaron los embudos con sus mangueras en los soportes.
2. Se colocaron mallas de alambre en la boca de los embudos y se colocó una pinza en la parte inferior de la manguera.
3. La muestra del material infectado (100 g) se envolvió en un pañuelo desechable, y se colocó en el embudo de Baermann conteniendo 200 ml de agua destilada estéril, eliminando el aire del embudo.

4. Después de 48 h, se tomaron 2 ml de agua y nematodos de cada embudo, en tubos de ensaye etiquetados.
5. Se observaron las muestras en un vidrio de reloj, bajo el microscopio estereoscópico, para el conteo de nematodos vivos de la población final.

Se calculó el porcentaje de mortalidad, tomando en cuenta que la población inicial fue correspondiente a 100 nematodos filiformes J₂ de *M. incognita* por planta.

Análisis de datos: Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar de 7 tratamientos con cuatro repeticiones, los datos obtenidos se procesaron por un análisis de varianza (ANVA) y prueba de diferenciación de medias de Tukey, en base al programa estadístico SAS Versión. 8.0.

RESULTADOS

Los extractos a diferentes concentraciones, mostraron resultados significativos en la mortalidad del nematodo agallador *Meloidogyne incognita* (Tabla 1), siendo la concentración del 2.0% del extracto FIM8 (Extracto acuoso de ruezno) el tratamiento que obtuvo la mayor mortalidad con 99.00%, así como en la concentración del 1.5% una mortalidad de 97.00%, seguido por el FIM6 (Extracto etanolítico de ruezno) con 87.25% y 71.00% de mortalidad, en las concentraciones de 2.0% y 1.5% respectivamente. De igual forma el extracto FIM7 (Extracto acuoso de cáscara) obtuvo un 58.00% de actividad nematocida en la concentración del 2.0%, y 29.50% de mortalidad en la concentración de 1.5%.

Tabla 1: Porcentaje de mortalidad de J₂ de *Meloidogyne incognita* al ser expuestos con los extractos en las concentraciones de 2.0 % y 1.5 % ($P=0.01$).

TRATAMIENTOS	CONCENTRACIÓN	% MORTALIDAD <i>J₂ Meloidogyne incognita</i>
FIM6 (Extracto etanolítico de ruezno)	2.0 %	87.25 B
	1.5 %	71.0 C
FIM7 (Extracto acuoso de cáscara)	2.0 %	58.0 D
	1.5 %	29.5 E
FIM8 (Extracto acuoso de ruezno)	2.0 %	99.0 A
	1.5 %	97.0 AB
TESTIGO (Agua destilada estéril)		0.00 F

DISCUSIÓN

Diferentes investigadores han ensayado determinados extractos acuosos o alcohólicos de raíces, tallos, hojas y flores, para determinar sus efectos nematicidas y dosis recomendadas (Sukul *et al.*, 2001). Ferris y Zheng (1999), han reportado efectividad de extractos acuosos de distintas plantas sobre juveniles de *Meloidogyne* spp.

McKenry (2003), reporta una mortalidad del 100% en juveniles del segundo estadio de *Meloidogyne incognita*, al evaluar la efectividad biológica de extractos de nogal bajo condiciones *in vitro*, por consiguiente, se considera importante ampliar estos bioensayos a nivel de invernadero y campo. En la presente investigación, realizada en invernadero, el extracto acuoso de ruezno (FIM8), en las dos concentraciones evaluadas, presentó el mejor efecto sobre los juveniles de *Meloidogyne incognita*.

De acuerdo a Marban y Thomason (1985), los nematicidas actúan inhibiendo la actividad neuromuscular del nematodo, reduciendo con ello la

capacidad de movimiento, evitando al mismo tiempo otros aspectos como la infección, eclosión y alimentación, aunque así inmóviles pueden soportar prolongados períodos de hambruna, con el tiempo los nematodos así afectados mueren al agotarse sus reservas o al ser fácil presa de sus enemigos naturales, afectando de esta manera la tasa de reproducción.

En cuanto a la concentración, la de 2.0%, fue con la que se obtuvo mejores resultados, se puede comprobar lo indicado por Khurma y Mangotra (2004), ya que la concentración de los extractos, influye significativamente en la mortalidad de los juveniles del segundo estadio de *Meloidogyne* spp.

Sería recomendable tratar de utilizar otras técnicas como la de microencapsulado y la de liberación lenta de los extractos para ampliar el período de contacto en las raíces de tomate, en los períodos de mayor vulnerabilidad de las plantas (González *et al.* 2007).

CONCLUSIONES

Los extractos obtenidos de los residuos de nogal pecanero como lo son el ruezno y la cáscara, son materiales ricos en fitomoléculas, siendo las principales: ácido mirístico (Nigg y Seigler 1992), ácido palmítico, ácido linoleico, ácido ascórbico, catequina (Duke, 1992), éstas fitomoléculas presentan varios efectos el más importante es el efecto nematocida que tienen para el control de plagas y otras enfermedades de la agricultura, por lo cual los extractos fueron evaluados con el fin de darles utilidad primeramente al aprovechar los residuos del nogal y dar un valor agregado generando un impacto económico, en los ingresos de los productores nogaleros de la zona norte del país, y segundo para el desarrollo de nuevas formulaciones para su aplicación, en cultivos de importancia agrícola a nivel

invernadero y/o campo; y es de gran relevancia mencionar, que se pueden sustituir los químicos sintéticos por productos orgánicos elaborados con extractos derivados de los residuos de nogal pecanero.

LITERATURA CITADA:

Abo, E., Kamal, A., Zakaullah, K., Magd. El Morsi Award, and Montaser Fawzy Abdel-Moneim 2010. Evaluation of plant extracts and *Pseudomonas* spp. for control of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato. *Nematropica*. 40:289-299.

Abou-Jawdah, Y. H., Sobh A Salameh. 2002. Antimicrobial activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. *J. Agric. Food Chem.* 50:3208-3213.

Akhtar, M., Malik, A. 2000. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. *Bioresource Technology* 74:35-47.

Bautista, S. L., Barrera, N. L., Bravo, L. K., Bermúdez, T. 2002. Antifungal activity of leaf and stem extracts from various plant species on the incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* of papaya and mango fruits after storage. *Rev. Mex. Fitopatol.* 20:8-12.

Bautista, S. E., García, D. L., Barrera N. R., Reyes C. L., Wilson. 2003. Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. *Postharv. Biol. Technol.* 29:81-92.

Brieskorn, C. H., Suss, H. P. 1974. Triterpenoids from the peels of pear and apple. Arch Pharm Weinheim Ger. 307:949-960.

Cepeda, S. M. 1995. Prácticas de Nematología Agrícola. Mexico: Ed. Trillas pp. 38-40.

Clark, A. M., Jurgens, T. M., Hufford, C. D. 1990. Antimicrobial activity of juglone. Phytother Res; 4: 11–14.

Duke, J. A. 1992. Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants. Boca Raton, FL. CRC Press. 680 pp.

Dupal, H. 2004. Actividad nematocida de las cepas cubanas de nematodos entomopatógenos *Heterorhabditis indica* y *Steinernema cubanum* y sus bacterias simbioses sobre el nematodo de agalla *Meloidogyne incognita*. Trabajo de Diploma. Biblioteca Universidad de Pinar del Río, Cuba. 46 p.

Ferris, H. and L. Zheng. 1999. Plant sources of Chinese herbal remedies: Effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. Journal of Nematology 31:241-263.

Fleitas, M., Mena, J., Noa, R., Guzman, M. 2004. Alternativa de sustitución del plaguicida químico BASAMID por el bioproducto “HEBERNEM” en el control de *Meloidogyne incognita* Chitwood.

González, H. M., D. M. I. Hernández., M. D. Dupeyrón, B. J. Rieumont, A. C. Rodríguez, E. Cuesta, y C. Sardiña. 2007. Síntesis y comportamiento de un material polimérico aplicado como recubrimiento en un fertilizante de liberación controlada. Rev. Iberoam. Polim. 8:275-286.

INFOAGRO, 2009. El cultivo del Tomate [En Línea]. Disponible en: <http://www.infoagro.com/hortalizas/tomate1.htm>.

Jacquet, M., Bongiovanni, M., Martinez, M., Verschave, P., Wajnberg, E., Castagnone, Sereno P. 2005. Variation in resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in tomato genotypes bearing the Mi gene. Plant Pathol; 54:93-99.

Khurma, U. R. and Mangotra A. 2004. Screening of some Leguminosae seeds for nematicidal activity. South Pacific Journal of Natural Science 22: 50-52.

Kristo, T. S., Terdy, P. P., Simandi, B., Szoke, E., Lemberkovics, E., Kery, A. 2001. Efficiency of supercritical fluid extraction for the production of non-volatile terpenoids from *Taraxaci radix*. Acta Pharm Hung; 71: 318-324.

Marban, N., Thomason J. I. 1985. Fitonematología Avanzada. I. Colegio Post. Graduados, Montecillos, México. 345 pp.

McKenry, M. V., Anwar, S.A. 2003. Nematicidal activity of walnut extracts against root-knot nematodes. J. Nematology. 35:358.

Mella, I. P. 2004. Evaluación de la resistencia a nematodos *Meloidogyne* spp. y *Pratylenchus* spp. en nuevos portainjertos para duraznero. Proyecto de título presentado como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Departamento de Fruticultura y Enología.

Nigg, H. N. and Seigler, D.S., eds. 1992. Phytochemical Resources for Medicine and Agriculture. Plenum Press, New York. 445 pp

Pakeeratham, K., Mikunthan G., Tharshani, N. 2009. Effect of different animal manures on *Meloidogyne incognita* (Kafoid and White) on tomato. World Journal of Agricultural Sciences. 5(4):432-435.

Raissouni, T. 2005. Estudio comparativo de la eficacia de varios tratamientos tópicos de la estomatitis aftosa recurrente. Universidad Autónoma de Granada, Facultad de Odontología, p. 1-46.

Sosa, M. E. and Tonn, C. E. 2008. Plant secondary metabolites from Argentinean semiarid lands: bioactivity against insects. Phytochemical Review 7: 3-24

Sukul, N. C., Sinhababu, S. P., Datta, S.C., Nandi B., Sukul, A. 2001. Nematotoxic effect of *Acacia auriculiformis* and *Artemisia nilagirica* against root-knot nematodes. Allelopathy Journal 8: 65-72.

Taylor, D. P., Netscher, C. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. *Nematologica* 20:268-269.

Taylor, L., Sasser, J. N. 1983. Biología, identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz. Proyecto Internacional de *Meloidogyne*. Publicación Cooperativa entre el Departamento de Fitopatología de la Universidad del Estado de Carolina del Norte y la agencia de EUA para el Desarrollo Internacional. Carolina del Norte. P.75.

Vázquez, L. A., Pérez, F. L., y Díaz, S. R. 2007. Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 5 (4) 306-313.

Williamson, V. M., Hussey, R. S. 1996. Nematode pathogenesis and resistance in plants. *Plant Cell.*; 8:1735-1745.

CONCLUSIONES

Se identificó al nematodo agallador *Meloidogyne incognita* en tubérculos de papa procedentes de Navidad Municipio de Galeana, Nuevo León.

El extracto FIM8 (Ruezno acuoso) evaluado bajo condiciones *in vitro*, presentó el mejor efecto nematocida en comparación con los demás extractos evaluados.

Bajo condiciones de invernadero, el extracto FIM8 obtuvo los mejores resultados de mortalidad de J₂ de *M. incognita*.

REFERENCIAS

- Abad, P., Favery, B., Rosso, M., y Castagnone, S. 2003. Root-Knot nematode parasitism and host response: molecular basis of sophisticated interaction. *Molecular Plant Pathology*.4 (4), 217-224.
- Abad, P., Castagnone, S. P., Rosso, M. N., Engler, J. A., Favery, B. 2009. Invasion, Feeding and Development. In: Moens M, RN Perry, JL Starr (Eds). *Root-knot Nematodes*. CAB International. p. 163-164.
- Aballay, E. 2005. Uso de plantas antagónicas para el control de nematodos fitoparásitos en vides. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago, Chile. http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_agronomicas/montealegre_j/19.html
- Aballay, E. e Insunza, V. 2002. Evaluación de plantas con propiedades nematocidas en el control de *Xiphinema index* en vid de mesa var. Thompson seedless en la zona central de Chile. *Agricultura Técnica (Chile)* 62 (3): 357-365.
- Adegbite, A. A. y Adesiyan, S. O. 2005. Root extracts of plants to control root-knot nematode on edible soybean. *World Journal of Agricultural Sciences*. 1(1):18-21.
- Aguilera, C. A., Augur, C., Prado, B. L., Favela, T. E., Aguilar, C. N. 2008, Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitanins. *Appl Microbiol Biotechnol* 78:189-199.
- Agrios, G. N. 1996. *Fitopatología*. 2ª ed. México, D.F, Limusa. 756 p.
- Andres, M. 2003. Nematodos parásitos de plantas en suelos agrícolas. *Phytoma España* (149): 33-42. <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=631474>.
- Arauz, L. 1998. *Fitopatología: Un Enfoque Agroecológico*. San José, Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica. 476 p.
- Barres, M. T., Bello, A., Jordá, C., y Tello J. 2006. La eliminación del bromuro de metilo en la protección de cultivos como modelo mundial para la conservación del medio ambiente. Univ. Almería, MAPA, Madrid, 515 pp.
- Barria, H. 1997. Efecto de nueve concentraciones de inóculo de *Meloidogyne hapla* Chitwood, en el desarrollo de trébol blanco (*Trifolium repens* L.) y trébol rosado (*Trifolium pratense* L.), bajo condiciones de invernadero. Tesis Lic. Agr.Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 97 p.

- Bello, A., Escuer, M., Pastrana, M. A. 1994. Los nematodos fitoparásitos y su control en ambientes mediterráneos. *Patología vegetal* II:1039-10100. Bourdy, G., Cabalion, P., Walter, A., Djian, C. 1995. Plantes magiques, plantes protectrices, quelques techniques d'horticulture traditionnelle a Vanuatu. *J. Agri. Trop. Et. Bot. Appl.* 37: 51-78.
- Bridge, I. y Williams, T. D. 2002. Plant Parasitic Nematodos. In: Waller, M; Lenne, I.M. y Waller, S.I. (eds). *Plant Pathologist's Pocket book*. Londres, CAB Internacional. pp: 140-162.
- Castillo, J. 2004. Determinación de metabolitos secundarios en plantas silvestres del parque nacional Terepaima, Municipio Palavecino, Estado Lara, Venezuela. Tesis Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, Venezuela. 103 p.
- Castro, L. I. 2010. Biodesinfección de suelos en relación con la diversidad en hortalizas y platanera. Tesis doctoral. Universidad de Almería. Madrid.
- Cepeda, S. M. 1996. *Nematología Agrícola*. Mexico: Ed. Trillas p. 132-133.
- Cepeda, S. M. y Gallegos M. G. 2003. La Papa: El Fruto de la Tierra. Ed. Trillas. p. 137-139
- Chitwood, D. J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review Phytopathology*. 40: 221-249.
- Christie, J. 1974. Nematodos de los vegetales su ecología y control. Departamento de entomología. Estación Experimental Agrícola Universidad de Florida. México D.F, LIMUSA. 275 p.
- Cid del Prado, I., Tovar, S.A. y Alfonsina, H. J. 2001. Distribución de especies y razas de *Meloidogyne* en Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19: 32-39.
- Comité Mexicano del Sistema Productor de Nuez, A.C., 2012, COMENUEZ en línea, Disponible en: <http://www.comenuetz.org/xoo/modules/tinycontent/index.php?id=77>.
- CONABIO 1998. La diversidad biológica de México. "Estudio de país". Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx>. (20 de Abril de 2006).
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 10: 564-582.
- Curtis, M. C., Robinson, A. F. and Perry, R. N. 2009. Chapter 6: Hatch and Host location. In *Root- Knot Nematodes* (Eds. Perry, R.N., Moens, M. and Starr J.L.). CABI, U.K., pp. 139-163.
- D'Arc de Lima, Rosángela; S. Ferraz. 1985. Biología de *Meloidogyne exigua*. II. Desenvolvimento pos-embriogénico em cafeeiro" *Mundo Novo*". *Rev. CERES* 32 (183):349-361.

- Desaeger, J. R., M. R., Bridge, J. 2004. Nematodes and others soilborne pathogens in agroforestry. In M. van Noordwijk, G. Cadisch and C.K.Ong, (Eds) *Below-Ground interactions in Tropical Agroecosystems: Concepts and models with multiple plant Components*, CABI, Wallingford, pp. 263-283.
- Eisenback, J. D., H. Hirschmann, J. N. Sasser, and A. C. Triantaphyllou. 1983. A guide to the four most common species of rootknot nematodes *Meloidogyne* species. Cooperative Publication, Department of Plant Pathology, North Caroline State University, and U.S. Agency for International Development, Raleigh, N.C.
- Eisenback, J.D. 1985. Detailed morphology and anatomy of second-stage juveniles, males, and females of the genus *Meloidogyne* (root-knot nematodes). pp 47-77 En *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol. I: Biology and Control. K.R.Barker; C.C. Carter; J.N.Sasser (Eds). Dept. Plant Pathology and United State Agency for International Development. North Carolina State University.
- Escobar, C., De Meutter, J., Aristízabal, F., Sanz-Alférez, S., Del Campo, F.F., Barthels, N., Van Der Eycken, W., Seurinck, J., montagu, M., Gheysen, G., Fenoll, C. 1999. Isolation of LEMMI9 gene and promoter analysis during a compatible plant nematode interactions. *Molecular plant microbe interactions* 12(5): 440-449.
- Fernández, C y R. Juncosa. 2002. Biopesticidas ¿la agricultura del futuro?. *Rev. Phytoma* 141:14-19.
- FIDEICOMISOS INSTITUIDOS EN RELACIÓN A LA AGRICULTURA (FIRA). 2002. «Nuez, Análisis de su rentabilidad», Estudio de Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria (ACERCA). Arturo Puente González-Consultor.
- FIDEICOMISOS INSTITUIDOS EN RELACIÓN A LA AGRICULTURA (FIRA). 2005. «Diagnóstico de la Red Nuez en el Estado de Chihuahua», Residencia Estatal Chihuahua, México.
- Gallegos, M. G, Cepeda S. M. y Olayo, P. R. P. 2003. *Entomopatógenos*. Ed. Trillas, México. 9-10 p.
- Greco, N. and Di Vito, M. 2009. Population dynamics and damage levels. In *Root-Knot Nematodes* (Eds. Perry, R.N., Moens, M. and Starr J.L.). CABI, U.K., pp. 46-69.
- Hagerman, A. E., Rice, M. E., Ritchard, N. T., 1998. Mechanism of protein precipitation of two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin 16(4-8) catechin (procyanin). *J. Agric. Food Chem.* 46, 2590-2595.
- Haslam, E., 1974. Polyphenol-protein interactions. *Biochem. J.* 139, 285-288.

- Herreros, E., Escobar, C., Muñoz-Martin, M., Mullineaux, P., Fernández-Lobato, M., Fenoll, C. 2001. Inducción de promotores virales en plantas transgénicas infectadas por nematodos fitopatógenos. VI Reunión de Biología Molecular de Plantas. Toledo. España: 156 p.
- Hernández, H. G., Johansen, R., Gazca, L., Equihua, A., Salinas, A., Estrada, E., Duran, F. & Yalle, A. 2000. "Plagas del aguacate". In: Teliz, D. (Ed.) El aguacate y su manejo integrado. México: Ed. Mundi-Prensa. 117-136 p.
- Hong, C. Y., Wang, C. P., Huang, S. S., Hsu, F. L. 1995 Journal of Pharmacy and Pharmacology. 47(138-142).
- Hussey, R.S. y Janssen, G. 2002. Root-knot Nematodes: *Meloidogyne* species. In: Starr, J.L; Cook, R. y Bridge, J. (eds). Plant resistance to Parasitic Nematodes. USA. CAB Internacional. pp: 43-70.
- Kaşkavalaci, G. and Civelek, H. S. 2009. Effects of two plants extracts on the damage of *Meloidogyne incognita* in tomato plants. Ekoloji 18: 16-22.
- Khanbabae, K. and van Ree T. Tannins 2001, classification and definition. Nat Prod. Rep. (18) 641-649.
- Liñán, C., 2009. Vademecum de productos fitosanitarios y nutricionales. 25ª Edición. Ed. Agrotécnicas, 784 pp.
- López, 1989. La Nuez Pecanera, Banco Agropecuario del Norte, BANAGRO.
- Luna, L. F. 1990. El Nogal Producción de fruto y de madera. 2ª edición. España. Ediciones Mundi-prensa. 155 p .
- Lyons, J. M., Keith, A. D. and Thomas, I. J. 1975. Temperature-induced phase transitions in nematode lipids and their influence on respiration. Journal of Nematology 7: 98-104.
- Maggenti, A. R., M. W. Allen. (1960): The origin of the gelatinous matrix in *Meloidogyne*. Proc. Helminthol. Soc. 27(1): 4-10.
- Magunacelaya, J. y Dagnino, E. 1999. Nematología agrícola en Chile. Serie Ciencias Agronómicas N°2. Santiago. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Sanidad Vegetal. 282 p.
- Mai, W.F. 1985. Plant-parasitic nematodes; their threat to agriculture. In: Sasser, J.N. y Carter, C.C. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Vol. I. Biology and Control. Raleigh, USA. North Carolina State. pp.11 - 18 .
- MBTOC, 2007. Report of the methyl bromide technical options committee. 2006 assessment. 2006 MBTOC Assessment Report. UNEP, Nairobi, Kenia. 468 pp.
- McKenry, M. V., Anwar, S.A. 2003. Nematicidal activity of walnut extracts against root-knot nematodes. J. Nematology. 35:358.

- Mella Isabel Paula. 2004. Evaluación de la resistencia a nematodos *Meloidogyne* spp. y *Pratylenchus* spp. en nuevos portainjertos para duraznero. Proyecto de título presentado como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Pontificia Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Departamento de Fruticultura y Enología.
- Mende, V. N. 1997. Invasion and migration behavior of sedentary nematodes. En Cellular and Molecular Aspects of Plant- Nematode Interactions. C. Fenoll; F. M. W. Grundler; S. A. Ohl (Eds.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Boston, London. p. 51-64.
- Méndez, S. M. 2010. Obtención de extractos de plantas del semidesierto mexicano y su efecto contra bacterias patógenas de alimentos. Tesis licenciatura. Universidad Autónoma de Coahuila. Facultad de ciencias Químicas. p. 67-70
- Moens, M., Perry, R. N. and Starr, J. L. 2009. *Meloidogyne* species a Diverse Group of Novel and Important plant parasites. In: Root-Knot Nematodes (Eds. Perry, R.N., Moens, M. and Starr, J.L.). CABI, U.K., p. 8-9.
- Montealegre, J. 2005. Control biológico e integrado de enfermedades y nematodos en frutales y hortalizas. (On line) Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile : http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositoriobciencias_agronomicas/montealegre_j/editorial.html.
- Montes, B., R. 2000. Nematología vegetal en México, Investigación documental. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Segunda edición. 98 pp.
- Mora, J. 2004. Guía de ingredientes activos de bioplaguicidas: extractos botánicos (On line). <<http://www.bioplaguicidas.org/Bioplaguicidas04/Documentos/Libros%20BNOQ/guia%20ingredientes%20enero%202004.pdf>>.
- Morend, L. 1999. Las Hierbas Medicinales. Chile Agrícola. 24 (238): 130-132.
- Moreno, Sifuentes, B. 2012. Obtención y caracterización de extractos bioactivos del nogal pecanero *Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch. por tecnologías emergentes Tesis licenciatura. Universidad Autónoma de Coahuila. Facultad de Ciencias Químicas. p. 45-58.
- Mueller, H. I., McAllan, A. B. 1992. Tannins: their biochemistry and nutritional properties. Adv. Plant Cell Biochem. Biotechnol. 1: 151-217.
- Natarajan, N., Cork, A., Boomathi, R., Pandi, R., Velevar, S. and Dhakshnamoorthiy, G. 2006. Cold aqueous extracts of african marigold, *Tagetes erecta* for control tomato root knot nematode *Meloidogyne incognita*. Crop Protection. 25: 1210-1213.
- Netscher, C. and R. A. Sikora. 1990. Nematode parasites of vegetables. In : Plant parasitic nematode in subtropical and tropical agriculture. (Eds. M. Luc, R. A. Sikora and J. bridge), CAB International, Wallingford, Oxon, UK p.237-283.

- Ojeda, D. L., A. Reyes, H. Ramírez, A. Lagarda, F. J. Chávez, J. X. Uvalle, R. M. Rivero y L. Romero. 2003. Uso eficiente de la fertilización nitrogenada en el cultivo del nogal pecanero. *Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch. P. 165.
- Pamplona, R. J. D. 2006. Salud por las plantas medicinales. España. Safeliz, S. L. Colección Nuevo Estilo de Vida. p. 379
- Perry, N. R. 1996. Chemoreception in plant parasitic nematodes. *Annu. Rev. Phytopathology*. 34: 181-199.
- Perry, N. R., Moens, M. 2006. *Plant Nematology*. 1ra ed. CABI, UK. 2006.
- Pino, M. V., 2010. Efectos de extractos en la reducción poblacional de *Meloidogyne* spp; *Rotylenchus reniformis* y *Pratylenchus* spp; en tomate. Tesis de nivel licenciatura. Universidad Técnica de Babahoyo. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Babahoyo, Los Ríos, Ecuador.
- Ramos, P. L. 2012. Obtención de fitomoléculas bioactivas mediante procesos de fermentación fúngica utilizando como fuente de carbono residuos de nogal pecanero (*Carya Illinoensis*). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.p.45.
- Regnault, R. C., Philogene, B. y Vincent, C. 2004. Biopesticidas de origen vegetal. 1^{ra} ed., Editorial Mundi Prensa. Madrid, España. Pp. 202-203
- Reina, Y., Crozzoli, R. y Greco, N. 2002. Efecto nematicida del extracto acuoso de hojas de algodón de seda *Calotropis procera*, sobre diferentes especies de nematodos fitoparasíticos. *Fitopatología Venezolana*. 15: 44-49.
- Ritter, M. 1973: Cycles et developpement des *Meloidogyne*. *OEPP/EPPO Bull* (9):53-59.
- Rodríguez, R., Tabares, J. y Medina, J. 1997. Cultivo moderno del tomate. 2^a ed. Madrid, España. Mundi Prensa. 255 p.
- SAGARPA, 2007. Pliego de condiciones para el uso de la marca oficial México calidad suprema en nuez pecanera.. (Rev. 070307). PC-076-2007. Pág. 1-39.
- Sánchez, I. 2006. Determinación de la época óptima de la aplicación de Nema-cur y extracto de quillay, para el control de *Meloidogyne* spp. en cinco estados fenológicos de vid CV. Chardonnay. Tesis Ing. Agr., Santiago, Chile, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 63 p.
- Sanz, M. y Dueñas, R., 1973. Desinfección de suelos. *Hola divulgadores* 4-5 (73H).SEA, Ministerio de Agricultura. 24 pp.
- Sasser, J. y Carter, C. 1985. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Volume I: Biology and control. U.S.A. North Carolina State University. Department of Plant Pathology. 422 p.

- Sepúlveda, R. A. 2003. Efecto de la incorporación de material vegetal sobre la población de *Xiphinema index* en estacas enraizadas de vid (*Vitis vinífera* L. var. Thompson Seedless) en bolsas. Tesis Ing. Agr., Santiago, Chile, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. 55p.
- SERVICIO DE INFORMACIÓN AGROALIMENTARIA Y PESQUERA (SIAP). 2009. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola 2008. Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (SAGARPA). México.
- SERVICIO DE INFORMACIÓN AGROALIMENTARIA Y PESQUERA (SIAP). 2012. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola 2011. Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación (SAGARPA). México.
- Siddiqi, M. R. 2000. Tylenchida: Parasites of plants and insects. CAB International, UK. 833 p.
- Sijmons, P. C. 1993. Plant nematode interactions. *Plant molecular biology* 23: 917-931.
- Sikora, R. A. and E. Fernandez (2005). Nematode parasites of vegetables. In: Luc, M., Sikora, R. A. and Bridge, J. (Eds). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. 2nd edition, CABI publishing, pp.319-392.
- Southey, J. 1978. *Plant nematology*. 3^a ed. London, England. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. 440 p.
- Stiekema, W. J. y Col., 1997. Towards plantibody mediated resistance against nematodes. Cellular and molecular aspects of plant-nematode interactions. Kluwer Academic Publ., Dordrecht. Netherlands: 26-271.
- Stirling, G. R. y Stirling, A. M. 2003. The potencial of green manure crops for controlling root-knot nematode *Meloidogyne javanica*, on horticultural crops in a subtropical environment. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 43: 623-630.
- Strack, D. 1997. Phenolic metabolism., In: Dey, P.M., and Harbourne, Eds., *Plants Biochemistry*. Academic, San Diego, CA. p. 387-416.
- Swain, R. G. (1979) Tannins and Lignins in herbivores their interaction with secondary plant metabolites. Ed. G.A. Rosenthal and D.H. Jasen Academic, Press, New York.
- Tarango, H. 2004. Manejo del nogal pecanero con base en su fenología. Centro de Investigación Norte-Centro. Campo Experimental Delicias. Folleto Técnico No. 17. México, 35 p.

- Taylor, A. y Sasser, J. 1983. Biología, identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz. Raleigh, USA. Universidad del Estado de Carolina del Norte. 111 p.
- Triantaphyllou, A.C. 1985. Cytogenetics, cytotaxonomy and phylogeny of root-knot nematodes. pp. 113-133 En An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Vol. I: Biology and Control. K. R. Barker; C.C. Carter; J. N. Sasser (Eds.) Dept. Plant Pathology and United State Agency for International Development. North Carolina State University Graphics. 45 p.
- Triviño, G. C. 2004. Tecnología Biológica para el manejo del nematodo agallador de raíces *Meloidogyne* spp. en tomate. Boletín Técnico N° 109. Estación Experimental Boliche, Guayaquil, Ecuador. 15 p.
- Ventura, Sobrevilla, J. 2006. Biodegradación de taninos presentes en extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* Cov.) y Hojasen (*Fluorensia cernus* D. C.), mediante fermentación en estado sólido usando *Aspergillus niger* PSH. Tesis licenciatura. Universidad Autónoma de Coahuila. 34-43.
- Whitehead, A. G. 1968. Taxonomy of *Meloidogyne* (Nematoda: Heteroderidae) with descriptions of four new species. Trans. Zool. Soc. London 31: 263-401.
- Whitehead, A. G. 1998. Sedentary endoparasites of Roots and Tubers (II. *Meloidogyne* and *Nacobbus*). En Plant Nematode Control. CAB International. Wallingford, UK. p. 209-260.
- Wuyts, N. 2006. Interacciones entre los nematods fitoparásitos y el metabolismo secundario de plantas, con énfasis en los fenilpropanoides en las raíces. Tesis de Doctorado (PhD) Facultad de Bioingeniería, Katholieke Universiteit Leuven, Bélgica. Infomusa 15: 43-44.