



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO
POSTGRADO DE FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA

***NACOBBUS ABERRANS* EN CULTIVOS HORTÍCOLAS DEL CENTRO
DEL BAJÍO, MÉXICO: DISTRIBUCIÓN, ABUNDANCIA Y
CARACTERIZACIÓN MOLECULAR.**

ANSELMO DE JESÚS CABRERA HIDALGO

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2014

La presente tesis titulada: ***Nacobbus aberrans* en cultivos hortícolas del centro del Bajío, México: Distribución, abundancia y caracterización molecular** realizada por el alumno: **Anselmo de Jesús Cabrera Hidalgo** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce

ASESOR

Dr. Gustavo Mora Aguilera

ASESOR

Dr. Ángel Rebollar Alviter

ASESOR

Dr. Nahum Marbán Mendoza

ASESOR

Dra. Ernestina Valadez Moctezuma

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Febrero de 2014.

NACOBBUS ABERRANS EN CULTIVOS HORTÍCOLAS DEL CENTRO DEL BAJÍO, MÉXICO: DISTRIBUCIÓN, ABUNDANCIA Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

Anselmo de Jesús Cabrera Hidalgo, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2014

RESUMEN

Nacobbus aberrans es un fitoparásito con una alta capacidad reproductiva y amplia gama de hospedantes, lo que lo convierte en un patógeno importante y de difícil manejo. Presenta una gran variabilidad morfológica y patogénica, y se distribuye ampliamente en las regiones tropicales y templadas del continente Americano, parasitando a más de 84 especies cultivadas y no cultivadas pertenecientes a 18 familias botánicas. Los objetivos de esta investigación fueron analizar su distribución y abundancia en la región central del Bajío mexicano, y su asociación con las características fisicoquímicas del suelo. Adicionalmente, se evaluó su variabilidad genética y el efecto del fluensulfone sobre su movilidad en condiciones *in vitro* y en invernadero.

El nematodo se encontró en seis municipios de la región central del Bajío asociado a los cultivos de calabacita, pepino, chile, tomate y jitomate induciendo agallamientos del 10 al 100%. Los sitios favorables para su distribución presentaron contenido bajo a medio de materia orgánica, proporción de limo del 20-54% y 18-62% de arena, y pH neutro a medianamente alcalino. Las zonas hortícolas evaluadas presentaron diferentes grados de riesgo para la ocurrencia de *N. aberrans*. La identificación molecular de las poblaciones recolectadas en la región central del Bajío corroboró que dichas poblaciones corresponden a *N. aberrans*. Los perfiles polimórficos obtenidos después de digerir el fragmento 18S del DNA ribosomal, muestran ligeras diferencias, principalmente con *HaeIII*. Las características geográficas, ambientales y de la planta hospedante no diferenciaron genéticamente las poblaciones de *N. aberrans*, ya que todas fueron congregadas en un mismo grupo al analizar las secuencias del gen 18S. Bajo las condiciones evaluadas, el fluensulfone presentó actividad nematicida irreversible sobre juveniles de *N. aberrans*. La densidad poblacional final, el número de juveniles y el agallamiento en las plantas de jitomate y pepino se redujeron significativamente al tratarlas con fluensulfone y dicloropropeno + cloropicrina.

Palabras clave: *N. aberrans*, distribución espacial, fluensulfone, PCR-RFLPs, caracterización molecular.

**NACOBBUS ABERRANS IN HORTICULTURAL CROPS IN CENTRAL BAJIO,
MEXICO: DISTRIBUTION, ABUNDANCE AND MOLECULAR
CHARACTERIZATION**

Anselmo de Jesús Cabrera Hidalgo, Dr.
Colegio de Postgraduados, 2014

ABSTRACT

Nacobbus aberrans is a phytopathogen organism with a high reproductive capacity and a wide host range that make it an important and difficult pathogen to manage. The nematode has a great morphological and pathogenic variability, and is widely distributed in the tropical and temperate regions of the American Continent, parasitizing more than 84 cultivated and non-cultivated species belonging to 18 botanical families. The objectives of this research were to analyze their distribution and abundance in the central Bajío region of Mexico, and its association with the physicochemical characteristics of the soil. *N. aberrans* genetic variability and the fluensulfone effects on its behavior under *in vitro* and greenhouse conditions were evaluated as well.

The nematode was found in six counties of the central Bajío region associated with zucchini, cucumber, pepper, tomato and “tomatillo”, inducing a root galling ranging from 10-100%.

The most favorable conditions for *N. aberrans* occurrence were those with a low to medium organic matter content, a 20-54% of lime, 18-62% of sand, and a neutral to moderately alkaline pH. Horticultural areas showed different degrees of risk for the occurrence of *N. aberrans*. The molecular identification of the 12 populations collected in the central Bajío region confirmed that this nematode is *N. aberrans*. Polymorphic patterns obtained after the digestion process of the 18S-DNA fragment showed slight differences, mainly with *HaeIII*. Geographical, environmental and host plant characteristics do not genetically differentiate among the *N. aberrans* populations, since all were clustered in the same group after analyzing the sequences of the 18S gene. Under the tested conditions, fluensulfone presented irreversible nematicidal activity on juveniles of *N. aberrans*. The final population density, the number of juveniles and root galling in tomato and cucumber were significantly reduced when treated with dichloropropene + chloropicrin and fluensulfone.

Keywords: *N. aberrans*, spatial distribution, fluensulfone, PCR-RFLPs, molecular characterization.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por ser una institución comprometida con la formación de recursos humanos con altos estándares de calidad y el apoyo económico brindado...

Al Colegio de Postgraduados, en especial al posgrado en fitopatología por las facilidades otorgadas para culminar mis estudios...

Al Comité de Sanidad Vegetal del estado de Guanajuato, en especial a los ingenieros Juan Pablo Robles, Juan Damián García y Transito Sánchez por sus sabios consejos y valiosa ayuda en el desarrollo de la fase de campo de este trabajo...

A Dios por enseñarme el camino de la sabiduría y la felicidad, por darme la confianza de creer que lo lograría y que los retos se pueden superar. Te agradezco por todas las enseñanzas durante este proceso...

A la Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce. Por estar al frente de mi formación con su valiosa paciencia, acertada orientación y correcciones durante la redacción de la tesis. En especial por la coordinación y dirección de este trabajo...

A los Drs. Ángel Rebollar Alviter y Gustavo Mora Aguilera. Por sus valiosos comentarios y sugerencias, así como sus discusiones críticas que permitieron un mejor aprovechamiento del trabajo realizado...

Al Dr. Nahum Marbán Mendoza. Por su "paternalismo" símbolo de amistad y reciprocidad y sabiendo que jamás encontraré la forma de agradecer su constante apoyo y confianza, sólo espero que comprenda que mis ideales, esfuerzos y logros han sido también suyos e inspirados en usted...

A la Dra. Ernestina Valadez Moctezuma. Por sus sabios consejos y aportes científicos en el desarrollo de este trabajo. Pero en especial por ser una persona atenta, amable y un excelente ser humano. Nunca cambie...

A mi madre que es el ser más maravilloso de todo el mundo. Gracias por el apoyo moral, tu cariño y comprensión que desde niño me has brindado, por guiar mi camino y estar junto a mí en los momentos más difíciles. Te quiero mucho viejita...

A mi padre porque desde pequeño ha sido para mí un gran hombre extraordinario al que siempre he admirado.

Y a todos aquellos que de alguna u otra forma contribuyeron en la realización de este trabajo...

MI INFINITO AGRADECIMIENTO

DEDICATORIAS

EL PRESENTE DOCUMENTO ESTÁ DEDICADO A:

Guadalupe Hidalgo Aguilar y Jesús Cabrera Zuñiga, dos seres únicos y muy especiales, pues con sus esfuerzos y sacrificios me enseñaron que lo único que impide que llegues a dónde quieres estar, ERES TÚ. Y que la gratitud no solo es la mayor de las virtudes, sino la madre de todas.

A Mireya Toledo y Elvia Guerrero... Dos mujeres ejemplares, dignas de todo respeto y admiración. Ejemplos de vida y lucha constante. Gracias por su cariño, que es enteramente correspondido.

CON ESPECIAL DEDICACIÓN A:

FLORE DE MARÍA GUERRERO TOLEDO, Una mujer extraordinaria por su personalidad y por todo el amor que sientes y expresas. Eres extraordinaria porque te riges bajo principios y los aplicas cada instante de tu vida, y eres un ejemplo para otras mujeres.

Inspiras a los demás a ser mejores, sabes decir que NO cuando no quieres, sabes perfectamente lo que quieres y no desvarías. Aceptas la vida a tu alrededor y tienes la capacidad de transformarla a través de tu magia y misterio.

Eliges tu propia vida, sin apegos, ni ataduras, sin dudas, ni dramas. Eres una mujer extraordinaria porque tienes la certeza de que no dependes de nadie, más que de ti misma... Porque has conquistado el verdadero amor.

Gracias por estar conmigo en las malas y en las peores, pero siempre con la frente en alto, TE AMO MUSHU, ¿por qué? Porque eres una MUJER EXTRAORDINARIA.

A MIS HERMANOS (Elizabeth, Bianca, Sujeydi y Eyvi) Y FAMILIARES, cada logro es por ustedes. Ahora nos vemos con más años, me parece que me falta vida, para dar gracias porque ustedes son el mejor regalo que me ha dado la vida.

A Alfredo Garza García, al maestro Marcelo, Cristian y Martín, los verdaderos amigos se cuentan con la palma de la mano, y en la adversidad y carencias se forjan las verdaderas amistades. Gracias mis queridos amigos... Siempre los llevaré en mis pensamientos.

A mi mejor amigo, EYVI, te amo hermano...

Con mi más profunda admiración y respeto...

Anselmo de Jesús Cabrera Hidalgo

CONTENIDO GENERAL

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
CONTENIDO GENERAL	V
ÍNDICE DE CUADROS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	X
CAPÍTULO I MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. REVISIÓN DE LITERATURA	2
1.2.1. <i>Importancia agrícola y económica</i>	2
1.2.2. <i>Distribución geográfica y agregación</i>	4
1.2.3. <i>Factores edafoclimáticos que influyen en el comportamiento y desarrollo de N. aberrans.</i>	5
1.2.4. <i>Especies dentro del género Nacobbus y características morfométricas.</i>	8
1.2.5. <i>Variación bioquímica y molecular</i>	11
1.2.6. <i>Manejo</i>	15
1.3. LITERATURA CITADA	26
CAPÍTULO II DISTRIBUCIÓN Y ABUNDANCIA DE NACOBBUS ABERRANS EN GUANAJUATO Y MICHOACÁN, MÉXICO.	37
RESUMEN	37
ABSTRACT	38
2.1. INTRODUCCIÓN	39
2.2. HIPÓTESIS.....	41
2.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
2.3.1. <i>Localización del área de estudio.</i>	41
2.3.2. <i>Muestreo.</i>	41
2.3.3. <i>Extracción de nematodos.</i>	44
2.3.4. <i>Características fisicoquímicas del suelo.</i>	45
2.3.5. <i>Análisis estadístico</i>	45
2.3.5.1. <i>Análisis de componentes principales.</i>	45
2.3.5.2. <i>Análisis de conglomerados.</i>	47
2.3.5.3. <i>Determinación del índice multivariado.</i>	47
2.4. RESULTADOS.....	48
2.4.1. <i>Estado de Guanajuato.</i>	48
2.4.1.1. <i>Muestreo y características fisicoquímicas del suelo</i>	48
2.4.1.2. <i>Presencia de N. aberrans.</i>	51
2.4.1.3. <i>Características del nematodo.</i>	52
2.4.1.4. <i>N. aberrans y su asociación con las características fisicoquímicas del suelo.</i>	54
2.4.1.5. <i>Clasificación de los sitios de muestreo.</i>	55
2.4.1.6. <i>Mapas interpolativos de potencial ocurrencia de N. aberrans.</i>	57

2.4.2. Estado de Michoacán.....	60
2.4.2.1. Muestreo y características fisicoquímicas del suelo.....	60
2.4.2.2. Presencia de <i>N. aberrans</i>	63
2.4.2.3. Características del nematodo.....	64
2.4.2.4. <i>N. aberrans</i> y su asociación con las características fisicoquímicas del suelo.	66
2.4.2.5. Clasificación de los sitios de muestreo.....	66
2.4.2.6. Mapas interpolativos del potencial de ocurrencia de <i>N. aberrans</i>	69
2.5. DISCUSIÓN.....	73
2.6. CONCLUSIONES.....	79
2.7. LITERATURA CITADA.....	80
CAPÍTULO III ESTRUCTURA GENÉTICA DE POBLACIONES DE <i>NACOBBUS ABERRANS</i> DEL CENTRO DEL BAJÍO, MÉXICO.....	85
RESUMEN.....	85
ABSTRACT.....	86
3.1. INTRODUCCIÓN.....	87
3.2. HIPÓTESIS.....	89
3.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	89
3.3.1. Muestreo.....	89
3.3.2. Incremento y purificación de las poblaciones de <i>Nacobbus aberrans</i>	90
3.3.3. Extracción y cuantificación de DNA.....	90
3.3.4. Amplificación de fragmentos.....	92
3.3.5. Análisis de PCR-RFLPs.....	92
3.3.6. Secuenciación de los fragmentos 18S del DNAr y COI de la mitocondria.....	93
3.3.7. Análisis de los genes 18S y COI.....	94
3.3.7.1. Elaboración de los árboles filogenéticos.....	95
3.4. RESULTADOS.....	96
3.4.1. Amplificación de fragmentos.....	96
3.4.2. Análisis PCR-RFLPs.....	99
3.4.3. Análisis de los genes 18S y COI.....	102
3.4.3.1. Análisis filogenético.....	103
3.4.3.2. Frecuencia de nucleótidos.....	104
3.5. DISCUSIÓN.....	106
3.6. CONCLUSIONES.....	110
3.7. LITERATURA CITADA.....	111
ANEXOS.....	115
CAPÍTULO IV FLUENSULFONE, UNA NUEVA ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE <i>NACOBBUS ABERRANS</i> EN CULTIVOS HORTÍCOLAS.....	119
RESUMEN.....	119
ABSTRACT.....	120
4.1. INTRODUCCIÓN.....	121
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	122

4.2.1. Material biológico y extracción de <i>N. aberrans</i>	122
4.2.2. Productos químicos.....	123
4.2.3. Determinación <i>in vitro</i> de la actividad del fluensulfone	124
4.2.3.1. Variable evaluada.....	124
4.2.3.2. Análisis estadístico.....	124
4.2.4. Comparación de la actividad del fluensulfone, dicloropropeno- cloropicrina y oxamil en condiciones de invernadero	125
4.2.4.1. Incremento de inóculo de <i>N. aberrans</i>	125
4.2.4.2. Dosis y especificaciones de la aplicación de los nematicidas	126
4.2.4.3. Variables evaluadas	127
4.2.4.4. Análisis estadístico	130
4.3. RESULTADOS.....	130
4.3.1. Determinación <i>in vitro</i> de la actividad del fluensulfone (FSF)	130
4.3.2. Comparación de la actividad del fluensulfone, dicloropropeno- cloropicrina y oxamil en condiciones de invernadero	132
4.3.2.1. Densidad población inicial y final	132
4.3.2.2. Tasa de reproducción.....	135
4.3.2.3. Número de juveniles (J2) en raíces agalladas	135
4.3.2.4. Número de agallas por planta.....	137
4.3.2.5. Índice de agallamiento.....	138
4.3.2.6. Altura, y peso fresco de follaje y raíz de plantas de jitomate.....	139
4.3.2.7. Longitud de la guía principal, y peso fresco de follaje y raíz de plantas de pepino	141
4.3.2.8. Producción (g)	143
4.4. DISCUSIÓN	143
4.5. CONCLUSIONES.....	148
4.6. CONSIDERACIÓN	149
4.7. LITERATURA CITADA	149

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.1. Características morfométricas de hembras y machos de <i>N. aberrans</i> y <i>N. dorsalis</i> de Europa, Norte y Sur América (Sher, 1970; Manzanilla-López <i>et al.</i> , 2002; Reid <i>et al.</i> , 2003).....	11
Cuadro 2.1. Municipios y número de muestras recolectadas en el estado de Guanajuato (Año agrícola otoño-invierno+primavera-verano 2010. Riego+Temporal).	42
Cuadro 2.2. Factores de ponderación y número de muestras recolectadas en el estado de Michoacán en el ciclo agrícola 2011.	44
Cuadro 2.3. Localización geográfica y características fisicoquímicas de 41 parcelas agrícolas distribuidas en 14 municipios del estado de Guanajuato, México 2010.....	49
Cuadro 2.4. Densidad poblacional de <i>N. aberrans</i> y porcentaje de agallamiento en raíces de jitomate, chile, zanahoria y tomate. Guanajuato, México 2010.....	51
Cuadro 2.5. Coeficientes de correlación y niveles de significancia de nueve variables descriptivas estimadas de 41 parcelas agrícolas del estado de Guanajuato 2010.	55
Cuadro 2.6. Índice multivariado para la generación del mapa interpolativo del potencial de ocurrencia de <i>N. aberrans</i> en el estado de Guanajuato 2010.	58
Cuadro 2.7. Localización geográfica y características fisicoquímicas de 48 parcelas agrícolas distribuidas en 16 municipios del estado de Michoacán, México 2011.....	61
Cuadro 2.8. Densidad poblacional de <i>N. aberrans</i> y porcentaje de agallamiento en raíces de calabacita, jitomate y pepino. Michoacán, México 2011.....	63
Cuadro 2.9. Coeficientes de correlación y niveles de significancia de nueve variables descriptivas estimadas en 48 parcelas agrícolas del estado de Michoacán. 2011.	67
Cuadro 2.10. Índice multivariado para la generación del mapa interpolativo del potencial de ocurrencia de <i>N. aberrans</i> en el estado de Michoacán 2011.....	70
Cuadro 3.1. Sitios de muestreo de <i>Nacobbus aberrans</i> en la región central del Bajío, México 2010-2011.	89
Cuadro 3.2. Secuencias de los fragmentos 18S e ITS del DNA ribosomal registradas en el GenBank.....	95
Cuadro 3.3. Porcentajes de similitud de la secuencia del fragmento 18S del DNA ribosomal de poblaciones de <i>Nacobbus aberrans</i> recolectadas en la región central del Bajío. México.	98
Cuadro 3.4. Digestión del fragmento 18S del DNA ribosomal de 12 poblaciones de <i>Nacobbus aberrans</i> con cuatro enzimas de restricción.	99

Cuadro 3.5. Frecuencia de nucleótidos de las secuencias de la región 18S del DNA ribosomal de poblaciones de <i>N. aberrans</i> y <i>M. incognita</i>	105
Cuadro 4.1. Nematicidas evaluados para el control de <i>Nacobbus aberrans</i> en jitomate y pepino cultivados en condiciones de invernadero. Chapingo, México. 2011.....	126
Cuadro 4.2. Escala de severidad para evaluar el índice de agallamiento causado por <i>Nacobbus aberrans</i> en jitomate y pepino.	129
Cuadro 4.3. Efecto de nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (OX y FSF) sobre la tasa de reproducción de <i>Nacobbus aberrans</i> en jitomate y pepino. Chapingo, México. 2011.	135
Cuadro 4.4. Efecto de nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (OX y FSF) sobre la invasión de juveniles de <i>Nacobbus aberrans</i> en raíces de jitomate y pepino. Chapingo, México. 2011.	136
Cuadro 4.5. Número de agallas e índice de agallamiento inducido por <i>Nacobbus aberrans</i> en plantas de jitomate (cv. Río Grande) tratadas con nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (OX y FSF). Chapingo, México. 2011.	138
Cuadro 4.6. Número de agallas e índice de agallamiento inducido por <i>N. aberrans</i> en plantas de pepino cv. Turbo, tratadas con nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (OX y FSF). Chapingo, México. 2011.	139

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. <i>Nacobbus aberrans</i> . A) Región posterior de hembra inmadura; B) Región posterior de hembra madura; C) Hembras maduras; D) Macho; E) Región anterior del macho; F) Esófago del macho; G) Región posterior del macho; H) Región anterior de juvenil de segundo estadio (J2); I) Región posterior de J2 (Tomada y modificada de Manzanilla-López et al., 2002).....	9
Figura 2.1. Campo agrícola de zanahoria con presencia de <i>N. aberrans</i> (A). Sistema radical de zanahoria infectado con <i>N. aberrans</i> (B).....	52
Figura 2.2. <i>Nacobbus aberrans</i> . Juvenil de segundo estadio (J2) (A) (la flecha indica trasposición esófago-intestino); región anterior (B) y posterior (C) de J2; macho (D); detalle de la región anterior (E) y posterior (F) del macho; hembras maduras (G); agallamiento inducido por <i>N. aberrans</i> (H).....	53
Figura 2.3. Diagrama de dispersión de parcelas agrícolas muestreadas en el estado de Guanajuato. El componente principal 1 se correlaciona con la presencia de juveniles, y el componente 2 con el contenido de limo. Las figuras geométricas indican la etiqueta para la localidad muestreada y el agrupamiento en clusters. Cuadro negro= Grupo 1, triángulos grises= Grupo 2, círculos negros= Grupo 3 y rombos blancos= Grupo 4.	56
Figura 2.4. Mapa interpolativo del potencial de ocurrencia de <i>N. aberrans</i> en el estado de Guanajuato en función de la proporción de limo, pH del suelo y número de juveniles. 2010. Los recuadros a color indican el grado del potencial de ocurrencia de <i>N. aberrans</i> en el estado. 0-0.02 menor ocurrencia y 0.027-0.034 mayor ocurrencia.....	59
Figura 2.5. Campo agrícola de jitomate infestado con <i>N. aberrans</i> (A) y raíz de jitomate agallada por <i>N. aberrans</i> asociado con <i>Meloidogyne</i> spp (B).	64
Figura 2.6. <i>Nacobbus aberrans</i> . Juveniles de segundo estadio (J2): a la derecha J2 con desarrollo normal y a la izquierda J2 con aberración morfológica (flecha negra) (A); región anterior (B) y posterior (C) de J2 (la flecha indica aberración morfológica); hembras maduras (D); macho (E); agallamiento inducido por <i>N. aberrans</i> (F-G); masa de huevos (G) (flecha negra); hembra inmersa en tejido agallado (H).	65
Figura 2.7. Diagrama de dispersión de parcelas agrícolas muestreadas en el estado de Michoacán. El componente principal 1 está correlacionado con contenido de materia orgánica en el suelo (MO), y el componente principal 2 con el contenido de limo. La forma y el color de las figuras geométricas indican la etiqueta para la localidad muestreada y el	

agrupamiento en clusters. Triángulos grises= Grupo 1, cuadros negros= Grupo 2, círculos negros= Grupo 3, círculos blancos= Grupo 4 y rombos blancos= Grupo 5. 68

Figura 2.8. Mapa interpolativo del potencial de ocurrencia de *N. aberrans* en el estado de Michoacán en función de la proporción de limo y arena en el suelo, y del número de juveniles (2011). Los recuadros a color indican el grado del potencial de ocurrencia de *N. aberrans* en el estado 0-0.003 menor ocurrencia y 0.023-0.031 mayor ocurrencia. 72

Figura 3.1. Resultados de PCR de la región Citocromo Oxidasal del DNA mitocondrial de 12 poblaciones de *Nacobbus aberrans* recolectadas en la región central del Bajío, México. Michoacán: Tanhuato (87, 86, 85, 81, 52, 42), Yurécuaro (Yu) y Pajacuarán (Pa). Guanajuato: Romita (Ro), Santa Elena (SE), San José Iturbide (SJI) y Santo Domingo (SD). 96

Figura 3.2. Resultados de PCR de la región 18S del DNA ribosomal de 12 poblaciones de *Nacobbus aberrans* recolectadas en la región central del Bajío, México. A) Par de primers 1813F/2646R y B) Par de primers 988F/1912R. Michoacán: Tanhuato (87, 86, 85, 81, 52, 42), Yurécuaro (Yu) y Pajacuarán (Pa). Guanajuato: Romita (Ro), Santa Elena (SE), San José Iturbide (SJI) y Santo Domingo (SD). 96

Figura 3.3. Resultados de PCR de la región ITS del DNA ribosomal de 12 poblaciones de *Nacobbus aberrans* recolectadas en la región central del Bajío, México. Michoacán: Tanhuato (87, 86, 85, 81, 52, 42), Yurécuaro (Yu) y Pajacuarán (Pa). Guanajuato: Romita (Ro), Santa Elena (SE), San José Iturbide (SJI) y Santo Domingo (SD). 97

Figura 3.4. Análisis del polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción de la región 18S del DNA ribosomal de poblaciones de *N. aberrans*. Michoacán: Tanhuato (87, 86, 85, 81, 52, 42), Yurécuaro (Yu) y Pajacuarán (Pa). Guanajuato: Romita (Ro), Santa Elena (SE), San José Iturbide (SJI) y Santo Domingo (SD). Marcador molecular de 100pb Promega®. 100

Figura 3.5. Dendrograma generado a partir de la digestión del fragmento 18S del DNA ribosomal con *HaeIII*. Los números en cada rama representan los niveles de confiabilidad bootstrap. Barra= 10% de disimilaridad. Números en círculo= Grupo. 101

Figura 3.6. Dendrograma UPGMA obtenido a partir de la digestión del fragmento 18S del DNAr con tres enzimas de restricción. Los números en cada rama representan los niveles de confiabilidad bootstrap. Barra= 10% de disimilaridad. Números en círculo= Grupo. 102

Figura 3.7. Árbol filogenético por Máxima parsimonia obtenido del análisis del alineamiento de secuencias de la región 18S del DNA ribosomal de poblaciones de *N. aberrans* con

<i>Pratylenchus</i> y <i>Meloidogyne</i> . Los números en los nodos son los valores bootstrap (1000 repeticiones bootstrap). Barra=distancia genética.....	103
Figura 3.8. Árbol filogenético por Máxima parsimonia obtenido del análisis del alineamiento de secuencias de la región COI del DNA mitocondrial de poblaciones de <i>N. aberrans</i> . Los números en los nodos corresponden a los porcentajes de confiabilidad con base en 1000 repeticiones bootstrap. Barra=distancia genética.....	104
Figura 4.1. Distribución de tratamientos en la parcela experimental de jitomate y pepino. Chapingo, México. 2011. FSF= Fluensulfone (1 y 2 L·ha ⁻¹), OX= Oxamil (4 L·ha ⁻¹), DC+CP= Dicloropropeno + cloropicrina (300 L·ha ⁻¹) y C= Control.....	127
Figura 4.2. Efecto del fluensulfone sobre la movilidad de juveniles (J2) de <i>N. aberrans</i> a las 12 y 24 h de exposición en condiciones <i>in vitro</i> . Chapingo, México. 2011. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Para cada tratamiento, letras diferentes son estadísticamente diferentes ($\alpha=0.05$).....	131
Figura 4.3. Juveniles de <i>N. aberrans</i> a las 24 h de exposición en agua destilada (control) (A), fluensulfone (B) y oxamil (C).....	132
Figura 4.4. Efecto de nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (OX y FSF) sobre los niveles poblacionales de <i>N. aberrans</i> en jitomate. Chapingo, México. 2011. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Las letras en las barras representan el nivel de significancia ($\alpha=0.05$).....	133
Figura 4.5. Efecto de nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (OX y FSF) sobre los niveles poblacionales de <i>N. aberrans</i> en pepino. Chapingo, México. 2011. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Las letras en las barras representan el nivel de significancia ($\alpha=0.05$).....	134
Figura 4.6. Número de agallas por planta en jitomate y pepino a los 60 ddt. Chapingo, México. 2011. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Las letras en las barras representan el nivel de significancia ($\alpha=0.05$).	137
Figura 4.7. Altura de planta, peso fresco de follaje (PFF) y raíz (PFR), y producción (PRO) de frutos por planta de jitomate. Chapingo, México. 2011. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Las letras en las barras representan el nivel de significancia ($\alpha=0.05$).....	140
Figura 4.8. Longitud de guía principal, peso fresco de follaje (PFF) y raíz (PFR), y rendimiento de frutos (PRO) por planta de pepino a los 60 ddt. Chapingo, México. 2011. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Las letras en las barras representan el nivel de significancia ($\alpha=0.05$).	142

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE.

1.1. INTRODUCCIÓN

El género *Nacobbus* Thorne y Allen, 1944, contiene especies de nematodos endoparásitos sedentarios, endémicos de Norte y Suramérica. Las hembras maduras establecen un sitio permanente de alimentación en las raíces de sus hospedantes, induciendo la formación de agallas. Este género, reportado predominantemente en ambientes secos y semiáridos, y en altitudes altas (Manzanilla-López *et al.*, 2002), posee una alta capacidad reproductiva y una gama de hospedantes que incluye 84 especies cultivadas y no cultivadas pertenecientes a 18 familias botánicas, lo que lo convierte en un patógeno importante y de difícil manejo, debido a que bajo condiciones ambientales favorables una sola hembra puede producir de 37 a 833 huevecillos (Manzanilla-López, 1997; Franco *et al.*, 1999a; Manzanilla-López *et al.*, 2002).

En México, *N. aberrans* se ha encontrado en los estados de Coahuila, Distrito Federal, Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Morelos, Puebla, Oaxaca, San Luis Potosí, Tlaxcala y Zacatecas, asociado principalmente a los cultivos de chile (*Capsicum annum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (Brunner de Magar, 1967; Sosa y Muñoz, 1973; Cid del Prado, 1993; Toledo *et al.*, 1993; Montes, 2000, Cristóbal *et al.*, 2001; Manzanilla-López *et al.*, 2002), en donde causa daños importantes al reducir significativamente su producción.

El nivel de daño está en función de su densidad inicial en el suelo, de las condiciones edafoclimáticas, de la variedad del cultivo y del estrés de la planta inducido por sequía, inadecuada nutrición, o por el ataque de otros patógenos y plagas (Canto, 1987; Malcolm y Charles, 2000; Coyne *et al.*, 2007).

Bajo condiciones de invernadero, *N. aberrans* altera severamente el sistema radical de plantas de remolacha (*Beta vulgaris* L.), causando pérdidas del 27-75% en su peso (Inserra *et al.*, 1984; 1996). Pérdidas de rendimiento reportadas en cultivos de importancia alimenticia e industrial promedian un 65% en papa, en la región Andina

de América Latina, y 55 y 36% en jitomate y frijol en México, respectivamente (Manzanilla-López *et al.*, 2002). Santa Cruz y Marbán (1986), reportaron pérdidas en rendimiento en el cultivo de amaranto del 10-14%.

Debido a su importancia económica y amplia distribución en América y otros países del mundo, *N. aberrans* ha sido objeto de muchos estudios, incluyendo su biología (Clark, 1967; Prasad y Webster, 1967; Quimí, 1981a; Inserra *et al.*, 1983; Jatala y Haddad, 1993; Manzanilla-López *et al.*, 1996, 2002; Souza y Baldwin, 1998, 2000), gama de hospedantes (Cornejo-Quiroz, 1977a; Zamudio *et al.*, 1990; De la Jara *et al.*, 1990; Toledo *et al.*, 1993), distribución geográfica (Caveness, 1959; Yin y Feng, 1981; Robbins, 1982; Cid del Prado, 1986; Doucet y Di Rienzo, 1991; Toledo *et al.*, 1993; Franco, 1994; Inserra *et al.*, 1996; Aballay *et al.*, 2009), variación morfométrica (Sher, 1970; Doucet y Di Rienzo, 1991; Manzanilla-López *et al.*, 1996, 1999) y molecular (Ibrahim *et al.*, 1997; Reid *et al.*, 2003; Atkins *et al.*, 2005; Anthoine y Mugniery, 2005, 2006; Lax *et al.*, 2007; Vovlas *et al.*, 2007), citología e histopatología (Quimí, 1981b; Jatala y Boluarte, 1993) y manejo (Costilla *et al.*, 1981; Canto-Sáenz *et al.*, 1996; Costilla, 1996; Franco *et al.*, 1997; Cid del Prado *et al.*, 1997; Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Con base en estos antecedentes, los objetivos de la presente investigación fueron analizar la importancia agrícola y económica de *N. aberrans* a nivel nacional y mundial; describir las principales características edafoclimáticas que influyen en su distribución, comportamiento y desarrollo; describir sus principales características morfométricas y la variación molecular dentro del género; y señalar las principales tácticas de control empleadas para el manejo de *N. aberrans*.

1.2. REVISIÓN DE LITERATURA

1.2.1. Importancia agrícola y económica

N. aberrans está reportado en países del oeste de Sur América, principalmente en Ecuador, Perú, Bolivia, Chile y Argentina, siendo una de las principales plagas en el cultivo de papa y remolacha. De acuerdo con Manzanilla-López *et al.* (2002), este fitonematodo no se ha reportado en los países que se localizan en la región central de Sur y Centro América.

N. aberrans tiene un amplio rango de hospedantes, incluyendo plantas de las familias Amaranthaceae, Apiaceae, Asteraceae, Basellaceae, Brassicaceae, Cactaceae, Caryophyllaceae, Chenopodiaceae, Convolvulaceae, Cucurbitaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Labiatae, Malvaceae, Nyctaginaceae, Oxalidaceae, Plantaginaceae, Polygonaceae, Portulacaceae, Solanaceae, Tropaeolaceae y Zygophyllaceae (Manzanilla-López *et al.*, 2002; OEPP/EPPO, 2009), afectando seriamente una gran cantidad de cultivos de importancia alimenticia y económica, como jitomate (*S. lycopersicum* L.), chile (*C. annuum* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), zanahoria (*Daucus carota* L.), pepino (*Cucumis sativus* L.), calabaza (*Cucurbita pepo* L.), lechuga (*Lactuca sativa* L.), remolacha (*Beta vulgaris* L.), col (*Brassica oleracea* L.) y mostaza (*Brassica nigra* (L.) Koch) (Zamudio *et al.*, 1990; Canto-Sáenz *et al.*, 1996; Franco *et al.*, 1999a), principalmente.

N. aberrans, *Globodera rostochiensis*, *G. pallida* y *Meloidogyne* spp. son de gran importancia en la región Andina de Perú y Bolivia, en donde infestan severamente la mayoría de los campos en donde se cultiva papa (EPPO/CABI, 1997; 2012) causando pérdidas superiores al 60% en rendimiento, y reduciendo la cosecha de tubérculos grandes (Franco, 1994; Franco *et al.*, 1996).

En Nebraska, Estados Unidos de América, *N. aberrans* se encuentra entre las primeras seis especies de fitonematodos de mayor importancia en el cultivo de remolacha, en donde causa pérdidas en rendimientos de hasta el 20% (Inserra *et al.*, 1984a, 1984b, 1996).

En México, en el Valle de Valsequillo, Puebla, las pérdidas en el cultivo de frijol y tomate ocasionadas por *N. aberrans* son del 18-36 y 50-60% respectivamente, (Silva, 1989; Zamudio, 1983). En Chapingo, estado de México, este patógeno redujo el rendimiento de amaranto en un 10-14% con un nivel de inóculo inicial de 30±5 nematodos por 200g de suelo (Santa Cruz y Marbán, 1986).

Por su parte Sosa-Moss y González (1973), demostraron que *N. aberrans* afectó negativamente el desarrollo de plantas de chile serrano, ancho y pasilla, disminuyendo la altura y peso de las plantas.

Montoya (1994), reportó a *N. aberrans* en Zacatecas, México asociado a plantas de acelga (*Beta vulgaris* var. cicla), lechuga, pepino, melón (*Cucumis melo* L.),

calabaza, chícharo (*Pisum sativum* L.), sandía (*Citrullus vulgaris* Schrad) y repollo (*Brassica oleracea* var. *viridis*), variando el porcentaje de daño en función de la especie vegetal hospedante.

1.2.2. Distribución geográfica y agregación

N. aberrans está presente en invernaderos de Inglaterra y Holanda, pero no se le ha encontrado en los campos agrícolas de la región de la Organización Europea y Mediterránea de Protección Vegetal (EPPO por sus siglas en inglés, www.eppo.int/ABOUT_EPPO/about_eppo.htm). En Asia, se ha reportado solamente en invernaderos de la India (no confirmado), mientras que en América está presente en México, Estados Unidos de América (California, Colorado, Nebraska, Utah y Wyoming), Argentina, Bolivia, Chile, Ecuador y Perú (EPPO/CABI, 1997). En Europa está ausente en campo, pero ha sido reportado en invernaderos de Reino Unido (actualmente erradicado) y países bajos.

En México está asociado a los cultivos de amaranto (*Amaranthus* spp.), tomate, chile y frijol; mientras que en Bolivia, Chile, Argentina y Perú, en papa, tomate y chile, principalmente (Brunner de Magar, 1967; Jatala, 1985; Cristóbal *et al.*, 2001).

El hábitat natural de los fitonematodos es el suelo, por lo que algunos factores como temperatura, humedad, textura, niveles de oxígeno, pH, conductividad eléctrica y capacidad de intercambio catiónico, pueden influir de manera directa o indirecta en su comportamiento biológico y agregación, y en la severidad de los síntomas que estos organismos inducen en sus hospedantes (Jatala, 1986; Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Los nematodos raramente o casi nunca se distribuyen uniformemente en los campos agrícolas. De acuerdo con Volcy (1998), estos organismos se concentran en mayor o menor grado en el suelo como islas altamente infestadas, en donde se agregan de manera simultánea o independiente. En el primer caso, y como resultado de su poca movilidad, los nematodos se presentan en pequeños conglomerados distribuidos de manera aleatoria. En la agregación independiente se distribuyen al azar en cada muestra y su población varía de una muestra a otra.

La agregación y/o distribución espacial de los nematodos está en función del patrón espacial de distribución de su hospedante actual o previo, de la morfología y distribución de las raíces, de la presencia de microclimas en el suelo, de las prácticas de manejo del cultivo (siembra en hileras y uso de labranza mínima) y de su propia biología (principalmente su estrategia y capacidad reproductiva, oviposición a menudo en una masa gelatinosa, habilidad migratoria y mecanismos de dispersión) (Ferris y Kenry, 1974; Norton, 1978; Guzmán *et al.*, 2006), por lo que su muestreo no es fácil, ya que una o varias especies se pueden agrupar en un solo lugar (Volcy, 1998).

1.2.3. Factores edafoclimáticos que influyen en el comportamiento y desarrollo de *N. aberrans*.

Las características fisicoquímicas del suelo pueden influir de forma importante en la migración (Tarjan, 1971) y tasa reproductiva de los nematodos (Barker y Weeks, 1991; Koenning *et al.*, 1996), así como en el nivel de infestación (Robinson *et al.*, 1987; Starr *et al.*, 1993) y daño al cultivo (Edongali y Ferris, 1982; Barker y Weeks, 1991).

De acuerdo con Manzanilla-López *et al.* (2002), la textura, humedad, capacidad de intercambio catiónico, pH, salinidad y materia orgánica son factores importantes que influyen en la biología de los nematodos, tales como *Tylenchulus semipenetrans* (Baines, 1974), *Meloidogyne incognita* (Carter, 1975; Barker y Weeks, 1981, 1991; Edongali *et al.*, 1982; Shane y Barker, 1986; Starr *et al.*, 1993; Koenning *et al.*, 1996), *M. javanica* (Maggenti y Hardan, 1973), *Pratylenchus brachyurus* (Jordaan *et al.*, 1989; Sarah *et al.*, 1991), *P. penetrans*, *Rotylenchulus parvus* (Jordaan *et al.*, 1989), *R. reniformis* (Starr *et al.*, 1993; Koenning *et al.*, 1996), *Heterodera glycines* (Slack *et al.*, 1972) y *Belonolaimus longicaudatus* (Robbins y Barker, 1974). Actualmente, son pocas las investigaciones que abordan el efecto de tales propiedades físico-químicas sobre *N. aberrans* (Johnson y Thames, 1972; Alarcón y Jatala, 1977; Jatala y Kaltenbach, 1979; Inserra *et al.*, 1983; Costilla, 1985; Ferris, 1999; Yáñez-Juárez *et al.*, 2001), por lo que resulta de suma importancia conocer y entender las

interacciones con estas características edáficas para desarrollar, validar e implementar programas de manejo integrado.

TEMPERATURA: Uno de los factores más importantes que regulan el desarrollo y sobrevivencia de los nematodos fitoparásitos es la temperatura. En este sentido, Johnson y Thames (1972), reportaron que la temperatura óptima del suelo para el desarrollo de *Nacobbus* spp es de 20°C, afectando negativamente el crecimiento de las plantas de espinaca, sin embargo los daños fueron menos aparentes a temperaturas edáficas mayores (28°C), ya que el desarrollo del nematodo fue completamente inhibido con temperaturas superiores a 28°C.

El umbral de temperatura mínima para la embriogénesis de *N. aberrans* es de alrededor de 13°C y la temperatura óptima para la eclosión de los huevos es de 25°C (Inserra *et al.*, 1983; Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Inserra *et al.* (1983), reportaron que el ciclo de vida de *N. aberrans* se completó en 48 días a 25°C en plantas de remolacha, y que la duración del desarrollo embrionario desde la deposición de los huevos hasta la emergencia del J2 fue de 9-10 días a la misma temperatura, y de 51 días a 15°C. Los J2 se mantuvieron quiescentes dentro del huevo a 15°C o temperaturas más bajas, y formaron grandes colonias en las raíces agalladas. Cuando la temperatura del suelo fue de 25°C, las hembras inmaduras se observaron en las raíces a los 23 días después de la inoculación (ddi), mientras que la primera agalla verdadera con hembras jóvenes ocurrió a los 30 días. Las hembras maduras con masas de huevo se observaron a los 38 ddi a 25°C.

De acuerdo con Manzanilla-López *et al.* (2002), la amplia distribución de *N. aberrans* en México es indicativo de su tolerancia a temperaturas menores a 0°C y superiores a 30°C, como lo sugiere su presencia en Tecamachalco, Puebla, con temperaturas mínimas de 3.5°C y máximas de 29.5°C (Zamudio, 1987).

TIPO DE SUELO: A diferencia de *N. aberrans*, el movimiento y reproducción de *M. incognita* se ven favorecidos por la cantidad de arena y porosidad del suelo (Carter, 1975; Prot y Van Gundy, 1981; Shane y Barker, 1986; Robinson *et al.*, 1987; Jordaan *et al.*, 1989; Barker y Weeks, 1991; Koenning *et al.*, 1996; Guzmán-Plazola *et al.*,

2006, 2008). *N. aberrans* presenta una amplia adaptación a suelos arenosos, limosos y arcillosos (Alarcón y Jatala, 1977; Costilla, 1985; Manzanilla-López *et al.*, 2002). Según los datos reportados por Costilla (1985) y Yáñez-Juárez *et al.* (2001) en Argentina y México, respectivamente, las condiciones edáficas que favorecen el desarrollo y presencia de *N. aberrans* son suelos de textura fina, mediana y arenosos, con poca materia orgánica (1.5%) y de moderadamente ácidos (pH 5.7-6.1) a alcalinos (7.6-7.8).

Adicionalmente, *N. aberrans* se encontró en suelos pobres con capas de “caliche” (porosos, permeables y salinos) del Valle del Mezquital en el estado de Hidalgo, y en suelos arenosos tipo xerosoles de Tecamachalco, Puebla (Zamudio, 1983; Manzanilla-López *et al.*, 2002). También se ha reportado que el desarrollo de esta especie se ve favorecido en suelos arenosos y limo arenosos con temperaturas de 15-23°C y con humedad del 19% (Ferris, 1999).

HUMEDAD: Los huevecillos de *N. aberrans* tienen la capacidad de sobrevivir hasta ocho meses en suelos con un contenido de humedad del 7-9% (también larvas viables y hembras adultas inmaduras) (Jatala y Kaltenbach, 1979), por lo que el suelo seco transportado por el viento es un importante medio de diseminación de éste y otros fitonematodo; mientras que la excesiva humedad del suelo (riego frecuente) reduce la reproducción del nematodo (Manzanilla-López *et al.* 2002).

SALINIDAD: Machner (1958) reportó que los nematodos agalladores toleran diferentes niveles de salinidad edáfica, sufriendo ligeros daños. Johnson (1971) evaluaron el efecto de la adición de sales de calcio y sodio en un suelo infestado con una población de *N. aberrans* de Texas, cultivado con tomate Rutgers. De acuerdo con las observaciones, los nematodos no sufrieron toxicidad por sales y ocurrió un incremento del agallamiento y multiplicación del nematodo en las plantas de tomate. En condiciones de invernadero, la adición de calcio y solución Hoaglands a concentraciones mayores de 4 meq, redujeron el número de larvas producidas de *N. aberrans* en plantas de tomate Rutgers (Johnson y Thames, 1972).

1.2.4. Especies dentro del género *Nacobbus* y características morfométricas.

La primera especie del género *Nacobbus* se recolectó de una maleza anual (*Atriplex confertifolia*) en Utah, Estados Unidos de Norteamérica y se denominó como *Anguillulina aberrans* (Thorne, 1935). Posteriormente, Thorne y Allen (1944), sustituyeron el nombre genérico por *Nacobbus* con base en el marcado dimorfismo sexual, a la presencia de una glándula esofágica elongada sobrepuesta dorsalmente al intestino, y por inducir agallas en las raíces de sus hospedantes. Sin embargo, aun cuando *N. aberrans* fue la primera especie descrita, *N. dorsalis* es la especie tipo del género, que se recolectó de *Erodium cicutarium* en California, Estados Unidos de Norteamérica (Sher, 1970; Manzanilla-López, 2010).

En 1956, Thorne y Schuster reportaron la descripción de *N. batatiformis* como una tercera especie del género, recolectada en campos de remolacha (*Beta vulgaris*) en Mitchell, Nebraska, Estados Unidos de Norteamérica. Posteriormente, Franklin (1959) encontró una cuarta especie (*N. serendipiticus*) infectando tomate en invernaderos de Berkshire, Inglaterra; siendo el primer reporte de *Nacobbus* fuera del oeste de los Estados Unidos. Lordello *et al.* (1961), describieron la subespecie *N. serendipiticus bolivianus* en raíces de papa andina (*Solanum tuberosum* subsp. *andigenum*) del Valle de Cochabamba, Bolivia, a cual se diferencia de *N. serendipiticus* por la presencia de una estrecha franja central en el campo lateral y porque los machos son más anchos.

Sher (1970) no reconoce ninguna diferencia morfológica significativa entre *N. aberrans*, *N. dorsalis*, *N. batatiformis* y *N. serendipiticus*, y concluye que las dos últimas especies son sinónimos de *N. aberrans*. De esta manera, solamente se consideran a *N. aberrans* y *N. dorsalis* como especies válidas dentro del género. Los criterios morfométricos que separaron a *N. aberrans* y *N. dorsalis* fue por el número de anillos entre la vulva y el ano (8-14 en *N. dorsalis* y 15-24 en *N. aberrans*), por la posición de la vulva (97% en *N. dorsalis* vs 94% en *N. aberrans*) y por la presencia o ausencia de J2 completamente embrionarios dentro de la hembra (Manzanilla-López, 2010).

El género *Nacobbus* se caracteriza por presentar un fuerte dimorfismo sexual (Sher, 1970; Manzanilla-López *et al.*, 2002). Las hembras adultas son hinchadas, globosas

o en forma de huso, con un solo ovario y vulva subterminal. Los machos son vermiformes con cola redondeada y presentan una bursa pequeña que envuelve la punta de la cola. En ambos sexos el estilete está bien desarrollado (Figura 1.1).

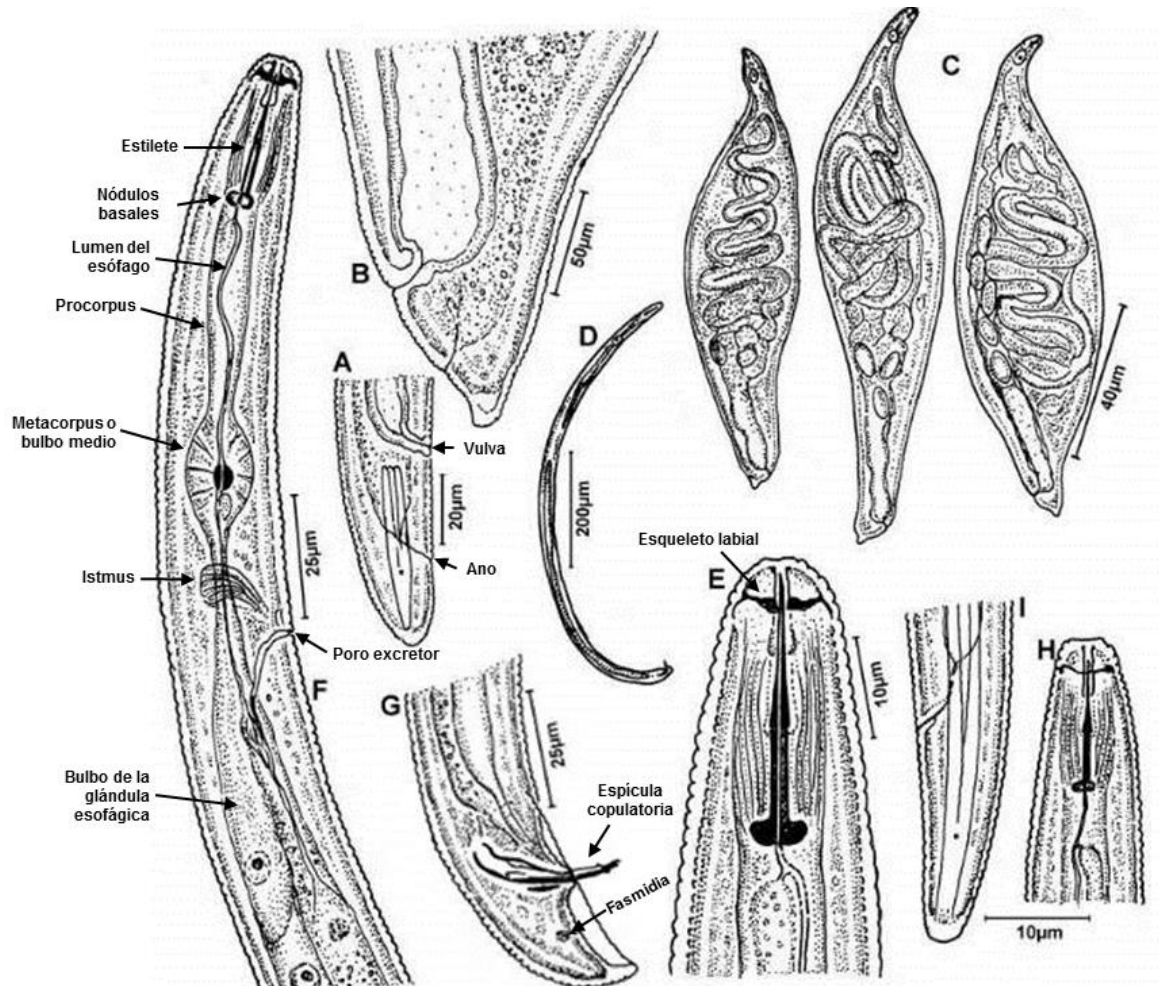


Figura 1.1. *Nacobbus aberrans*. A) Región posterior de hembra inmadura; B) Región posterior de hembra madura; C) Hembras maduras; D) Macho; E) Región anterior del macho; F) Esófago del macho; G) Región posterior del macho; H) Región anterior de juvenil de segundo estadio (J2); I) Región posterior de J2 (Tomada y modificada de Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Las hembras inmaduras son vermiformes con región labial redondeada, hemisférica y continua, con tres o cuatro anillos. El bulbo medio es redondeado y bien desarrollado y con válvula prominente. La glándula esofageal es alargada y está sobrepuesta dorsalmente al intestino. El campo lateral presenta cuatro incisuras

irregularmente areoladas y carecen de deridias. La cola es redondeada con 10 a 17 anulaciones y con fasmidia en forma de poro en la porción anterior de la cola.

Los juveniles de segundo estadio (J2) son vermiformes con cola redondeada (Figura 1.1), ventralmente curvada y con una región hialina. La glándula esofageal es alargada y, sobrepuesta dorsalmente al intestino por arriba del 60% o más de la longitud del cuerpo. El campo lateral tiene cuatro incisuras y las fasmidias se ubican a la mitad de la cola (Sher, 1970; Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Nacobbus aberrans se encuentra ampliamente distribuido en Norte y Sur América (Argentina, Bolivia, Chile, Ecuador, México, Perú y Estados Unidos de Norteamérica), presentando una amplia variación morfológica y morfométrica (Reid *et al.*, 2003) (Cuadro 1.1) y es extremadamente polífaga, encontrándose asociada a cultivos de importancia económica e industrial como frijón, chile, papa, jitomate y remolacha. Mientras que, *Nacobbus dorsalis* está reportado solamente en California, Estados Unidos de Norteamérica, asociado al cultivo de remolacha en el condado de Monterey (identificación no confirmada) (Steele, 1984). Su importancia económica no es significativa, ya que solamente parasita unas cuantas plantas no cultivadas (Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Los principales criterios para identificar y separar las especies de *Nacobbus* se basan en las características biológicas y morfológicas de la hembra inmadura vermiforme; en donde se consideran el número de anillos entre la vulva y el ano (VA), y la posición de la vulva (V). También la forma de la hembra adulta, la longitud de la cola del macho, y la retención o no de huevos embriogénicos dentro de la hembra obesa son otras características de importancia taxonómica que permiten identificar a *N. aberrans* de *N. dorsalis* (Sher, 1970; Manzanilla-López *et al.*, 2002; Manzanilla-López, 2010).

Cuadro 1.1. Características morfométricas de hembras y machos de *N. aberrans* y *N. dorsalis* de Europa, Norte y Sur América (Sher, 1970; Manzanilla-López *et al.*, 2002; Reid *et al.*, 2003).

Características	Hembra inmadura vermiforme		Hembra madura		Macho	
	<i>N. aberrans</i>	<i>N. dorsalis</i>	<i>N. aberrans</i>	<i>N. dorsalis</i>	<i>N. aberrans</i>	<i>N. dorsalis</i>
Linear (μm)						
L	476-1143	590-1060	500-1660	1300-1600	600-1381	720-1160
Estilete	15-26	19-24	13-25	20-24	18-29	20-27
Gubernáculo	-	-	-	-	5-11	8-11
Espículas	-	-	-	-	19-38	27-35
Radios						
a	15-56	26-34	-	-	19-44	25-41
b	4.3-10	5.1-7.3	-	-	4.2-11	5.2-8.7
b'	2.0-6.6	2.0-3.9	-	-	2.0-8.0	2.7-4.7
c	21-48	30-52	-	-	24-55	25-38
c'	0.9-2.2	0.8-1.4	-	-	0.8-2.0	1.4-1.8
Porcentajes						
V	89-96	94-97	-	-	-	-
Conteo						
Anillos perineales	12-36	8-14	-	-	-	-

L= Longitud total del cuerpo (del extremo anterior a la punta de la cola, medido a lo largo del eje del cuerpo); **a**= Longitud total del cuerpo (μm)/ diámetro mayor del cuerpo (μm); **b**= Longitud total del cuerpo (μm)/ distancia de la válvula esófago-intestino (del extremo anterior a la unión esófago-intestino) al extremo anterior del cuerpo (μm); **b'**= Longitud total del cuerpo (μm)/ distancia de la base de las glándulas esofágicas al extremo anterior del cuerpo (μm); **c**= Longitud total del cuerpo (μm)/ longitud de la cola (μm); **c'**= Longitud de la cola (μm)/ diámetro del cuerpo a nivel del ano (μm); **V**= Distancia de la posición de la vulva al extremo anterior, expresada como porcentaje de la longitud del cuerpo (%).

1.2.5. Variación bioquímica y molecular

Debido a la gran variabilidad genética y fisiológica intraespecífica entre poblaciones de *N. aberrans* procedentes de diferentes áreas geográficas (México, Perú y Argentina) (Ibrahim *et al.*, 1997; Manzanilla-López *et al.*, 2002; Reid *et al.*, 2003; Anthoine y Mugniéry, 2006; Vovlas *et al.*, 2007) y a que sus límites taxonómicos se basan en características morfológicas y morfométricas, se ha sugerido la existencia de un complejo de especies dentro del género, que se trata de una especie altamente variable (Mayorga y Jatala, 1990; Doucet y DiRienzo, 1991; Doucet y Gardenal, 1992; Reid *et al.*, 2003; Anthoine y Mugniery, 2005, 2006; Lax *et al.*, 2007; Vovlas *et al.*, 2007), o que son distintas razas fisiológicas, patotipos o nuevas

especies (Jatala y Golden, 1977; Boluarte y Jatala, 1992, 1993; Toledo *et al.*, 1993; Canto-Sáenz *et al.*, 1996; Manzanilla-López *et al.*, 1996).

Considerando que los estudios morfológicos, citológicos y fisiológicos no permiten la correcta y consistente identificación de este nematodo ni definir sus límites taxonómicos, surge la necesidad de explorar otras herramientas y disciplinas que pudieran proveer bases sólidas para dar respuesta a este problema taxonómico (Baldwin y Cap, 1992; Ibrahim *et al.*, 1997). La bioquímica y biología molecular ofrecen enfoques promisorios, ya que son técnicas complementarias importantes en la identificación de diferentes organismos, incluyendo fitonematodos (Hyman y Powers, 1991; Caswell *et al.*, 1993; Hyman y Whipple, 1996).

Anthoine y Mugniéry (2006), realizaron cruces recíprocas entre cinco poblaciones suramericanas de *N. aberrans* con diferencias en su preferencia de hospedante. Las poblaciones N1 a N3 infectan papa y remolacha azucarera, mientras que las poblaciones N4 y N5 solamente a la remolacha azucarera, lo que sugiere la existencia de al menos dos grupos genéticamente separados dentro del complejo *N. aberrans*, que podrían corresponder a dos especies diferentes (N5 y N1 a N4), ya que cuando se cruzó la población N5 con las otras poblaciones, las progenies siempre fueron infértiles o no viables.

Ibrahim *et al.* (1997), reportaron por primera vez diferencias moleculares y enzimáticas entre poblaciones de *N. aberrans* procedentes de Perú (F1 y F2), México (F4) y Argentina (F5) mediante el análisis de RAPDs, RFPLs e isoenzimas. El análisis isoenzimático reveló que las poblaciones son diferentes de acuerdo a los perfiles la fosfatasa ácida y malato deshidrogenasa, mientras que la esterasa no específica mostró afinidades genéticas entre las poblaciones F1 y F2 y la F4 y F5, estos últimos con perfiles distintos a las poblaciones peruanas. Los análisis RAPDs y RFLPs corroboraron las afinidades genéticas entre F1 y F2 y F4 y F5. Estos análisis mostraron diferencias genéticas entre las poblaciones mexicanas, argentinas y peruanas, lo que en otros grupos taxonómicos podrían ser consideradas como una nueva especie o género. De esta manera, concluyen que las poblaciones peruanas

son distintas de la mexicana y argentina, las cuales a su vez muestran una marcada homogeneidad genética.

Reid *et al.* (2003), evaluaron doce poblaciones de *N. aberrans* de México, Bolivia, Perú, Ecuador y Argentina con RFLPs y mediante el análisis filogenético de la región ITS del DNAr. El análisis filogenético de los perfiles moleculares de RFLPs reveló la existencia de tres grupos, uno constituido por las poblaciones de México, Ecuador y Argentina 1, el segundo por poblaciones de Perú y Bolivia, y el tercero por la población Argentina 2; indicando que *N. aberrans* es un complejo de especies que comprende al menos tres genotipos diferentes. Las poblaciones de México, Ecuador y Argentina 1 corresponderían a *N. aberrans*, aunque recomiendan confirmarlas mediante la caracterización molecular de *N. aberrans* de la localidad tipo en los Estados Unidos de América. Las poblaciones bolivianas y peruanas pertenecerían a *N. bolivianus* y la población Argentina 2 a una especie o género nuevo.

Mayorga y Jatala (1990), reportaron que las poblaciones de *N. aberrans* provenientes de distintas áreas geográficas son diferentes de acuerdo a sus perfiles de proteínas totales. Dichas variaciones las atribuyeron a diferencias morfológicas o a la posible existencia de razas, ya que dentro de cada población el perfil de proteínas fue el mismo independientemente del hospedante en donde se haya inoculado.

Vovlas *et al.* (2007), evaluaron la variabilidad molecular de una población argentina de *N. aberrans*. El análisis ITS-RFLP reveló patrones de digestión idénticos en la mayoría de los nematodos utilizando las enzimas Alu I, Dde I, Hae III, Hinf I, Hpa II y Rsa I, pero solamente dos especímenes mostraron patrones de digestión diferentes dados por la presencia de sitios de restricción adicionales al perfil esperado (Hae III y Rsa I). Adicionalmente, la secuencia y longitud (157pb) del gen 5.8S del DNAr fueron idénticos a los obtenidos en las poblaciones de Perú reportadas por Ibrahim *et al.*, (1997), y el análisis ITS-RFLP mostró que los patrones de restricción fueron similares a los de las poblaciones argentinas analizadas por Anthoine y Mugniéry (2005). El análisis de secuencias y productos digeridos de la región ITS permitieron separar

claramente los diferentes aislamientos. Los datos de secuencias respaldan fuertemente la existencia de tres grupos genéticamente distintos en el complejo *N. aberrans*, cada uno conformado por poblaciones provenientes de áreas geográficas y hospedantes diferentes, por lo que los autores sugieren la existencia de especies que comparten un ancestro común bastante reciente.

Ramírez-Suárez (2011), comparó doce poblaciones de *N. aberrans* procedentes de Nebraska, México (Zacatecas, Chapingo, Montecillo, Xalatlaco y Puebla) y Argentina. Los especímenes se obtuvieron de diferentes hospedantes y se analizaron con herramientas fisiológicas, morfológicas y filogenéticas. El análisis fisiológico del desarrollo de los nematodos inoculados en tomate cv. Rutgers y la variación detectada en el análisis morfométrico multivariado revelaron una ligera tendencia a diferenciar grupos. La variación intraespecífica se confirmó y clarificó mediante el análisis filogenético de los marcadores nucleares y mitocondriales, definiéndose cuatro grupos que muestran un patrón geográfico de distribución bien definido. El primer grupo constituido por la población de Nebraska, el segundo por la población de la región Norte de México (Zacatecas), el tercero por la población de la región central de México y el cuarto por la población argentina. El análisis del gen mitocondrial corroboró los cuatro grupos geográficos y genéticos que se identificaron filogenéticamente. El análisis barcode basado en caracteres permitió la identificación de caracteres “puros” de diagnóstico para cada grupo, aportando evidencias adicionales de que *N. aberrans* es un complejo de al menos cuatro especies. La población de Nebraska reúne criterios para considerarla como una especie distinta, recomendando que se reintegre a *N. batatiformis* como fue originalmente descrita.

Es claro que el uso del DNA ribosomal para analizar la variabilidad genética en nematodos es una herramienta muy útil, poderosa y ampliamente usada, y ha demostrado ser un método confiable con propósitos de identificación (Powers *et al.*, 1997; Waeyenberge *et al.*, 2000; Powers, 2004). Sin embargo, hasta la fecha solo un pequeño número de poblaciones complejas de *N. aberrans* se han caracterizado molecularmente, principalmente de México y Bolivia, unos pocos de Ecuador, Perú,

Argentina y Estados Unidos de Norteamérica, y ninguno de Chile (Ramírez-Suarez, 2011; Manzanilla-López, 2010).

1.2.6. Manejo

Los síntomas inducidos por fitonematodos en órganos aéreos y subterráneos de las plantas hospedantes no son específicos de estos organismos, por lo que es importante identificarlos oportunamente para aplicar las mejores medidas de manejo y control del cultivo y del patógeno; sin embargo, su detección temprana no es tarea fácil, especialmente en muestras edáficas, por que se hace una subestimación de las poblaciones, lo cual tiene consecuencias potencialmente serias para los cultivos subsecuentes que podrían ser susceptibles a estos organismos (Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Los entomólogos han racionalizado el manejo de plagas insectiles con el desarrollo de umbrales de acción, debido a que disponen de técnicas eficientes para contar poblaciones y determinar daños con precisión. Además, la información económica de los métodos o tácticas de control para mantener las poblaciones insectiles por debajo de los niveles de daño al cultivo y al ambiente, les permite manipular el plagosistema (Marbán-Mendoza y Manzanilla-López, 2012). En contraparte, la fitonematología no cuenta con esas herramientas, salvo algunos casos de nematodos enquistadores en California y Holanda (Norris *et al.*, 2003).

Numerosas estrategias y tácticas de control se han evaluado para el manejo de fitonematodos, siendo el bromuro de metilo el fumigante de suelo que más efectividad ha mostrado (Bello *et al.*, 2002). Sin embargo, su uso está restringido y en muchos países, incluyendo México, se ha prohibido por sus efectos nocivos al ambiente y al hombre (Haydok *et al.*, 2006). Debido a esta problemática y a los daños que induce *N. aberrans* en cultivos de importancia agrícola e industrial, se han realizado muchos trabajos en busca de alternativas que ayuden a la sustitución del bromuro de metilo a mediano y largo plazo. En este sentido, el conocimiento de los principios de control de enfermedades (exclusión, erradicación, protección y resistencia) permite tener una base técnica suficiente para hacer propuestas creativas e innovadoras de métodos de control como parte de un programa de

manejo de este nematodo, las cuales en mayor o menor grado ayudarán a disminuir los daños en los cultivos (Sergent, 1999; Téliz, 2000).

Téliz (2000), señala que el control de enfermedades se ha conceptualizado tradicionalmente bajo cuatro principios, 1) la exclusión a través de cuarentenas para evitar la entrada del patógeno a una área en donde no está presente; 2) la erradicación, que involucra la destrucción de un patógeno que ha invadido una área en donde antes no existía; 3) la protección, que permite establecer una barrera que proteja a las plantas de la infección de un patógeno ya establecido en una región. Este principio puede ser cultural (fechas de siembra, asociación de cultivos, densidad de siembra o plantación, manejo de nutrición y riegos, incorporación de materia orgánica, etc.), físico (cubiertas flotantes, acolchado plásticos, etc.), biológico (uso de enemigos naturales, etc.), y/o químico (uso de productos químicos); y 4) el control genético para establecer programas de mejoramiento en búsqueda de materiales resistentes o tolerantes al ataque de los patógenos. Sin embargo, la aplicación de uno o varios de estos principios de control, dependerá del problema y de la magnitud del mismo.

Exclusión.

Actualmente, en México no existen regulaciones cuarentenarias relacionadas con *N. aberrans*, a pesar de ser una especie altamente polífaga y con un amplio rango de hospedantes.

Erradicación.

La erradicación de *N. aberrans* una vez que se ha establecido en un área agrícola es prácticamente imposible, debido a sus mecanismos de sobrevivencia y su alta capacidad reproductiva, caracterizados por la producción de masas de huevos que se adhieren en los residuos radicales de sus hospedantes, las cuales entran en estado de anhidrobiosis que les permite soportar la desecación cuando las condiciones ambientales son adversas, pudiendo permanecer viables hasta 10 años (Canto, 1987; Ortuño *et al.*, 2005). De esta manera, es necesario evitar la introducción del nematodo a campos libres, ya que aunque en muchos cultivos no

genera daños muy severos cuando sus poblaciones son bajas, con el tiempo afectará la producción de las plantas y la sostenibilidad del suelo, el cual debe preservarse para la seguridad alimentaria.

Protección cultural.

Fechas de siembra. Las fechas de siembra se han sugerido para suprimir la densidad poblacional de nematodos (Jeffers y Roberts, 1993), desafortunadamente poca información está disponible sobre su efecto en *N. aberrans*. Cuando las plantaciones de papa se realizan de octubre a enero en los campos agrícolas de Bolivia, los rendimientos del cultivo bajan debido a infestaciones altas de *N. aberrans*, fuertes precipitaciones y a las bajas temperaturas que se presentan en el mes de enero. Cuando las siembras se realizan de junio a septiembre, incrementan los rendimientos y las ganancias netas (27.1-30.1 t ha⁻¹) por la ausencia de factores adversos (Iriarte *et al.*, 1999).

En México, Caballero y Muñoz (1987), determinaron el efecto de *N. aberrans* sobre cultivares de espinaca sembrados en cuatro fechas. Cuando la espinaca se sembró en octubre, se encontró una mayor cantidad de huevos (1854 mL⁻¹ de suelo), la cual disminuyó en mayo (98 mL⁻¹ de suelo). Estos resultados estuvieron relacionados con las condiciones climáticas locales, ya que el número de huevos fue menor cuando las siembras se hicieron en la temporada de alta precipitación.

Plantas antagonistas y/o plantas trampa. La asociación de cultivos con *Tagetes* spp. se ha utilizado como una práctica cultural para el manejo de nematodos fitopatógenos. *T. erecta* asociado con el cultivo de jitomate, reduce las poblaciones e infección de *N. aberrans* hasta en un 76% (Zavaleta-Mejía y Gómez, 1995). Las leguminosas del género *Mucuna deeringiana* y *Concanavalía ensiformis* intercaladas en el cultivo de jitomate reducen significativamente el agallamiento (Marbán-Mendoza *et al.*, 1989), principalmente por la presencia de *C. ensiformis*, debido a que esta especie produce lectina Concanavalina A, la cual tiene un efecto inhibitorio sobre los mecanismos que presenta el nematodo para encontrar al hospedante (Jeyaprakash *et al.*, 1985), al crear un microambiente desfavorable para el patógeno.

Mareggiani *et al.* (1994), evaluaron en condiciones de laboratorio, el efecto que tienen los extractos foliares de *Melia azedarach* L. (Meliaceae) y *Ruta chalepensis* L. (Rutaceae) sobre la movilidad de juveniles de *N. aberrans*. Encontraron que a las 24 y 48 h después de que los nematodos se expusieron a los extractos se inmovilizaron ($\alpha=0.05$). Si bien Mareggiani y colaboradores no evaluaron los extractos en condiciones de campo, estos resultados son potencialmente útiles para integrarse como parte de las medidas de control para este nematodo.

Estudios en Bolivia (Franco *et al.*, 1999b), demostraron que existen líneas y variedades de cultivos no hospedantes a *N. aberrans* que se han utilizado como cultivos trampa, y en donde los nematodos eclosionan y/o invaden el sistema radical sin llegar a reproducirse (Franco *et al.*, 1997). Las variedades de cebada Lucha e IBTA-80 y la variedad Renacer de Triticosecale, se consideraron como no hospedantes eficientes porque permitieron una alta invasión y el desarrollo parcial de los estados juveniles (J3-J4) sin alcanzar el estado de hembra adulta con masas de huevos. Estas variedades, al igual que las malezas *Distichus humilis* y *Bromus unioloides* se consideran como “cultivos trampa” (Céspedes *et al.*, 1998).

Rotación de cultivos. El principio fundamental de la rotación de cultivos es evitar las siembras sucesivas de hospedantes susceptibles con el fin de restringir la multiplicación del nematodo y reducir los daños (Franco *et al.*, 1997). En campos de papa en Suramérica, y remolacha en Nebraska, Estados Unidos fue una de las principales estrategias de manejo para suprimir poblaciones de *N. aberrans* (Manzanilla-López *et al.*, 2002). Bajo un esquema de rotación de cuatro años, y sembrando un cultivar de papa susceptible (cv. Waych'a) y uno parcialmente resistente (cv. Gendarme), se encontró que la tasa de reproducción de *N. aberrans* en el último periodo fue menor a uno, cuando se hicieron rotaciones con lupinos, avena y barbecho durante dos o más ciclos agrícolas. Además, el agallamiento radical fue menor al 10% en el cv. Gendarme rotado con lupinos por uno o más periodos (Montalvo *et al.*, 1994).

Es importante recordar que *N. aberrans* tiene un amplio rango de hospedantes, por lo que se dificulta la selección de especies vegetales apropiadas para la rotación.

Algunas crucíferas, gramíneas (*Avena sativa*, *Hordeum vulgare*, *Triticale* spp., *Triticosecale* spp.), la mayoría de las leguminosas (*Lupinus mutabilis*, *Vicia faba* var. *equina*) y algunas malezas (*Distichus humilis*, *Bromus unioloides*) se consideran como plantas no hospedantes eficientes o parcialmente resistentes (Franco *et al.*, 1992; Franco *et al.*, 1997; Céspedes *et al.*, 1998).

Actualmente en México, no existen reportes oficiales de la implementación de programas de manejo en campo que incluyan rotaciones de cultivo para el control de *N. aberrans*. La ejecución y adopción de ésta práctica agrícola es difícil, debido a la amplia gama de hospedantes, la capacidad reproductiva y sobrevivencia de este nematodo, así como por la falta de cultura de nuestros agricultores.

Enmiendas orgánicas. La utilización de enmiendas orgánicas es reconocida como una estrategia de gran utilidad para el control de patógenos de origen edáfico, principalmente aquellas que contienen un alto contenido en nitrógeno, ya que presentan un efecto nematicida significativo (Rodríguez-Kabana *et al.*, 1987). Varios estudios se han realizado para evaluar el efecto de la incorporación de enmiendas y materia orgánica sobre poblaciones de *N. aberrans*. Franco *et al.* (1992), encontró que la incorporación de gallinaza incrementó la producción de papa, sin afectar la tasa de reproducción del nematodo, a diferencia de la composta y el estiércol. Cuando se incorporó materia orgánica, incrementaron los rendimientos en un 70-84% y se redujo el número de juveniles de *N. aberrans* en un 85% (Canto-Sáenz *et al.*, 1996).

La incorporación de pollinaza en el cultivo de jitomate cv. Río grande a los 15 días antes del transplante, redujo significativamente la invasión de juveniles de *N. aberrans* a las raíces de las plantas (Cid del Prado *et al.*, 1997). Cuando se incorporaron residuos de *Brassica oleracea* var. *capitata* y *Ricinus communis* en suelos agrícolas 10 días antes del transplante, se redujo significativamente el agallamiento inducido por *N. aberrans* (63-89%), pero los residuos causaron la muerte de algunas plantas y redujeron la biomasa final debido a su efecto fitotóxico. Sin embargo, cuando la incorporación se realizó al momento del transplante a dosis del 1 y 2%, se redujo el agallamiento hasta en un 54% e incrementaron la altura de

planta, y peso seco de follaje y raíz (Franco *et al.*, 2002). Las reducciones en el nivel de daño ocasionado por *N. aberrans* sobre las plantas de jitomate, se debe a la presencia y acumulación de mercaptanos, isotiocianatos, metanoetiol y sulfuros (compuestos volátiles ricos en azufre) en el suelo (Lewis y Papavizas, 1971), que son liberados durante la descomposición de los residuos de col y que inhiben la movilidad de los juveniles o los mata antes de que penetren en las raíces (Zavaleta-Mejía y Rojas, 1988; Lazzeri *et al.*, 1993).

También en esta variedad de jitomate, la incorporación de vermicomposta y estiércol redujeron significativamente el agallamiento radical en un 27 y 40% respectivamente, incrementándose el volumen radical y el peso seco de la raíz y follaje. En campo, a los 85 días después del transplante, la vermicomposta disminuyó el agallamiento en un 28.5% e incrementó el peso seco del follaje en un 91% (Villa-Briones *et al.*, 2008).

La incorporación de vermicomposta sola y en combinación en el cultivo de chile ancho (*Capsicum annuum* L.) en condiciones de invernadero, redujo significativamente las poblaciones de juveniles de *N. aberrans* (J3 y J4) y el índice de agallamiento hasta en un 93 y 65%, respectivamente. En campo, a los 100 días después del transplante, los residuos de col e incorporación de vermicomposta incrementaron el peso seco de follaje (60%) y disminuyeron el agallamiento (50%). Los mayores rendimientos de chile se obtuvieron con la aplicación de vermicomposta (733 kg·ha⁻¹), y con la mezcla de vermicomposta-residuos de col (778 kg·ha⁻¹) (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2011).

Las enmiendas mejoran la fertilidad y propiedades físicas del suelo (Díaz-Virluche *et al.*, 2000), favoreciendo el crecimiento y desarrollo de las plantas. Sin embargo, tiene la desventaja de que para disminuir las poblaciones de *N. aberrans* y otros patógenos, se requieren grandes volúmenes por área para obtener buenos resultados, lo que provoca gastos de transporte y problemas de disponibilidad de estos insumos.

Protección biológica.

Uso de organismos antagonistas. Los primeros esfuerzos para controlar *N. aberrans* usando agentes biológicos comenzaron en los años 80s en Suramérica, con la aplicación de hongos como *Arthrobotrys* spp. y *Paecilomyces* spp. (Mareggiani *et al.*, 1985; Mendoza-de Gives *et al.*, 1994). De acuerdo con Mareggiani *et al.* (1985), *P. lilacinus* fue capaz de parasitar huevos y hembras de *N. aberrans* en condiciones *in vitro*; mientras que en condiciones de campo parasitó el 71% de las masas de huevo, reduciendo el agallamiento en un 26.5%. En otros ensayos realizados en invernadero con una densidad poblacional de 25 juveniles·cm⁻³ de suelo, *P. lilacinus* provocó la muerte del 50% de los juveniles de *M. incognita* y *N. aberrans* utilizando una dosis de 45.3 y 55.3 mg de arroz colonizado con el hongo por 500 cm³ de suelo, respectivamente (Eguiguren-Carrion, 1995).

Brown y Kerry (1987), indicaron que uno de los grupos de hongos nematófagos más importantes en el control de nematodos fitoparásitos son los atrapadores de nematodos, principalmente del género *Arthrobotrys*, *Monacrosporium* y *Dactylaria*, los cuales producen trampas adhesivas en forma de red o poseen anillos constrictores o adhesivos. En condiciones *in vitro*, *A. conoides* destruyó total o parcialmente el 90% de los J2 de *N. aberrans* a 25°C (Mendoza-de Gives *et al.*, 1994).

Balderrama *et al.* (1993), demostraron en ensayos *in vitro* que *Beauveria brongniartii* parasita todos los estados biológicos de *N. aberrans*, excepto aquellos en proceso de muda. En condiciones de invernadero se observó que al mezclarlo con enmiendas de ovino solo inhibió la eclosión de huevos.

P. chlamydosporia es un parásito facultativo que se presenta de manera natural en suelos supresivos (Kerry, 1995) y es uno de los agentes de control biológico más estudiados por su amplia distribución geográfica, fácil cultivo en laboratorio, comportamiento parasítico y saprofítico, y por su efectividad en el control de nematodos. La necesidad de encontrar alternativas a los nematicidas químicos ha conducido a intensificar la detección y evaluación de numerosos aislamientos de este hongo como agentes potenciales de control contra especies de *Meloidogyne*, *Nacobbus*, *Heterodera*, *Globodera* y *Rotylenchulus* (Manzanilla-López, 2012). En un

estudio reciente, se observó que *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* parasita huevos de *N. aberrans* hasta en un 27% a los 100 días después del trasplante, y al mezclarse con vermicomposta se reduce el índice de agallamiento y el número de nematodos en las raíces de plantas de chile, incrementando el peso seco del follaje (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2011).

El primer estudio sobre el uso de *Glomus intraradices* como una posible estrategia para el control de *N. aberrans* en tomate lo realizaron Lax *et al.* (2010). El hongo micorrízico mejoró el crecimiento de las plantas en condiciones de invernadero, redujo significativamente el agallamiento radical (58%), y disminuyó la reproducción del nematodo hasta en un 63%.

En los últimos años se han hecho muchos esfuerzos para identificar antagonistas naturales para el manejo integrado de fitonematodos de importancia agrícola, entre estos se encuentran los nematodos entomopatógenos (NEP) de las familias Steinernematidae y Heterorhabditidae, los cuales han mostrado una clara actividad sobre *N. aberrans*, al formarse un complejo entre una bacteria simbiote (BS) y el NEP (BS-NEP) (Lax *et al.*, 2012). Los extractos de BS-NEP y sus metabolitos se pueden usar como agentes potenciales de control de poblaciones locales de *N. aberrans*, ya que tienen un efecto nematicida sobre los juveniles (J2), causando hasta un 100% de mortalidad en condiciones *in vitro*. También se observó que La aplicación de BS y sus metabolitos al suelo reducen significativamente el número de agallas (33-67%) y la reproducción del nematodo (55-80%) en las plantas de tomate.

Protección física.

Solarización. La solarización con plásticos degradables y la incorporación al suelo de residuos orgánicos se han empleado para el control de nematodos fitopatógenos (Bello y González, 1994). Yáñez-Juárez *et al.* (2001), encontraron que los surcos cubiertos con plástico transparente alcanzaron temperaturas más altas en comparación con los cubiertos con plástico negro. Además, la solarización y la incorporación de gallinaza redujeron significativamente las poblaciones de *N. aberrans* hasta en un 69%. En el cultivo de chile, la combinación de la incorporación

de gallinaza, solarización y acolchado, ambos con polietileno negro con o sin asociación de cultivos, fueron efectivos en el manejo de la marchitez, agallamiento de raíces y virosis, e incrementaron la producción y la calidad de frutos.

Protección química.

Uso de nematicidas. Una de las medidas más utilizadas a nivel mundial para el control de nematodos fitoparásitos, es el uso de nematicidas químicos aplicados al suelo, principalmente organofosforados (fenamifos, ethoprofos, cadusafos), carbamatos (aldicarb, carbofuran, oxamil) y nematicidas fumigantes (ASP, 2013).

La efectividad de estos productos para reducir o controlar poblaciones de *N. aberrans* se ha evaluado desde los años 70s (Caballero, 1970; Equihua, 1977) con la aparición de los primeros productos nematicidas.

Las aplicaciones de aldicarb, carbofuran, fensulfotion, fenamifos, curater, oxamil y fosfolan en el cultivo de papa cv. Imilla negra para mitigar las poblaciones de *N. aberrans* y *Globodera* spp, no controlaron de manera significativa el agallamiento radical, pero si se mejoró el rendimiento de tubérculos con las aplicaciones de aldicarb y carbofuran (Cornejo-Quiroz, 1977b).

En condiciones de campo e invernadero, Costilla *et al* (1981) aplicaron nematicidas no fumigantes del grupo de los organofosforados y carbamatos para controlar juveniles de tercer y cuarto estadio de *Nacobbus* en tubérculos de papa cv. Claustar. Observaron que el 90% de las plantas tratadas solo con carbofuran 30 TS fueron sanas, mientras que el 100% de las plantas tratadas con el resto de los productos presentaron más de 100 agallas por raíz.

Zamudio (1983), evaluó el efecto nematicida de aldicarb, fenamifos y carbofuran en el control de *N. aberrans* en el cultivo de tomate en el Valle de Valsequillo, Puebla. Las aplicaciones se hicieron en banda y al borde del surco en el momento de la siembra. Las plantas tratadas con el aldicarb (2.25 kg i.a. ha⁻¹) y fenamifos (4 y 2 kg i.a. ha⁻¹) incrementaron la cantidad y calidad de los frutos.

Reducciones del agallamiento radical inducido por *N. aberrans* e incrementos del 10-15% en la producción de semillas en el cultivo de alegría (*Amaranthus*

hypochondriacus Rob.) se reportaron por Santa Cruz y Marbán (1986) al aplicar aldicarb en dosis de 2.5 kg i.a. ha⁻¹.

Franco *et al.* (1993), colocaron tubérculos de papa altamente infectados con *N. aberrans* (15.7 individuos en dos gramos de cáscara) en soluciones nematicidas a diferentes concentraciones para prevenir la diseminación del nematodo. De acuerdo con sus resultados, el Namacur 400 EC al 2% y Carbodan 48 FW al 12.5% por 10 minutos fueron los más efectivos, ya que no permitieron la reproducción y establecimiento del nematodo.

Franco y Main (2001), evaluaron el efecto de diferentes pesticidas (Fostiazato 90%, Abamectin 18% y Fenamifos 40%) aplicados con una máquina de ultra bajo volumen (ULV) y en inmersión, para desinfectar tubérculos semilla de papa con *N. aberrans*. Todos los productos en inmersión disminuyeron significativamente la presencia del nematodo, a excepción del fenamifos aplicado con la maquina de ULV.

Control genético.

El uso de variedades resistentes representa uno de los métodos complementarios más convenientes para el manejo de nematodos fitopatógenos, ya que es efectivo, económico, duradero y ambientalmente sano (Román y Acosta, 1984; Téliz, 2000).

Actualmente, en México no existen materiales vegetales disponibles en el mercado con resistencia específica a *N. aberrans* (Hernández, 2001); además, los trabajos de investigación encaminados a la búsqueda de fuentes de resistencia no involucran la localización e incorporación de los genes que codifican para la síntesis de estructuras o compuestos químicos relacionados con mecanismo de defensa, básicamente se limitan a determinar si un hospedante es o no resistente al nematodo.

Brunner de Magar (1967), en la búsqueda de fuentes de resistencia a este nematodo, reportó que la mayoría de las variantes de *Capsicum pendulum* fueron susceptibles a *N. aberrans*, y solamente las líneas peruano amarillo Tacna (3-5-805), SA 335 (3-79-1) y SA 354 (3-79-2) presentaron cierto grado de resistencia, al no desarrollar agallas o mostrar índices de agallamientos muy bajos.

Por su parte, Cap *et al.* (1993), reportaron que las accesiones e híbridos F1 de jitomate (*L. chmielewskii* LA 2663, *L. peruvianum* LA 153 y *L. peruvianum* var. *glandulosum* LA 1973) portadoras del gen Mi-2 (efectivo contra *M. incognita* raza 1), fueron de moderada a altamente resistentes a una población argentina de *N. aberrans*. Observaron variabilidad en algunas accesiones, sugiriendo segregación para la resistencia.

Hernández (2001), evaluó la respuesta de diez cultivares de frijol a dos poblaciones mexicanas de *N. aberrans* procedentes de Zacatecas y Puebla. Todos los cultivares fueron resistentes a la población de Puebla, suprimiendo totalmente el desarrollo y aparición de agallas; mientras que los cultivares Bayo Mesa central, Amarillo Calpan, Negro San Luis y Río Grande fueron resistentes a la población de Zacatecas.

1.3. LITERATURA CITADA

- Aballay, E., P. Persson, and A. Mårtensson. 2009. Plant-parasitic nematodes in Chilean vineyards. *Nematropica* 39:85-97.
- Alarcón, C., y P. Jatala. 1977. Efecto de la temperatura en la resistencia de *Solanum andigena* a *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 7(2):2-3.
- Anthoine, G., and D. Mugniéry. 2005. Variability of the ITS rDNA and identification of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae) by rDNA amplification. *Nematology* 7:503-516.
- Anthoine, G., and D. Mugniéry. 2006. Crossing experiments with South American populations of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne and Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae). *Nematropica* 36:67-68.
- ASP. 2013. Nematicidas y su correcto uso. Boletín técnico No.10. ASP Chile. Santiago, Chile. 3p.
- Asmus, G. L., L. C. C. B. Ferraz, and B. Appezzato da Glória. 2000. Anatomical changes in corn (*Zea mays* L.) roots caused by *Meloidogyne javanica*. *Nematropica* 30:33-39.
- Atkins, S.D., R. H. Manzanilla-López, J. Franco, B. Peteira, and B. R. Kerry. 2005. A molecular diagnostic method for detecting *Nacobbus* in soil and in potato tubers. *Nematology* 7:193-202.
- Baines, R. C. 1974. The Effect of soil type on movement and infection rate of larvae of *Tylenchulus semipenetrans*. *Journal of Nematology* 6(2): 60-62.
- Balderrama, P., J. Franco, and R. Montecinos. 1993. *Beauveria brongniartii* as a potential control agent for potato "Rosario" *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 23(2):109.
- Baldwin, J. G., and G. B. Cap. 1992. Systematics of *Nacobbus*, the false root-knot nematode. Pp. 101-112 in F.J. Gommers and P. W. T. Maas, eds. *Nematology from molecule to ecosystem*. Invergowrie, Scotland: European Society of Nematologists.
- Barker, K. R., and W. W. Weeks. 1981. Influence of soil type and *Meloidogyne incognita* on yield and quality of tobacco. *Journal of Nematology* 13(4): 432.
- Barker, K. R., and W. W. Weeks. 1991. Relationships between soil and levels of *Meloidogyne incognita* and tobacco yield and quality. *Journal of Nematology* 23(1):82-90.
- Bello, A., y González, J. A. 1994. Potato cyst nematodes in the Canary Islands: an epidemiologic model for the Mediterranean region. *Bulletin OEPP*. 24(2): 429-438.
- Bello, A., J. A. López-Pérez, A. García-Álvarez, and R. Sanz. 2002. Biofumigation and nematode control on mediterranean region. *Nematology* 4(2):43.
- Boluarte, T., and P. Jatala. 1992. Development of an international race classification scheme for determination of physiological races of *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 22(2):119.
- Boluarte, T. and P. Jatala. 1993. Revision of the international race classification scheme for identification of physiological races of *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 23:110.
- Bounce, J. M., and B. R. Kerry. 1999. Effect of the host plant on the efficacy of *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent of root-knot

- nematodes at different densities and fungal application rates. *Soil Biology and Biochemistry* 31:75-84.
- Brunner de Magar, P. 1967. Jicamilla del chile causada por un nuevo nematodo y obtención de fuentes de resistencia. *Agrociencia* 2:76-91.
- Caballero, E. L., y M. A. Muñoz. 1987. Cuatro fechas de siembra e histopatología de tres variedades de espinaca (*Spinacia oleracea* L.), al ataque del nematodo falso agallador *Nacobbus* sp. Thorne y Allen, 1944. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo, México. 106p.
- Caballero, R. M. 1970. Estudio del nematodo nodulador *Nacobbus* sp. (T & A) causante de la jicamilla del chile. Tesis de licenciatura, Escuela Nacional de Agricultura, Chapingo, México. 61 p.
- Canto, S. M. 1987. Los nematodos y la producción de papa. En: El cultivo de papa con énfasis en la producción de semilla. Programa de Investigaciones y Proyección Social en Papa, Universidad Nacional Agraria "La Molina". Lima, Perú. p. 193-212.
- Canto-Sáenz, M., M. J. Arcos, P. Jatala, and R. Haddad. 1996. Morphology, biology, and management of *Nacobbus aberrans* in Peru. *Nematropica* 26(3):197.
- Cap, G. B., P. A. Roberts, and I. J. Thomason. 1993. Sources of resistance in *Lycopersicon* to the false root-knot nematode *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 23(2):112.
- Carter, W. W. 1975. Effects of soil texture on the interaction between *Rhizoctonia solani* and *Meloidogyne incognita* on cotton seedlings. *Journal of Nematology* 7(3):234-236.
- Caswell, C. E. P., V. M. Williamson, and B. B. Westerdahl. 1993. Applied biotechnology in nematology. Supplement to the *Journal of Nematology* 25:719-730.
- Caveness, F. E. 1959. Distribution of cyst and gall forming nematodes of sugarbeet in the United States. *Journal of American Society of Sugarbeet Technology* 10:544-552.
- Center, B. J., R. M. Giblin-Davis, E. A. Herre, and G. C. Chung-Schickler. 1999. Histological comparisons of parasitism by *Schistonchus* spp. (Nemata: Aphelenchoididae) in Neotropical *Ficus* spp. *Journal of Nematology* 31(4):393-406.
- Céspedes, L., J. Franco y R. Montalvo. 1998. Comportamiento de diferentes especies vegetales a la invasión y desarrollo de *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935), Thorne and Allen, 1944. *Nematropica* 28:165-171.
- Cid del Prado, V. I. 1986. Morphological study of *Nacobbus* spp. including four populations from Mexico using SEM. *Journal of Nematology* 18:603.
- Cid del Prado, V. I. 1993. Variación morfológica y prueba de hospedantes a poblaciones mexicanas de *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 23(2):113.
- Cid del Prado, V. I., A. J. Cristóbal y K. Evans. 1997. Manejo de poblaciones de *Nacobbus aberrans* en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Nematropica* 27(2):103-104.
- Clark, S. A. 1967. The development and life history of the false root-knot nematode, *Nacobbus serendipiticus*. *Nematologica* 13:91-101.
- Cornejo-Quiroz, W. 1977a. Estudio de hospederos de *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 7(2):14.

- Cornejo-Quiroz, W. 1977b. Control químico de *Nacobbus aberrans* y *Globodera* spp. *Nematropica* 7(2):6.
- Costilla, M., H. Basco, y T. De Gómez. 1981. Ensayo de control del nematodo *Nacobbus aberrans* en tubérculos de papa. *Nematropica* 11(2):78-79.
- Costilla, M. A. 1985. El falso nematodo del nudo *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944 y su relación con el cultivo de papa en el noreste argentino. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán*. 62:79-97.
- Costilla, M. 1996. Physiological races, parasitism, and management of *Nacobbus aberrans* on vegetable and field crops in Argentina. *Nematropica* 26:199.
- Coyne, D.L., J. M. Nicol, and C. B. Claudius. 2007. *Practical Plant Nematology: a field and laboratory guide*. SP-IPM Secretariat, International Institute of Tropical Agriculture (IITA), Cotonou, Benin.
- Cristóbal, A. J., V. I. Cid del Prado, M. N. Marbán, G. P. Sánchez, A. G. Mora, y L. R. H. Manzanilla. 2001. Sobrevivencia de estadios biológicos de *Nacobbus aberrans* en condiciones de campo. *Nematropica* 31:229-235.
- De la Jara, A. F., F. B. Zerón, and A. S. Tovar. 1990. Malezas como posibles reservorios de *Nacobbus aberrans* en diversos cultivos de Actopan, Hidalgo, México. *Agrociencia. Serie Protección Vegetal* 1:153-157.
- Díaz-Viruliche, I., A. Pinilla, J. A. López-Pérez, y A. Bello. 2000. Biominerales y efecto biofumigante de los abonos verdes. *Nematropica* 30(2):123.
- Doucet, M. E., and J. A. DiRienzo. 1991. El género *Nacobbus* Thorne and Allen, 1944 en Argentina. 3. Caracterización morfológica y morfométrica de poblaciones de *N. aberrans* (Thorne, 1935) Thorne and Allen, 1944. *Nematropica* 21:19-35.
- Doucet, M. E., and C. N. Gardenal. 1992. The genus *Nacobbus* in Argentina. 4. Preliminary comparison of populations of *N. aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 by means of isoenzyme phenotypes. *Nematropica* 22:243-246.
- Doucet, M. E., E. L. De Ponce De León, y N. Poloni. 1997. Alteraciones histológicas inducidas por *Meloidogyne incognita* en raíces de olivo en Catamarca, Argentina. *Nematología Mediterránea* 25(2):275-277.
- Doucet, M. E., P. Lax, E. Lorenzo, C. Gallardo, and S. M. de L'Argentier. 2007. Histological observations of sedentary plant-parasitic nematodes in two varieties of Andean potato (*Solanum tuberosum* L. subsp. *andigenum*) from northern Argentina. *Nematropica* 37:121-125.
- Edongali, E. A, and H. Ferris. 1982. Varietal response to tomato to the interaction of salinity and *Meloidogyne incognita* infection. *Journal of Nematology* 14(1):57-62.
- Edongali, E. A., L. Duncan, and H. Ferris. 1982. Influence of salt concentration on infectivity and development of *Meloidogyne incognita* on tomato. *Revue de Nématologie* 5(1):111-127.
- Eguiguren-Carrion, R. 1995. Control of *Meloidogyne incognita* and *Nacobbus* sp. With *Paecilomyces lilacinus* in the greenhouse and effect of nematicides on the fungus. *Journal Biocontrol* 4:41-49.
- EPPO/CABI (European and Mediterranean Plant Protection Organization/Centre for Agricultural Bioscience International). 2012. Data sheets on Quarantine pests: *Nacobbus aberrans*. EPPO Quarantine pest-CAB International. *In: <http://www.eppo.int/QUARANTINE/listA1.htm>* Consultada 26 enero 2012.

- Equihua, P. E. A. 1977. Control químico del nematodo *Nacobbus* sp. Thorne & Allen, en el cultivo de chile. Tesis de licenciatura. Escuela Nacional de Agricultura. Departamento de Parasitología Agrícola. Chapingo, México. 54p.
- Fawole, E. 1988. Histopathology of Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) Infection on White Yam (*Dioscorea rotundata*) Tubers. *Journal of Nematology* 20(1): 23-28.
- Ferris, H. 1999. *Nacobbus aberrans*. University of California. UC Davis, California. In: <http://plpnemweb.ucdavis.edu> Consultada el 12 de marzo de 2011.
- Finetti, S. M. 1990. Histopathological changes induced by *Nacobbus aberrans* in resistant and susceptible potato roots. *Revue de Nématologie* 13:155-160.
- Franco, J., R. Montecinos, and N. Ortuño. 1992. Management strategies of *Nacobbus aberrans*. Pp. 240-248 in F. J. Gommers and P. W. Th. Maas eds. *Nematology from Molecule to Ecosystem*. European Society of Nematologists. Invergowrie, Dundee, Scotland.
- Franco, J., R. Montecinos y R. Montalvo. 1993. Tratamiento químico de tubérculos infectados por *Nacobbus aberrans* para evitar su diseminación. *Nematropica* 23(2):117.
- Franco, J. 1994. Problemas de nematodos en la producción de papa en climas templados en la región andina. *Nematropica* 24(2):179-195.
- Franco, J., N. Ortuño, R. Oros, and G. Main. 1996. Biology and management of *Nacobbus aberrans* on potato in Bolivia. *Nematropica* 26(3):204.
- Franco, J., G. Main, N. Ortuño, and R. Oros. 1997. Crop rotation: an effective component for the integrated management of *N. aberrans* in potato? *Nematropica* 27(2):110.
- Franco, J., J. Ramos, R. Oros, G. Main, y N. Ortuño. 1999a. Pérdidas Económicas Causadas por *Nacobbus aberrans* y *Globodera* spp. en el Cultivo de la Papa en Bolivia. *Revista Latinoamericana de la Papa* 11:40-66.
- Franco, J., G. Main, and R. Oros. 1999b. Trap crops as a component for the integrated management of *Globodera* spp. (potato cyst nematodes) in Bolivia. *Nematropica* 29:51-60.
- Franco, J., and G. Main. 2001. Desinfección de tubérculos semilla de papa infectados con *Nacobbus aberrans* mediante la aspersión ULV de diferentes productos químicos. *Nematropica* 31(2):132-133.
- Franco, N. F., V. I. Cid del Prado, M. E. Zavaleta y G. P. Sánchez. 2002. Aplicación de enmiendas orgánicas para el manejo de *Nacobbus aberrans* en tomate. *Nematropica* 32(2):113-124.
- Franco-Navarro, F., I. Pérez-Rodríguez, A. Doroteo-Mendoza, K. Vilchis-Martínez, M. A. Hernández-Pérez, B. González-Cornejo and J. Miranda-Damián. 2012. Experiences in the biological control of *Nacobbus aberrans* using *Pochonia chlamydosporia* in Mexico: progress, scope and things to do. *Nematropica* 42(2): 383.
- Franklin, M. T. 1959. *Nacobbus serendipiticus* n. sp., a root galling nematode from tomatoes in England. *Nematologica* 4:286-293.
- Guzmán-Plazola, R. A., Jaraba, N. J., Caswell-Chen. E., Zavaleta-Mejía, E. and Cid del Prado-Vera. I. 2006. Spatial distribution of *Meloidogyne* species and races in the tomato (*Lycopersicon sculentum* Mill.) producing region of Morelos, Mexico. *Nematropica* 36:215-229.

- Guzmán-Plazola, R. A., Hernández-Flores. B., Franco-Navarro. F., y Cadena-Hinojosa. M. 2008. Nematodos agalladores en la Vega de Metztlán, Hidalgo: Identificación, distribución espacial y relación con factores edáficos. *Nematropica* 38:47-61.
- Haydok, P. P. J., S. R. Woods, I. C. Grove, and M. C. Hare. 2006. Chemical control of nematodes. *In: Plant Nematology*. Perry R, Monees M. (Eds) CABI, UK. 370-391p.
- Heald, C. M. 1969. Pathogenicity and histopathology of *Meloidogyne graminis* infecting 'Tifdwarf' Bermudagrass roots. *Journal of Nematology* 1:31-34.
- Hernández, A. J. 2001. Respuesta de genotipos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a *Nacobbus aberrans*. Tesis Maestría en Ciencias. Instituto de Fitosanidad. Colegio de Posgraduados. Montecillo. México. 75p.
- Hyman, B. C., and T. O. Powers. 1991. Integration of molecular data with systematics of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 29:89-107.
- Hyman, B. C., and L. E. Whipple. 1996. Application of mitochondrial DNA polymorphism to *Meloidogyne* molecular population biology. *Journal of Nematology* 28:268-276.
- Ibrahim, S.K., J. G. Baldwin, P. A. Roberts, and B. C. Hyman. 1997. Genetic variation in *Nacobbus aberrans*: an approach toward taxonomic resolution. *Journal of Nematology* 29:241-249.
- Inserra, R. N., N. Vovlas, G. D. Griffin, and J. L. Anderson. 1983. Development of the false root-knot nematode, *Nacobbus aberrans*, on sugarbeet. *Journal of Nematology* 15:288-296.
- Inserra, R. N., M. Di Vito, and H. Ferris. 1984a. Influence of *Nacobbus aberrans* Densities on Growth of Sugarbeet and Kochia in Pots. *Journal of Nematology* 16(4):393-395.
- Inserra, R. N., G. D. Griffin, N. Vovlas, J. L. Anderson, and E. D. Kerr. 1984b. Relationship between *Heterodera schachtii*, *Meloidogyne hapla*, and *Nacobbus aberrans* on sugarbeet. *Journal of Nematology* 16:135-140.
- Iriarte, L., J. Franco, and N. Ortuño. 1999. Influencia de las épocas de siembra sobre la población de *Nacobbus aberrans* y el rendimiento en papa. *Fitopatología* 34:77-82.
- Jatala, P., and Golden, M. 1977. Taxonomic status of *Nacobbus* species attacking potatoes in South America. *Nematropica* 7(2): 9-10.
- Jatala, P., and R. Kaltenbach. 1979. Survival of *Nacobbus aberrans* in adverse conditions. *Journal of Nematology* 11(4):303.
- Jatala, P. 1985. El nematodo falso nodulador de la raíz: *Nacobbus aberrans*. Pp. 47-55 *en* Fitonematología Avanzada I. M. N. Marbán y J. I. Thomason, eds. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México, México.
- Jatala, P. 1986. Nematodos parásitos de la papa. Boletín de Información Técnica 8. 2ª ed. Centro internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú. 19p.
- Jatala, P., and T. Boluarte. 1993. Cytogenetic studies of 25 *Nacobbus aberrans* populations from North and South America. *Nematropica* 23(2):120.
- Jatala, P., and R. Haddad. 1993. *In vitro* studies of the life cycle of *Nacobbus aberrans* in roots of susceptible and resistant potato clones. *Nematropica* 23(2):123.

- Jeffers, D. P., and Roberts, P. A. 1993. Effect of planting date and host genotype on the root-knot nematode-*Fusarium* wilt disease complex of cotton. *Phytopathology*. 83:645-654.
- Jeyaprakash, A., H. B. Jansson, N. Marbán-Mendoza, and B. M. Zuckerman. 1985. *Caenorhabditis elegans*: lectin-mediated modification of chemotaxis. *Experimental Parasitology* 59:90-97.
- Johnson, J. D. 1971. The taxonomy and biology of a new species of *Nacobbus* (Hoplolaimidae: Nematoda) found parasitizing spinach (*Spinacia oleracea* L.) in Texas. Ph.D. thesis submitted at the Graduate College of Texas A & M University, College Station, Texas, USA. 142p.
- Johnson, J. D., and W. H. Thames. 1972. The biology of a population of *Nacobbus* (Hoplolaimidae: Nematoda) found parasitizing spinach in Texas. *Journal of Nematology* 4(4): 228.
- Jones, M. G. K. 1981. Host cell responses to endoparasitic nematode attack: structure and function of giant cells and syncytia. *Annals of Applied Biology* 97:353-372.
- Jones, B. L., and D. De Waele. 1990. Histopathology of *Ditylenchus destructor* on Peanut. *Journal of Nematology* 22(3):268-272.
- Jordaan, E. M., D. De Waele and P. J. Van Rooyen. 1989. Endoparasitic nematodes in maize roots in the Western Transvaal as related to soil texture and rainfall. *Journal of Nematology* 21(3): 356-360.
- Kerry, B. R. 1995. Ecological considerations for the use of the nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium*, to control plant parasitic nematodes. *Canadian Journal of Botany* 73:565-570.
- Koenning, S. R., S. A. Walters, and K. R. Barker. 1996. Impact of soil texture on the reproductive and damage potentials of *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne incognita* on cotton. *Journal of Nematology* 28(4):527-536.
- Lax, P., J. C. R. Dueñas, C. N. Gardenal, and M. E. Doucet. 2007. Assessment of genetic variability in populations of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae) from Argentina. *Nematology* 9:261-270.
- Lax, P., J. Rondan-Dueñas, M. G. Gaccia and M. E. Doucet. 2012. Efficiency of symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes to control a population of *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 42(2): 382.
- Lazzeri, I., R. Tacconi, and S. Palmieri. 1993. *In vitro* activity of some glucosinolates and their reaction products toward a population of the nematode *Heterodera schachtii*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41:825-829.
- Lewis, J. A., and G. C. Papavizas, 1971. Effect of sulfur containing volatile compounds and vapors from cabbage decomposition on *Aphanomyces euteiches*. *Phytopathology* 61:208-214.
- Lordello, L. G. E., A. P. L. Zamith, and O. J. Boock. 1961. Two nematodes found attacking potato in Cochabamba, Bolivia. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* 33:209-215.
- Machner, J. H. 1958. Effect of soil salinity on nematodes in citrus and papaya plantings. *Journal of the Rio Grande Valley Horticultural Society* 12:57-60.
- Maggenti A. R., and A. Hardan. 1973. The effects of soil salinity and *Meloidogyne javanica* on tomato. *Journal of Nematology* 5(4): 231–234.

- Malcolm, C. S., and W. A. Charles. 2000. Diagnosing plant diseases caused by nematodes. Capítulo III: Classification and Descriptions of Plant-Parasitic Nematodes. p21. The American Phytopathological Society. Minnesota, Estados Unidos.
- Manzanilla-López, R. H., K. Evans, and V. I. Cid del Prado. 1996. Biological and physiological characteristics of populations of *Nacobbus aberrans* from Mexico. *Nematropica* 26(3):212.
- Manzanilla-López, R. H. 1997. Studies on the characterization and bionomics of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae), Ph. D. Thesis University of Reading. U.K. 395p.
- Manzanilla-López, R. H., S. Harding, and K. Evans. 1999. Morphometric study on twelve populations of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae) from Mexico and South America. *Nematology* 1:477-498.
- Manzanilla-López, R. H., M. A. Costilla, M. Doucet, J. Franco, R. N. Inserra, P. S. Lehman, V. I. Cid Del Prado, R. M. Souza, and K. Evans. 2002. The genus *Nacobbus* Thorne and Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): systematics, distribution, biology and management. *Nematropica* 32:149-227.
- Manzanilla-López, R. H. 2010. Speciation within *Nacobbus*: consilience or controversy? *Nematology* 12(3):321-334.
- Manzanilla-López, R. H. 2012. *Pochonia chlamydosporia*: a 'multiple' approach (biology, biotechnology, agribusiness) for development of biological control agents as biopesticides that are beneficial to soil health. *Nematropica* 42(2):378-379.
- Marbán-Mendoza, N., M. B. Dicklow, and B. M. Zuckerman. 1989. Evaluation of control of *Meloidogyne incognita* and *Nacobbus aberrans* on tomato by two leguminous plants. *Revue de Nématologie* 12:409-412.
- Marban-Mendoza, N., and R. H. Manzanilla-López. 2012. Chemical and non-chemical tactics to control plant-parasitic nematodes. Pp. 729-759. *In*: Manzanilla-López R. H. and N. Marban-Mendoza (eds.). Practical plant nematology. Mundi-Prensa, Colegio de Postgraduados.
- Mareggiani, G., L. Silvestri, y J. O. Acita. 1985. Utilización de *Paecilomyces lilacinus* para el control de *Nacobbus aberrans* (Nematoda, Nacobbidae) en campo. *Fitopatología* 20:17-20.
- Mareggiani, G. S., A. Pelicano, A. Fraschina, A. Espina, and G. Zipetto. 1994. Efficacy of extracts of two plants in controlling *Nacobbus aberrans* (Nematoda: Nacobbidae). *Nematropica* 24(2):83.
- Martínez-Fuentes, R., A. Tovar-Soto, R. Torres-Coronel, y A. E. Brechú-Franco. 2009. Histopathology of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars non-host to *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944. *Nematropica* 39(2):311-317.
- Mayorga, A., and P. Jatala. 1990. Utilization of polyacrylamide gel electrophoresis for detecting differences in protein patterns of twenty *Nacobbus aberrans* populations. *Nematropica* 20:11-12.
- Méndoza-de Gives. P., E. Zavaleta-Mejía, D. Herrera-Rodríguez, and H. Quiróz-Romero. 1994. *In vitro* trapping capability of *Arthrobotrys* spp. of infective larvae

- of *Haemonchus contortus* and *Nacobbus aberrans*. Journal of Helminthology 68:223-229.
- Montalvo, R., J. Franco, and R. Montecinos. 1994. Effect of crop rotation on *Nacobbus aberrans* and yield of potato cv. Waych'a. Nematropica 24(2):84.
- Montes, B. R. 2000. Nematología Vegetal en México. Investigación documental. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Cd. Obregón, México. 98p.
- Montoya, F. 1994. Rango de hospederos del nematodo falso agallador *Nacobbus aberrans* (Thorne 1935) Thorne y Allen 1944, en los municipios de Villa de Coss, Panuco y Guadalupe, Zacatecas. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 68p.
- Norris, R. F., C. E. P. Caswell, and M. Kogan. 2003. Concepts in Integrated Pest Management. 586p.
- Norton, D. C. 1978. Ecology of plant-parasitic nematodes. New York: John Willey Sons, Inc. 268pp.
- O'Bannon, J. H., and H. W. Reynolds. 1961. Root-knot nematode damage and cotton yields in relation to certain soil properties. Soil Science 92:384-386.
- OEPP/EPPO (Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes/European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2009. *Nacobbus aberrans* sensu lato. Bulletin OEPP/EPPO. PM 7/5 (2). Bulletin 39:376-381.
- Ortuño, N., J. Franco, J. Ramos, R. Oros, G. Main, R. Montecinos. 2005. Desarrollo del manejo integrado del nematodo rosario de la papa *Nacobbus aberrans* en Bolivia. Documento de trabajo No. 26. Fundación PROINPA-Proyecto PAPA ANDINA. Cochabamba, Bolivia. 124p.
- Pérez-Rodríguez, I., F. Franco-Navarro, I. Cid del Prado-Vera, E. Zavaleta-Mejía. 2011. Control de *Nacobbus aberrans* en chile ancho (*Capsicum annuum* L.) mediante el uso combinado de enmiendas orgánicas, hongos nematófagos y nematicidas. Nematropica 41:122-129.
- Powers, T. O., T. C. Todd, A. M. Burnell, P. C. B. Murray, C. C. Fleming, A. L. Szalanski, B. A. Adams, and T. S. Harris. 1997. The rDNA internal transcribed spacer region as a taxonomic marker for nematodes. Journal of Nematology 29:441-450.
- Powers, T.O. 2004. Nematode molecular diagnostics: from bands to barcodes. Annual Review of Phytopathology 42:367-383.
- Prasad, S. K., and J. M. Webster. 1967. Effect of temperature on the rate of development of *Nacobbus serendipiticus* in excised tomato roots. Nematologica 13:85-90.
- Prot, J. C., and Van Gundy, S. D. 1981. Effect of Soil Texture and the Clay Component on Migration of *Meloidogyne incognita* Second-stage Juveniles. Journal of Nematology 13(2):213-217.
- Quimí, V. H. 1981a. Ciclo biológico y comportamiento de *Nacobbus aberrans*. Nematropica 11(2):86.
- Quimí, V. H. 1981b. Estudio histopatológico del parasitismo de *Nacobbus aberrans*. Nematropica 11(2):87.
- Ramírez-Suárez, A. 2011. Biology, systematics, phylogenetic analysis and DNA character-based species diagnosis of the False Root-Knot nematode *Nacobbus*

- aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen 1944 (Nemata:Pratylenchidae). Dissertations Theses. The University of Nebraska-Lincoln. USA. 157p.
- Reid, A.P., L. R. H. Manzanilla, and D. J. Hunt. 2003. *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae); a nascent species complex revealed by RFLP analysis and sequencing of the ITS-rDNA region. *Nematology* 5:441-451.
- Robbins R. T., and K. R. Barker. 1974. The effects of soil type, particle size, temperature, and moisture on reproduction of *Belonolaimus longicaudatus*. *Journal of nematology* 6:1-6.
- Robbins, R. T. 1982. Phytoparasitic nematodes of non-cultivated habitats in Arkansas. *Journal of Nematology* 14:466-467.
- Robinson, A. F., C. M. Heald, S. L. Flanagan, W. H. Thames, and J. Amador. 1987. Geographical distribution of *Rotylenchulus reniformis*, *Meloidogyne incognita*, and *Tylenchulus semipenetrans* in the lower Rio Grande valley as related to soil texture and land use. *Annals of Applied Nematology* 1:20-25.
- Rodríguez-Kabana, R., Morgan-Jones, G., and Chet, I. 1987. Biological control of nematodes: Soil amendments and microbial antagonist. *Plant and soil* 100:237-247.
- Román, J., y Acosta, N. 1984. Nematodos: Diagnóstico y combate. Universidad de Puerto Rico. Mayagüez, Puerto Rico. 29p.
- Rosso, L., A. De Candia, P. Leonetti, and A. Ciancio. 2004. Histopathological changes caused by *Meloidogyne incognita* on almond (*Prunus amygdalus*). *Nematropica* 34(2):257-261.
- Sarah, J. L., B. Osséni, and R. Hugon. 1991. Effect of soil pH on development of *Pratylenchus brachyurus* populations in pineapple roots. *Nematropica* 21(2): 211-216.
- Santa Cruz, V. H., y M. N. Marbán. 1986. Respuesta del cultivo de alegría *Amaranthus hypochondriacus* a niveles iniciales de infestación del nematodo *Nacobbus aberrans*. Pp. 193-203. *In: El amaranto Amaranthus spp. (Alegría) su cultivo y aprovechamiento*. Chapingo, México.
- Schuster, M. L., R. Sandstedt, and L. W. Estes. 1964. Starch formation induced by a plant parasitic nematode. *Science* 143:1342-1343.
- Sergent, E. 1999. El cultivo del mango (*Mangifera indica* L.): botánica, manejo y comercialización. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 315p.
- Shane W. W., and K. R. Barker. 1986. Effects of temperature, plant age, soil texture, and *Meloidogyne incognita* on early growth of soybean. *Journal of Nematology* 18(3):320-327.
- Sher, S. A. 1970. Revision of the Genus *Nacobbus* Thorne and Allen, 1944 (Nematoda: Tylenchoidea). *Journal on Nematology* 2(3):228-235.
- Silva, J. J. 1989. Manejo de *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne and Allen, 1944, Asociado al Cultivo del Frijol en el Valle de Valsequillo, Puebla. Tesis, Maestro en Ciencias (Fitopatología). Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 68 pp.
- Slack, D. A., R. D. Riggs, and M. L. Hamblen. 1972. The effect of temperature and moisture on the survival of *Heterodera glycines* in the absence of a host. *Journal of Nematology* 4(4):263-266.

- Souza, R. M., and J. G. Baldwin. 1998. Changes in esophageal gland activity during the life cycle of *Nacobbus aberrans* (Nemata: Pratylenchidae). *Journal of Nematology* 30:275-290.
- Souza, R.M., and J. G. Baldwin. 2000. Differential behaviour of the survival stages of *Nacobbus aberrans* (Nemata: Pratylenchidae) under sub-optimal environments. *Nematologica* 2:211-215.
- Sosa, M. C., y G. V. Muñoz. 1973. Respuesta de dos variedades de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) a siete niveles de población de *Nacobbus serendipiticus* (Nematoda: Nacobbidae) *Nematropica* 3(1):16-17.
- Sosa, M. C., y O. S. González. 1973. Comportamiento de tres variedades de chile (*Capsicum annuum*) a cinco niveles de inoculo de *Nacobbus serendipiticus* (Nematoda: Nacobbidae). *Nematropica* 3:14-15.
- Starr, J. L., C. M. Heald, A. F. Robinson, R. G. Smith, and J. P. Krausz. 1993. *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* associated with soil textures from some cotton production areas of Texas. *Journal of Nematology* 25(4S):895-899.
- Steele, A. E. 1984. Nematode parasites of sugarbeet. Pp. 507-569 in W. R. Nickle, ed. *Plant and Insect Nematodes*. New York: Marcel Dekker.
- Tarjan, A. C. 1971. Migration of three pathogenic citrus nematodes through two Florida citrus soils. *Soil and Crop Science Society of Florida Proceedings* 31:253-255.
- Téliz, O. D. 2000. El manejo integrado del aguacate. Pp. 185-198. In: Téliz, O. D. (ed.). *El aguacate y su manejo*. Ediciones Mundi-Prensa. México, D. F.
- Thorne, G. 1935. The sugar beet nematode and other indigenous nematode parasites of shadscale. *Journal of Agricultural Research* 51:509-514.
- Thorne, G., and M. W. Allen. 1944. *Nacobbus dorsalis*, nov. gen. nov. spec. (Nematoda: Tylenchidae) producing galls on the roots of alfalfa, *Erodium cicutarium* (L.) L'Hér. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington* 11:27-31.
- Thorne, G.D., and Schuster, M.L. 1956. *Nacobbus batatiformis* n. sp. (Nematoda: Tylenchidae), producing galls on the roots of sugar beets and other plants. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 23:128-134.
- Toledo, R. J. C., M. C. Sosa, y M. E. Zavaleta. 1993. Gama de hospederos de cinco poblaciones mexicanas de *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 23:105-108.
- Tordable, M. del C., P. Lax and M. E. Doucet. 2008. Histopathological analysis of tubers of two varieties of Andean potato (*Solanum tuberosum* subsp. *andigenum*) infected by species of the genus *Meloidogyne*. *Nematropica* 38:95-103.
- Tordable, M. del C., P. Lax, M. E. Doucet, O. Luque, and N. Rojas. 2010. Histopathological study in *Salsola kali* roots infected by *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 40:105-109.
- Villa-Briones, A., E. Zavaleta-Mejía, M. Vargas-Hernández, O. Gómez-Rodríguez, y S. Ramírez-Alarcón. 2008. Incorporación de vermicomposta en el manejo de *Nacobbus aberrans* en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 14(3):249-255.
- Volcy, E. C. 1998. Nematodos. Diversidad y parasitismo en plantas. Tomo II. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 182p.

- Vovlas, N., I. Moreno, and R. N. Inserra. 1986. Histopathology of root gall induced in tomato by *Globodera pallida*. *Journal of Nematology* 18(2): 267-269.
- Vovlas, N., A. I. Nico, F. De Lucha, C. De Giorgi, and P. Castillo. 2007. Diagnosis and molecular variability of an Argentinean population of *Nacobbus aberrans* with some observations on histopathology in tomato. *Journal of Nematology* 39:17-26.
- Waeyenberge, L., A. Ryss, M. Moens, J. Pinochet, and T. C. Vrain. 2000. Molecular characterisation of 18 *Pratylenchus* species using rDNA Restriction Fragment Length Polymorphism. *Nematology* 2: 135–142.
- Walters, S. A., T. C. Wehner, M. E. Daykin, and K. R. Barker. 2006. Penetration rates of root-knot nematodes into *Cucumis sativus* and *C. metuliferus* roots and subsequent histological changes. *Nematropica* 36:231-242.
- Yáñez-Juárez, G. M., E. Zavaleta-Mejía, C. Flores-Revilla, J. J. Chávez-Alfaro and R. Valdivia-Alcalá. 2001. Management of Wilting (*Phytophthora capsici* Leo.), Root Galling (*Nacobbus aberrans* Thorne and Allen), and Virosis in Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 19:40-48.
- Yin, K. C., and Z. X. Feng. 1981. The investigation of plant nematodes. *Acta Phytophylactica-Sinica* 8:122-123.
- Zamudio, G. V. 1983. Nematode control on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in the Valsequillo Valley, Puebla, Mexico. *Nematropica* 13(2):123.
- Zamudio, G. V. 1987. Evaluación de la resistencia de colecciones y variedades comerciales de Tomate (*Lycopersicon* spp.) a *Nacobbus aberrans* Thorne y Allen. Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 88p.
- Zamudio, G. V., A. Carballo, y M. N. Marbán. 1990. Gama de hospedantes y evaluación del daño de *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944. en hortalizas comerciales. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 8:9-12.
- Zavaleta-Mejía, E., y M. I. R. Rojas. 1988. Efecto de la incorporación de residuos de crucíferas sobre fitopatógenos del suelo. I. Efecto de la incorporación de col (*Brassica oleracea* L.) sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood. *Revista Mexicana de Fitopatología* 6:166-171.
- Zavaleta-Mejía, E. and Gómez, R. O. 1995. Effect of *Tagetes erecta* L.-Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) intercropping on some tomato pests. *Fitopatología* 30:35-45.

CAPÍTULO II

DISTRIBUCIÓN Y ABUNDANCIA DE *Nacobbus aberrans* EN GUANAJUATO Y MICHOACÁN, MÉXICO

Resumen

Se analizaron la distribución y abundancia de *Nacobbus aberrans* en la región centro del Bajío mexicano y su asociación con las características físico-químicas del suelo. Se recolectaron muestras de suelo y raíces de diferentes cultivos hortícolas en 14 y 16 municipios de Guanajuato y Michoacán, respectivamente. Del suelo se hizo la extracción de nematodos y se determinaron sus propiedades físico-químicas. Del material vegetal se evaluó el nivel de daño inducido por *N. aberrans*. El nematodo se encontró en los municipios de Celaya, Romita y San José Iturbide (Guanajuato), y en Tanhuato, Yurécuaro y Pajacuarán (Michoacán) asociado a los cultivos de tomate, chile, calabacita, pepino y jitomate induciendo agallamiento del 10 al 100%. Los sitios favorables para su distribución presentaron contenido bajo a medio de materia orgánica, proporción de limo del 20-54%, 18-62% de arena y pH neutro a medianamente alcalino. Los mapas interpolativos, generados a partir del análisis de factores de las variables seleccionadas mediante componentes principales, mostraron que las zonas hortícolas evaluadas presentaron diferentes grados de riesgo para la ocurrencia de *N. aberrans*. El estado de Guanajuato presentó tres zonas de mayor vulnerabilidad a la distribución del nematodo con base en la proporción de limo y pH del suelo; mientras que en Michoacán, los municipios de Tanhuato, Yurécuaro, Ecuandureo, Cojumatlán de Regules, La Piedad e Ixtlán presentaron las condiciones edáficas más favorables para la ocurrencia de este nematodo, principalmente por su contenido de materia orgánica, proporción de limo y arena en el suelo.

Palabras clave: *Nacobbus aberrans*, Bajío mexicano, características edáficas, componentes principales, mapas interpolativos de riesgo.

CHAPTER II

DISTRIBUTION AND ABUNDANCE OF *Nacobbus aberrans* IN GUANAJUATO AND MICHOACAN, MEXICO

Abstract

They were analyzed *Nacobbus aberrans* distribution and abundance, and its association with soil physicochemical characteristics. Root and soil samples from different vegetable crops were collected in 14 and 16 counties of Guanajuato and Michoacán, respectively. They were done nematode extraction and soil physicochemical characterization, and root galling was assessed for plant damage as well. *N. aberrans* was found in Celaya, Romita and San José Iturbide (Guanajuato), and in Tanhuato, Yurécuaro and Pajacuarán (Michoacán) associated with “tomatillo” (*Physalis ixocarpa*), pepper (*Capsicum annuum*), zucchini (*Cucurbita pepo*), cucumber (*Cucumis sativus*) and tomato (*Solanum lycopersicum*) inducing a root galling ranging from 10-100%. The most favorable conditions for *N. aberrans* occurrence were those with a low to medium organic matter content, a 20-54% of lime, 18-62% of sand, and neutral to moderately alkaline pH. Based on the interpolative maps, Guanajuato showed three most vulnerable areas to *N. aberrans* based on the proportion of silt and soil pH; while in Michoacán, the counties of Tanhuato, Yurecuaro, Ecuandureo, Cojumatlan de Regules, La Piedad and Ixtlan showed the best soil conditions for occurrence of this nematode, such as organic matter content, lime and sand soil proportion.

Keywords: *Nacobbus aberrans*, Mexican Bajío, soil characteristics, principal components and interpolative risk maps.

2.1. INTRODUCCIÓN

Los nematodos constituyen uno de los componentes más importantes de la fauna del suelo (Bongers y Bongers, 1998), excediendo el millón de especies por metro cuadrado (Platt, 1994), y ubicándose en al menos cinco grupos tróficos (Yeates *et al.*, 1993) como consumidores primarios, secundarios y/o terciarios (Wasilewska, 2004). A nivel global, se tienen reportadas unas diez mil especies de nematodos de vida libre y poco más de cuatro mil fitonematodos (Hammond, 1992; Hugot *et al.*, 2001; Esquivel, 2003), los cuales representan el grupo de organismos más conocidos debido al daño que ocasionan a los cultivos. Entre éstos, el género *Nacobbus* incluye especies endoparásitas sedentarias que son endémicas de Norte y Suramérica. Las hembras maduras establecen sitios permanentes de alimentación e inducen agallas en las raíces de sus hospedantes. Se ha reportado predominantemente en ambientes secos y semiáridos, y en altitudes altas; posee una alta capacidad reproductiva y una gama de hospedantes que incluye 84 especies cultivadas y no cultivadas pertenecientes a 18 familias botánicas, lo que lo convierte en un patógeno importante y de difícil manejo, debido a que bajo condiciones ambientales favorables una sola hembra puede producir de 37-833 huevos (Sher, 1970; Manzanilla-López, 1997; Franco *et al.*, 1999; Manzanilla-López *et al.*, 2002).

N. aberrans está adaptado a un amplio rango de condiciones climáticas y su ciclo de vida está fuertemente influenciado por la temperatura (Prasad y Webster, 1967; Alarcón y Jatala, 1977). Sin embargo, muchos aspectos de la ecología de este patógeno continúan pobremente entendidos, como lo son el agrupamiento y/o la distribución espacial de las poblaciones en un área geográfica determinada, lo que ha causado problemas sin resolver en el muestreo debido a que una o varias especies se pueden agrupar en un solo lugar. Tal agregación está en función del patrón de la distribución espacial del hospedante actual o previo, de la morfología y distribución de las raíces, de la presencia de microclimas en el suelo, de cambios ambientales, de las prácticas de manejo del cultivo (siembra en hilera y labranza mínima), y de la biología misma del nematodo (hábitos alimenticios, estrategias reproductivas). Pocos son los estudios que se han llevado a cabo sobre la distribución regional de nematodos (Norton, 1987; Volcy, 1998; Guzmán-Plazola *et*

al., 2006; 2008; Sögüt y Devran, 2011; Singh *et al.*, 2012), por lo que este tipo de análisis podrían aportar elementos que expliquen el papel de estos organismos en los sistemas agrícolas.

En México, Brunner de Magar (1967) hizo el primer reporte de *Nacobbus* en plantas de chile en Chapingo, Texcoco, Estado de México, denominándolo *N. serendipiticus* (= *N. aberrans*). Actualmente, este nematodo está presente en los estados de Coahuila, Distrito Federal, Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Morelos, Puebla, Oaxaca, San Luis Potosí, Tlaxcala y Zacatecas, asociado principalmente a los cultivos de chile, tomate y frijol (Montes-Belmont, 2000). En 1973 y 1992 se reportó en los estados de Guanajuato y Michoacán, respectivamente, asociado al cultivo de jitomate (Sosa-Moss y Muñoz, 1973; Montes-Belmont, 2000).

Las condiciones edáficas que favorecen el desarrollo y presencia de *N. aberrans* son suelos de textura fina, mediana y arenosos; pobres en materia orgánica (1.5%) y de moderadamente ácidos (pH 5.7-6.1) a alcalinos (7.6-7.8) (Costilla, 1985; Yáñez-Juárez *et al.*, 2001). En México, *N. aberrans* se encontró prosperando en suelos pobres con capas de "caliche" (porosos, permeables y salinos), como los del Valle del Mezquital en el estado de Hidalgo, y en suelos arenosos (tipo xerosol) en Tecamachalco, Puebla (Manzanilla-López *et al.*, 2002). Adicionalmente, se ha reportado que el desarrollo de esta especie se ve favorecido en suelos arenosos y limo arenosos con temperaturas de 15-23°C y con humedad del 19% (Ferris, 1999).

Las características fisicoquímicas del suelo pueden influir de forma importante en la migración (Tarjan, 1971), tasa reproductiva (Barker y Weeks, 1991; Koenning *et al.*, 1996), nivel de infestación (Robinson *et al.*, 1987; Starr *et al.*, 1993) y en el nivel de daño al cultivo (Edongali y Ferris, 1982; Barker y Weeks, 1991), pero no se sabe mucho sobre sus efectos en *N. aberrans*, por lo que resulta de suma importancia conocer y entender las interacciones con estas características edáficas para desarrollar programas de manejo para este nematodo.

Con base en lo anterior y debido a que en México la información relacionada con la distribución espacial de fitonematodos se limita a especies y razas de *Meloidogyne* en los estados de Morelos (Guzmán-Plazola *et al.*, 2006) e Hidalgo (Guzmán-Plazola *et al.*, 2008), los objetivos de esta investigación fueron: efectuar una exploración *in*

situ de *N. aberrans* en los estados de Guanajuato y Michoacán; analizar su distribución regional y determinar su asociación con las características fisicoquímicas del suelo.

2.2. HIPÓTESIS

- 1) *N. aberrans* está presente en los estados de Guanajuato y Michoacán afectando cultivos de importancia agrícola y económica.
- 2) La distribución geográfica de *Nacobbus aberrans* en las regiones de estudio está influenciada por el patrón de cultivos y por la textura, pH, conductividad eléctrica y contenido de materia orgánica en el suelo.

2.3. MATERIALES Y MÉTODOS

2.3.1. Localización del área de estudio.

El estudio se llevó a cabo en los estados de Guanajuato y Michoacán, localizados en la parte central y centro-oeste de la República Mexicana entre los paralelos 21° 52' 09" y 17° 53' 50" de latitud norte y los meridianos 99° 41' 06" y 103° 44' 49" de longitud oeste, respectivamente. Guanajuato (30,608 Km²) y Michoacán (58,836.95 km²), representan el 1.6 y 3.04% del territorio nacional, ocupando el lugar 22 y 16 en extensión, respectivamente (Flores y Scott, 2000; INEGI, 2005).

2.3.2. Muestreo.

Se hicieron dos muestreos exploratorios en el estado de Guanajuato y uno en Michoacán, abarcando 14 y 16 municipios, lo cual representa el 30.4% y 15% del total de los municipios de estos estados, respectivamente. Se seleccionaron los principales municipios productores de hortalizas con base a la superficie destinada a la siembra de estos cultivos y el historial nematológico de las parcelas, según información proporcionada por el personal de los Comités de Sanidad Vegetal Estatales. Se muestrearon parcelas con diferentes especies hortícolas establecidas en etapas avanzadas de desarrollo (floración y amarre de frutos) en los ciclos agrícolas 2010 y 2011 para Guanajuato y Michoacán, respectivamente.

La determinación del número de parcelas y muestras recolectadas en el estado de Guanajuato se hizo en función de la logística de los programas de trabajo del Comité de Sanidad Vegetal del Estado de Guanajuato (CESAVEG) (Cuadro 2.1).

Cuadro 2.1. Municipios y número de muestras recolectadas en el estado de Guanajuato (Año agrícola otoño-invierno+primavera-verano 2010. Riego+Temporal).

MUNICIPIOS	SUP. SEMBRADA (ha)[¶]	NÚMERO DE MUESTRAS
San Felipe	14880.00	4
León	5938.00	4
Romita	4840.50	1
Pénjamo	4153.00	6
Salamanca	3865.24	5
San José de Iturbide	5143.60	1
Celaya	3829.00	2
Cuerámara	5143.60	3
Silao	2676.20	2
Abasolo	2403.00	7
Valle de Santiago	2034.00	3
Jaral del Progreso	803	1
Irapuato	1605.48	1
Cortázar	2204.00	1
TOTAL	59,518.62	41

[¶]Se incluyen los cultivos de acelga, ajo, apio, betabel, brócoli, cacahuete, calabacita, cebolla, chile verde, chícharo, cilantro, repollo (col), col de brúcelas, coliflor, ejote, fríjol, garbanzo forrajero y de grano, jícama, lechuga, melón, papa, pepino, rábano, sandía, tomate rojo y verde, y zanahoria. SIAP (2010).

El número de parcelas muestreadas en el estado de Michoacán se obtuvo por ponderación mediante la siguiente ecuación (Mora-Aguilera, 2000; Ceja *et al.*, 2008), considerando parámetros de superficie destinada al cultivo de hortalizas, textura y materia orgánica en suelo, y precipitación pluvial (Cuadro 2.2):

$$n_i = N \left(\frac{(ISC_{wi})(T_{wi})(MO_{wi})(PP_{wi})}{\sum_{i=1}^4 [(ISC_{wi})(T_{wi})(MO_{wi})(PP_{wi})]} \right)$$

n_i = Número de unidades (muestras de suelo) muestréales por municipio- i , e $i = 1, \dots, 4$; N = Número total de unidades que pueden analizarse en el laboratorio (50); ISC_{wi} = Ponderación por la superficie destinada al cultivo de hortalizas- i , $w = 1, \dots, 3$; T_{wi} = Ponderación por la textura del suelo- i , $w = 1, \dots, 2$; MO_{wi} = Ponderación por la materia orgánica en el suelo- i , $w = 1, \dots, 2$; y PP_{wi} = Ponderación por la precipitación pluvial en el municipio- i , $w = 1, \dots, 3$. El valor más alto de ponderación indica mayor inductividad epidémica.

Los sitios de muestreo de cada municipio se seleccionaron al azar y las muestras se recolectaron a intervalos uniformes siguiendo un patrón en forma de V a través de la parcela (Cid del Prado *et al.*, 2001; Guzmán-Plazola *et al.*, 2008).

Las muestras de suelo se recolectaron de la rizosfera a una profundidad de 15-20 cm. Se tomaron 10 submuestras por sitio de muestreo de aproximadamente 100-150 g cada una para obtener una muestra compuesta de 1-1.5 Kg (McSorley, 1987; Cid del Prado *et al.*, 2001), las cuales se llevaron al laboratorio de nematodos fitopatógenos de la Universidad Autónoma Chapingo. También se recolectaron las raíces de 10 plantas para evaluar la presencia de agallas, mediante conteo directo, y hacer la extracción de nematodos.

Se determinaron las coordenadas geográficas en el centro de cada parcela muestreada con un geoposicionador marca Garmin modelo GPSmap® 60CSx para hacer el análisis geoestadístico y los mapas interpolativos de *N. aberrans*.

Cuadro 2.2. Factores de ponderación y número de muestras recolectadas en el estado de Michoacán en el ciclo agrícola 2011.

MUNICIPIOS	ISC ^a	TEXTURA	MO [¶]	PP (MM) ^{¶¶}	PRODUCTO DE FACTORES	NÚMERO DE MUESTRAS
Briseñas	244(1) ^b	Arcillosa(1) ^c	MA(1) ^d	600(3) ^e	1x1x1x3=3	2
Chavinda	960(1)	Franco arenosa(2)	B(2)	800(2)	1x2x2x2=8	5
Ixtlán	2220(3)	Arcillosa(1)	MA(1)	800(2)	3x1x1x2=6	4
Jacona	264(1)	Arcillosa(1)	MA(1)	800(2)	1x1x1x2=2	1
Jiquilpan	2065.5(3)	Arcillosa(1)	MA(1)	826(2)	3x1x1x2=6	4
M. Castellanos	550(1)	Arcillosa(1)	MA(1)	1000(1)	1x1x1x1=1	1
Pajacuarán	4331(3)	Arcillosa(1)	MA(1)	700(3)	3x1x1x3=9	6
Cojumatlán	1009(2)	Arcillosa(1)	MA(1)	800(2)	2x1x1x2=4	3
Sahuayo	2777.5(3)	Arcillosa(1)	MA(1)	709(2)	3x1x1x2=6	4
Tangamandapio	638(1)	Arcillosa(1)	MA(1)	700(3)	1x1x1x3=3	2
Tangancícuaro	390(1)	Arcillosa(1)	MA(1)	800(2)	1x1x1x2=2	1
Tlazazalca	150(1)	Arcillosa(1)	MA(1)	954(2)	1x1x1x2=2	1
V. Carranza	4702(3)	Arcillosa(1)	MA(1)	700(3)	3x1x1x3=9	6
Villamar	2925.5(3)	Arcillosa(1)	MA(1)	900(2)	3x1x1x2=6	4
V. Hermosa	2585(3)	Arcillosa(1)	MA(1)	800(2)	3x1x1x2=6	4
Zamora	2384(3)	Arcillosa(1)	MA(1)	1000(1)	3x1x1x1=3	2
TOTAL	28195.5				76	50

^a ISC= Índice superficie-cultivo (calculada con datos de superficie por cultivo agrupados por familia botánica). Datos de superficie tomados del SIAP (2010). Considera cultivos hortícolas hospedantes.

^{b, c, d y e} Factores de ponderación de acuerdo a superficie (ha): 1= ≤1000, 2= 1001-2000, 3= >2000; Textura: 1= Arcillosa, 2= Arenosa; Materia orgánica (MO): 1= MA, 2= B; Precipitación pluvial (PP): 1= >900, 2= 701-900, 3= ≤700, respectivamente.

[¶] Contenido Medio-alto (MA) y bajo (B) de MO (Castellanos *et al.*, 2000).

^{¶¶} A mayor precipitación mayor supresividad en los suelos dada por el contenido de humedad y organismos supresivos (Brown, 1933; Rhoades, 1964; Duncan, 1991; Sotomayor *et al.*, 1999).

2.3.3. Extracción de nematodos.

La extracción de nematodos de las muestras de suelo se hizo mediante la técnica de tamizado de Cobb (Cobb, 1918). Los nematodos se identificaron con base en las características morfológicas descritas por Sher (1970) y Manzanilla-López *et al.* (2002), y se cuantificaron en contadores de 1cc de capacidad en un microscopio compuesto a 10X (marca Olympus modelo CX31).

Para confirmar la presencia de *N. aberrans*, se hizo la extracción de los especímenes de las raíces vegetales. Se pesaron 10g de raíces y se colocaron en una cámara nebulizadora por 72h, programada para generar nebulización de 5 segundos cada 5 minutos. Los nematodos recuperados se identificaron como se indicó anteriormente. Los suelos en donde se encontró *N. aberrans* se mantuvieron en un invernadero a 25°C ±5°C para incrementar la población del nematodo en plantas de jitomate (*Solanum lycopersicum*) cv. Río Grande de 30 días de edad, y contar con una fuente permanente de inóculo para estudios subsecuentes.

2.3.4. Características fisicoquímicas del suelo.

Las muestras de suelo se prepararon de acuerdo con las especificaciones establecidas en la NOM-021-SEMARNAT-2000 (registro, secado, molienda, tamizado, homogeneización y pesaje) (SEMARNAT, 2002).

El pH y la conductividad eléctrica (CE) se determinaron en una suspensión de suelo en agua (1:2) con un potenciómetro y conductivímetro, respectivamente. Los valores de CE se ajustaron de acuerdo a su equivalencia con la CE del extracto de saturación (Castellanos *et al.*, 2000).

La textura del suelo y el contenido de materia orgánica se determinaron por los métodos del hidrómetro de Bouyoucos (Método AS-09-1998) y el de combustión húmeda propuesta por Walkley y Black (Método AS-07-1998), respectivamente (SEMARNAT, 2002). La clasificación del pH, CE y contenido de materia orgánica en el suelo se hizo de acuerdo con la NOM-021-SEMARNAT-2000 y USDA (1999).

La textura del suelo se determinó con los porcentajes de limo, arena y arcilla correspondiente con el triángulo de texturas (USDA, 1999).

2.3.5. Análisis estadístico.

2.3.5.1. Análisis de componentes principales.

Se usaron dos matrices de datos separadas en función del estado evaluado (Guanajuato y Michoacán) y se analizaron de manera independiente debido a que los criterios de muestreo fueron diferentes para cada estado.

La matriz de datos para Guanajuato y Michoacán se construyó con 41 y 48 sitios de muestreo, respectivamente y en ambos estados se utilizaron 9 variables descriptivas (cultivo, porcentaje de agallamiento, juveniles, arcilla, arena, limo, pH, materia orgánica y CE).

El número de variables descriptivas del conjunto original de datos (Cuadro 2.3 y 2.4) se redujo mediante el análisis de componentes principales (ACP). Este nuevo conjunto de variables permitió caracterizar el conjunto original de datos, sin perder su capacidad explicatoria, mediante la eliminación de variables con un peso relativamente alto de correlación (Hawkins y Fatti, 1984; Jolliffe, 2002).

La reducción del conjunto original de variables se realizó siguiendo la metodología propuesta por Mora-Aguilera y Campbell (1997). Inicialmente se analizó la matriz de correlación del conjunto original de datos y la estructura de componentes principales (CPs), estimada con el procedimiento PROC PRINCOMP, para detectar el grado de colinealidad entre las variables. Se consideraron las variables menos correlacionadas dentro del grupo para evitar el efecto de colinealidad en la estimación de varianzas y en los coeficientes para el ACP. Este grupo de variables se evaluó con ACP para determinar el número de CPs a seleccionar usando el criterio de varianzas parciales altas ($\lambda \geq 0.7$, $\lambda = \text{eigenvalue}$) (Jolliffe, 2002) y el porcentaje acumulado de varianza total explicada por los CPs (una varianza acumulada de 70-90% es deseable). La selección preliminar de las variables asociadas a los CPs que se eligieron se hizo mediante el criterio de CPs mayores ($\lambda \geq 0.7$) y menores ($\lambda \leq 0.7$) analizando los *eigenvectors* de la matriz de correlación (Hawkins y Fatti, 1984). Se seleccionaron las variables con pesos absolutos altos en un solo *eigenvector* para representar el CP respectivo, siempre y cuando éste no represente un CP de la misma categoría (mayor o menor). Las variables asociadas a CPs menores se eliminaron por correlacionarse con otras variables o por ser irrelevantes en la caracterización de la estructura de los datos. Posteriormente, se hizo la rotación de CPs mediante el procedimiento PROC FACTOR seleccionando las variables con pesos absolutos altos asociadas a los factores. Finalmente, se analizaron las gráficas biplot de CPs mayores considerando aquellas variables que

presentaron vectores largos y correlaciones bajas (ángulos diferentes a 180° y 0°) (SAS Institute, 2011a; Gabriel, 1971).

2.3.5.2. Análisis de conglomerados.

Se clasificaron los sitios de muestreo en función de las características fisicoquímicas del suelo y la incidencia de *N. aberrans*, mediante el análisis clúster (AC) de los componentes principales asociados a las variables seleccionadas en el ACP. Dicho análisis se llevó a cabo mediante el método de agrupamiento AVERAGE del procedimiento CLUSTER, seguido del procedimiento TREE y PLOT de SAS para generar el diagrama de agrupamiento (dendrograma). Los dendrogramas se cortaron en el rango más alto del índice de similaridad para conseguir la mejor definición del grupo (Mora-Aguilera *et al.*, 1996). Se usaron los criterios estadísticos de conglomerado cúbico (CCC), pseudo F estadística (PFE) y pseudo t^2 (PT^2) para seleccionar el número de conglomerados (SAS Institute, 2011b).

2.3.5.3. Determinación del índice multivariado.

El índice multivariado (IM) se utilizó para generar los mapas interpolativos de la potencial ocurrencia de *N. aberrans* con base en las características edáficas y la presencia de *N. aberrans*. Se aplicaron las ecuaciones 1 y 2 con los valores del análisis de factores obtenidos mediante el procedimiento PROC FACTOR de las variables que se seleccionaron a partir del análisis de CPs:

$$\text{Ecuación 1.....} \quad IM = NCPs [(Factor 1)(VpCp 1) + \dots + (Factor n)(VpCp n)]$$

$$\text{Ecuación 2.....} \quad IR = \frac{1}{IM}$$

Donde: **NCPs** = Número de componentes principales.

VpCp = Varianza proporcional del componente principal, 1,...n.

IR = Índice relativo.

La generación de los mapas interpolativos se hizo con el software ArcGis® 9.2 (ESRI, 2003) mediante la interpolación espacial de la variable Índice Multivariado

Relativo (IMR) por el método de proyección geoestadística Inverso de la Distancia al Cuadrado (IDW). Para ello, se emplearon puntos de referencia con fines de ajustar la proyección al total del área estatal. La interpolación del estado de Guanajuato se hizo por el método de clasificación por *Quantiles* considerando siete clases, mientras que la de Michoacán se hizo por el método *Natural Breaks (Jenks)*, debido a la baja cantidad de sitios muestreados y porque éstos se concentraron principalmente en los municipios de Tanhuato y Yurécuero.

2.4. RESULTADOS

2.4.1. Estado de Guanajuato.

2.4.1.1. Muestreo y características fisicoquímicas del suelo.

Se recolectaron 41 muestras edáficas y vegetales de 14 municipios (Cuadro 2.3). Los principales cultivos muestreados pertenecen a las familias Solanaceae (jitomate, chile, tomate verde), Fabaceae (alfalfa, chícharo, cacahuate, jícama, garbanzo, camote), Cucurbitaceae (calabaza), Brassicaceae (brócoli, col), Liliaceae (cebolla, esparrago), Apiaceae (zanahoria, cilantro, apio) y Asteraceae (lechuga, napa).

El porcentaje del contenido de materia orgánica (MO) presentó un rango del 1.08 - 4.57, lo que corresponde a suelos con bajo a alto contenido de MO, respectivamente. El 83% de los sitios muestreados presentaron contenido medio (1.6-3.5), mientras que el 10 y 7% contenido bajo y alto, respectivamente (Cuadro 2.3).

Los suelos de la región van de fuertemente ácidos a medianamente alcalinos (4.46 - 8.3) y alrededor del 50% de las muestras mostraron pH neutro (Cuadro 2.3).

La conductividad eléctrica (CE) varió de los 0.19-6.42 mmhos·cm⁻¹, lo que corresponde, según la USDA (1999), a suelos no salinos a salinos, respectivamente. El 73% de los sitios analizados presentaron condiciones de salinidad muy ligera (< 2 mmhos·cm⁻¹) y el resto salinidad moderada. Los suelos presentaron texturas arcillosa, francosa (migajón), franco arcillosa, franco arcillo arenosa, franco arcillo limosa, franco arenosa y areno francosa. El 56% de las muestras fueron de textura arcillosa con una proporción de arcilla superior al 40%, mientras que el 50% presentaron valores promedio de arena-limo del 30.98 y 28.33%, respectivamente (Cuadro 2.3).

Cuadro 2.3. Localización geográfica y características fisicoquímicas de 41 parcelas agrícolas distribuidas en 14 municipios del estado de Guanajuato, México 2010.

MUNICIPIO	UBICACIÓN GEOGRÁFICA		CULTIVO	SUP (ha)	PROPORCIÓN (%)			TEXTURA	pH	CE	MO	
	LN	LO			ARENA	ARCILLA	LIMO				%	\bar{x}
S J. Iturbide	21°01.517	100°25.087	Jitomate	25	21.64	38.36	40	Fr-Ar	5.16	6.42	2.55	2.55
Salamanca 2	20°37.275	101°11.702	Cebolla	10	57.64	28.36	14	Fr-Ar-Are	7.36	0.99	2.96	3.12
Salamanca 3	20°37.987	101°09.325	Cebolla	10	25.64	44.36	30	Ar	7.19	1.76	2.69	
Salamanca 4	20°39.125	101°10.278	Zanahoria	5	19.64	60.36	20	Ar	6.91	2.25	2.82	
Salamanca 5	20°39.287	101°11.028	Alfalfa	5	25.64	54.36	20	Ar	7.22	1.13	4.57	
Salamanca 6	20°38.323	101°12.677	Chícharo	10	17.64	56.36	26	Ar	7.50	2.26	2.55	
San Felipe 7	21°32.498	101°03.292	Chile morrón	5	57.64	12.36	30	Fr-Are	6.72	0.39	1.61	1.38
San Felipe 8	21°32.362	101°03.362	Chile pasilla	5	55.64	12.36	32	Fr-Are	6.33	0.38	1.61	
San Felipe 9	21°32.362	101°03.100	Chile morrón	5	67.64	8.36	24	Fr-Are	6.47	0.39	1.08	
San Felipe 10	21°13.353	101°19.953	Jitomate ^a	2	75.64	4.36	20	Are-Fr	4.46	1.17	1.21	
Abasolo 11	20°33.288	101°34.627	Alfalfa	5	19.64	48.36	32	Ar	6.91	0.75	3.36	2.53
Abasolo 12	20°33.230	101°34.582	Brócoli	20	21.64	50.36	28	Ar	6.62	0.78	2.82	
Abasolo 13	20°33.057	101°34.523	Esparrago	2	39.64	26.36	34	Fr	7.17	1.87	2.82	
Abasolo 14	20°24.588	101°25.113	Brócoli	50	31.64	44.36	24	Ar	6.61	3.46	2.42	
Abasolo 15	20°24.277	101°25.073	Brócoli	20	33.64	32.36	34	Fr-Ar	7.68	1.79	2.69	
Abasolo 16	20°27.605	101°35.293	Col	15	25.28	48.72	26	Ar	6.87	2.86	1.48	
Abasolo 17	20°27.372	101°35.400	Apio	10	20.72	60	19.28	Ar	8.30	2.27	2.15	
Irapuato	20°51.928	101°19.475	Cacahuate	2	79.64	8.36	12	Are-Fr	5.94	0.19	1.34	1.34
Silao 19	20°57.885	101°31.190	Cilantro	2	33.64	40.36	26	Ar	7.76	1.81	2.15	2.42
Silao 20	20°57.910	101°31.247	Calabaza	2	35.28	40.72	24	Ar	8.11	1.06	2.69	
León 21	20°57.385	101°35.318	Jícama	2	43.28	22.72	34	Fr	8.00	0.74	3.77	2.79
León 22	21°01.270	101°42.032	Cebolla	5	15.28	56.72	28	Ar	6.64	1.42	1.75	
León 23	20°57.320	101°41.790	Chile serrano	20	19.28	50.72	30	Ar	6.72	0.79	3.23	
León 24	20°58.382	101°37.605	Jitomate	10	29.28	36.72	34	Fr-Ar	6.70	0.64	2.42	

Pénjamo 25	20°28.035	101°36.997	Calabaza	1	22.72	52.72	24.56	Ar	5.34	2.79	2.55	2.60
Pénjamo 26	20°27.222	101°36.795	Calabaza	1	32	42.36	25.64	Ar	8.19	1.28	1.88	
Pénjamo 27	20°22.448	101°57.988	Garbanzo	1	11.64	56.52	31.84	Ar	7.34	0.98	2.96	
Pénjamo 28	20°23.033	101°46.223	Tomate verde	5	6	57.6	36.4	Ar	6.30	1.26	2.82	
Pénjamo 29	20°23.038	101°46.308	Jitomate	5	26	58.52	15.48	Ar	5.75	2.68	2.29	
Pénjamo 30	20°23.148	101°46.253	Calabaza	5	24.72	55.8	19.48	Ar	6.22	1.39	3.09	
Cueramaro 31	20°40.618	101°46.395	Calabaza	1	32	37.08	30.92	Fr-Ar	6.80	4.81	2.42	2.78
Cueramaro 32	20°38.452	101°40.892	Garbanzo	4	26	36.72	37.28	Fr-Ar	5.08	0.39	2.69	
Cueramaro 33	20°36.092	101°37.925	Camote	2	28	34.72	37.28	Fr-Ar	7.60	0.49	3.23	
Valle de Sgo. 34	20°24.707	101°11.517	Brócoli	6	18	59.08	22.92	Ar	7.26	1.81	3.63	3.36
Valle de Sgo. 35	20°24.165	101°14.400	Chícharo	1	12	35.6	52.4	Fr-Ar-Li	4.56	2.36	3.09	
Valle de Sgo.36	20°25.020	101°15.282	Chícharo	1	5.64	58.3	36.06	Ar	7.29	1.48	3.36	
Jaral	20°24.880	101°05.482	Napa	3	27.64	37.96	34.4	Fr-Ar	7.03	1.57	2.29	2.29
Cortázar	20°27.545	100°58.902	Lechuga Orejona ^b	40	16	62.52	21.48	Ar	6.46	3.58	2.69	2.69
Romita	20°52.417	101°32.702	Chile	35	19	51.6	29.4	Ar	7.06	1.62	2.57	2.57
Celaya 40	20°36.830	100°50.468	Zanahoria	40	26.8	34.6	38.7	Fr-Ar	7.99	1.74	2.29	2.16
Celaya 41	20°31.822	100°52.408	Tomate verde	40	63.64	10.36	26	Fr-Are	7.09	0.65	2.02	

SUP= Superficie muestreada (ha); pH= potencial de Hidrógeno; CE= Conductividad eléctrica (mmhos·cm⁻¹); MO= Materia orgánica. Ar= Arcillosa; Fr= Franca; Fr-Ar= Franco arcillosa; Fr-Ar-Li= Franco arcillo limosa; Fr-Ar-Are= Franco arcillo arenosa; Are-Fr= Arena francosa; Fr-Are= Franco arenosa; LN= Latitud norte; LO= Longitud oeste.

^a Raíces con agallamiento asociado a *Meloidogyne* sp.

^b Raíces con agallamiento no asociado a fitonematodos.

2.4.1.2. Presencia de *N. aberrans*.

Las poblaciones de *N. aberrans* se encontraron en los municipios de San José Iturbide, Romita y Celaya infectando los cultivos de jitomate (*Solanum lycopersicum*), chile (*Capsicum annuum*), y tomate (*Physalis ixocarpa*) y zanahoria (*Daucus carota*), respectivamente (Cuadro 2.4). En general, las poblaciones altas estuvieron asociadas a porcentajes de agallamiento altos (Cuadro 2.5). Las poblaciones más altas del nematodo se encontraron en el cultivo de jitomate, mientras que las poblaciones más bajas en el cultivo de zanahoria con 15 y 2 especímenes en 100 cm³ de suelo, respectivamente. En el municipio de San Felipe se encontró al género *Meloidogyne* sp. en jitomate cultivado en invernadero y provocando daños del 100%.

Cuadro 2.4. Densidad poblacional de *N. aberrans* y porcentaje de agallamiento en raíces de jitomate, chile, zanahoria y tomate. Guanajuato, México 2010.

MUNICIPIO	No. DE MUESTRAS	CULTIVO	PORCENTAJE DE AGALLAMIENTO (%)	JUVENILES	TEXTURA
S J. Iturbide	1	Jitomate	100 ^a	15 ^b	Fr-Ar
Romita	1	Chile	30	4	Ar
Celaya 40	1	Zanahoria	50	2	Fr-Ar
Celaya 41	1	Tomate	55	5	Fr-Are

^a Porcentaje de agallamiento promedio de 10 plantas.

^b Número de juveniles de *N. aberrans* en 100 cm³ de suelo.

Fr-Ar= Franco-arcillosa; Ar= Arcillosa y Fr-Are= Franco-arenosa.

Los campos agrícolas infestados con *N. aberrans* mostraron áreas o manchones de plantas con escaso crecimiento y desarrollo (Fig. 2.1 A). En algunos se observaron plantas con poco desarrollo foliar, achaparramiento, clorosis ligera y síntomas de marchitamiento, principalmente en horas calurosas. En el sistema radical se observaron agallas pequeñas individuales y/o fusionadas, dependiendo del grado de daño. Las agallas presentaron raíces laterales abundantes con heridas y lesiones necróticas causada por los juveniles (Fig.2.2 H). Generalmente se encontró una sola hembra por agalla rodeada de tejido vegetal de consistencia dura.

El porcentaje de agallamiento en las plantas en etapa de floración-fructificación fue diferente en cada cultivo (Cuadro 2.4). En chile se indujeron pocas agallas que se caracterizaron por ser pequeñas e individuales. En zanahoria se encontraron daños

medianamente severos (50-55% de agallamiento); se presentaron bifurcaciones leves y proliferación anormal de raicillas con agallas pequeñas y aisladas, presencia de estructuras en forma de mezquinos en todo el tejido dañado (Fig. 2.1 B). En tomate el tejido radical presentó un mayor número de agallas individualmente agrupadas, mientras que en el cultivo de jitomate se manifestaron los daños más severos con un 100% de agallamiento; en este hospedante las agallas se fusionaron entre sí para formar grupos de agallas muy parecidas a las inducidas por *Meloidogyne* spp.



Figura 2.1. Campo agrícola de zanahoria con presencia de *N. aberrans* (A). Sistema radical de zanahoria infectado con *N. aberrans* (B).

2.4.1.3. Características del nematodo.

Los juveniles de *N. aberrans* fueron alargados y delgados con cola redondeada, curvada ventralmente y con una zona hialina (Fig. 2.2 A y C). El estilete y el bulbo medio con válvula bien desarrollada (Fig. 2.2 B). La glándula esofágica fue alargada y sobrepuesta dorsalmente al intestino (flecha negra). Machos vermiformes, con región labial hemisférica y cola redondeada (Fig. 2.2 D-F). Ala caudal inconspicua, con espículas ligeramente curvada ventralmente y gobernáculo simple. Las hembras maduras se presentaron como endoparásitas sedentarias de las raíces, de forma sacular en la parte central del cuerpo, con cola corta redondeada en forma de domo, cuello corto y región posterior redondeada (Fig. 2.2 G).

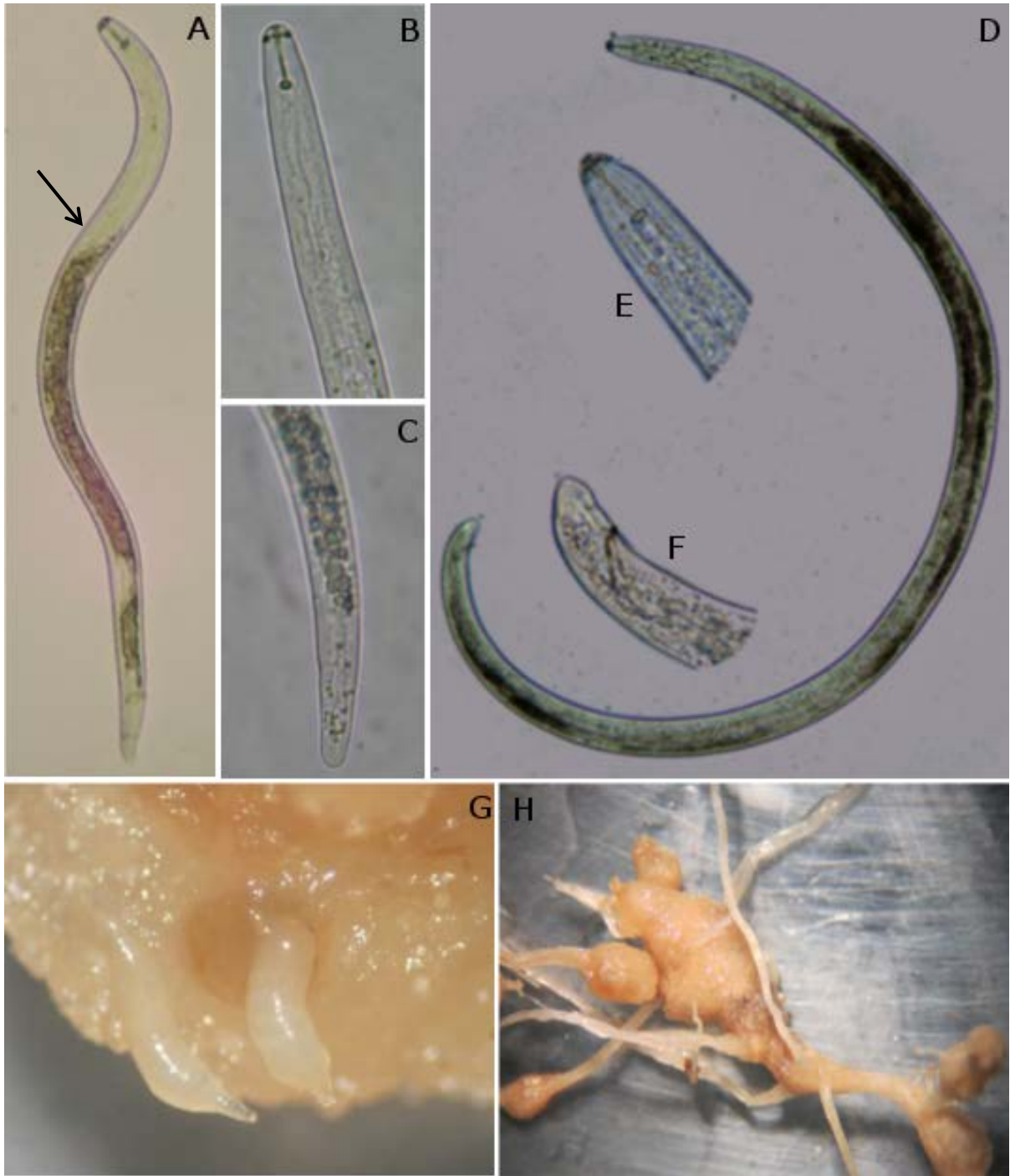


Figura 2.2. *Nacobbus aberrans*. Juvenil de segundo estadio (J2) (A) (la flecha indica trasposición esófago-intestino); región anterior (B) y posterior (C) de J2; macho (D); detalle de la región anterior (E) y posterior (F) del macho; hembras maduras (G); agallamiento inducido por *N. aberrans* (H).

2.4.1.4. *N. aberrans* y su asociación con las características fisicoquímicas del suelo.

Las poblaciones de *N. aberrans* se presentaron en suelos con contenido bajo a alto de arena, y contenido bajo a medio de arcilla y limo, pero no estuvo correlacionado con estas variables (Cuadro 2.3 y 2.5). De las cuatro poblaciones, una se encontró en un suelo con 63% de arena, 10% de arcilla y 26% de limo; las otras tres se presentaron en suelos con porcentaje de arena menor al 30% ($\bar{x}=22$), contenido de arcilla inferior al 51% ($\bar{x}=41$) y limo menor al 40% ($\bar{x}=36$). El contenido de arcilla en suelos infestados con *N. aberrans* varió del 10-50% y el contenido de arena entre 19-63% (Cuadro 2.3).

Estas poblaciones también estuvieron asociadas a suelos con contenido medio de MO (1.6-3.5%), la cual mostró correlación negativa con el contenido de arena ($r= -0.5551$) y positiva con el contenido de arcilla ($r= 0.5002$) (Cuadro 2.5).

N. aberrans se presentó en suelos moderadamente ácidos, neutros y medianamente alcalinos, pero estadísticamente no hubo correlación entre el pH con juveniles y agallamiento (Cuadro 2.5). Dos poblaciones se encontraron en suelos neutros (6.6-7.3), una en suelo moderadamente ácido (5.1-6.5) y la otra en suelo medianamente alcalino (7.4-8.5). La mayor población y el nivel de daño más alto se encontraron en suelo con pH moderadamente ácido, mientras que la población y daño más bajos se presentaron en suelo neutro.

La presencia del nematodo se asoció principalmente a suelos ligeramente salinos y salinos, este último procedente de un sistema de producción intensiva donde el uso de agroquímicos es muy común. Tres de las poblaciones se encontraron en suelos muy ligeramente salinos (1.1-2.0 mmhos·cm⁻¹) y una en salino (6.42 mmhos·cm⁻¹).

Los daños ocasionados por las poblaciones de *N. aberrans* no mostraron una clara asociación con la textura del suelo, ya que valores altos y medios de severidad se encontraron asociados a suelos con texturas franco arcillosas y franco arenosas (Cuadro 2.4). Cabe señalar que aun cuando se observó un menor daño en suelos con alto contenido de arcilla (>50%), no es posible generalizar ya que el 75% de los suelos analizados presentaron alguna característica arcillosa y solamente el 19% alguna condición arenosa.

2.4.1.5. Clasificación de los sitios de muestreo.

El porcentaje de agallamiento estuvo positivamente correlacionado en un 60% con la población de *N. aberrans* ($P < 0.0001$) y nula correlación fue observada con las variables edáficas. Mientras que los juveniles mostraron correlación positiva media con la conductividad eléctrica ($r = 0.5156$, $P = 0.0006$), ya que a menor CE la población de *N. aberrans* tiende a ser más baja (Cuadro 2.5).

Cuadro 2.5. Coeficientes de correlación y niveles de significancia de nueve variables descriptivas estimadas de 41 parcelas agrícolas del estado de Guanajuato 2010.

Variables	Cultivo	Agallas	Juveniles	Arena	Arcilla	Limo	pH	CE	MO
Cultivo		-0.2110 ^a	-0.3100	-0.1455	0.1309	0.0558	0.3074	-0.1020	0.4523
		0.1854 [¶]	0.0485	0.3642	0.4146	0.7290	0.0506	0.5258	0.2030
Agallas			<u>0.6054</u> ^b	0.1605	-0.1772	0.0080	-0.3317	0.3937	-0.2006
			<.0001	0.3160	0.2678	0.9604	0.0341	0.0109	0.2086
Juveniles				-0.0182	-0.0925	0.2362	-0.2104	<u>0.5156</u>	-0.0433
				0.9101	0.5650	0.1371	0.1866	0.0006	0.7879
Arena					-0.8987 ^c	-0.3841	-0.1189	-0.3486	<u>-0.5551</u>
					<.0001	0.0132	0.4591	0.0255	0.0002
Arcilla						-0.0599	0.1828	0.3372	<u>0.5002</u>
						0.7099	0.2527	0.0311	0.0009
Limo							-0.1137	0.0837	0.2103
							0.4790	0.6031	0.1870
pH								-0.2043	0.2190
								0.2000	0.1689
CE									0.0170
									0.9162
MO									

¶ Nivel de significancia de la matriz de correlación de Pearson.

^a Coeficientes de correlación de Pearson de 41 muestras.

^b Números subrayados representan correlación media ($0.30 \leq r < 0.70$) entre las variables involucradas.

^c Números en negritas representan correlación alta ($0.70 \leq r \leq 1.0$) entre las variables involucradas.

CE= Conductividad eléctrica, MO= Materia orgánica.

Con base en el análisis de componentes principales de las variables descriptivas originales se seleccionaron el estado juvenil del nematodo, la proporción de limo y el pH del suelo con un 82.06% de la varianza total para representar el conjunto original de datos, indicando que con estas tres variables es posible determinar la distribución espacial de *N. aberrans* en la región de estudio.

La presencia de juveniles, representado por el primer componente principal (CP1), explicó el 36.90% de varianza total; mientras que la textura limosa, segundo

componente principal (CP2) y el pH, tercer componente (CP3), contribuyeron con el 28.48 y el 16.68% de la varianza total, respectivamente.

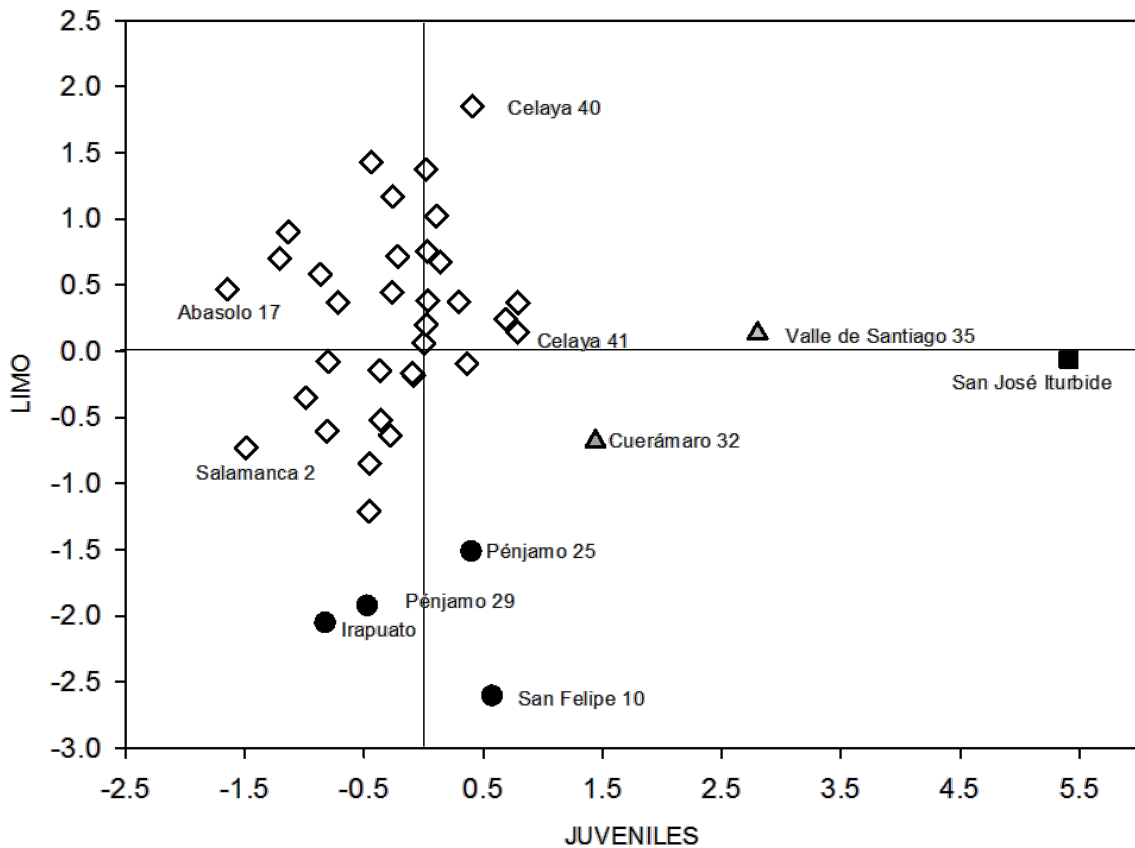


Figura 2.3. Diagrama de dispersión de parcelas agrícolas muestreadas en el estado de Guanajuato. El componente principal 1 se correlaciona con la presencia de juveniles, y el componente 2 con el contenido de limo. Las figuras geométricas indican la etiqueta para la localidad muestreada y el agrupamiento en clusters. Cuadro negro= Grupo 1, triángulos grises= Grupo 2, círculos negros= Grupo 3 y rombos blancos= Grupo 4.

En la gráfica de dispersión de las parcelas agrícolas realizadas con los CP1 y CP2 se observan cuatro grupos con cierta similitud edáfica (Fig. 2.3). El primer grupo, conformado por la parcela de San José Iturbide (punto negro), se caracterizó por presentar suelo con textura franco arcillosa, moderadamente ácido (5.16), con contenido medio de materia orgánica (2.55%) y suelos salinos (6.42 mmhos·cm⁻¹). El segundo grupo (triángulos grises), lo constituyen las parcelas de Cueramara 32 y Valle de Santiago 35, se caracteriza por presentar suelos de textura franco arcillosa y franco arcillo limosa (>35% de arena), pH fuertemente ácido (4.56-5.08), contenido

medio de materia orgánica (2.69-3.09%) y no salinos a moderadamente salinos (0.39-2.36 mmhos·cm⁻¹). El tercer grupo (círculos negros), conformado por las parcelas de Pénjamo 25, Pénjamo 29, Irapuato y San Felipe 10, se caracteriza por presentar suelos de textura arcillosa y areno francosa (22-79% de arena y 12-24% de limo), con pH moderadamente a fuertemente ácidos (4.46-5.94), contenido bajo a medio de materia orgánica (1.21-2.55%) y no salinos a moderadamente salinos (0.19-2.79 mmhos·cm⁻¹). El cuarto grupo (rombos blancos), constituido por el resto de las parcelas, se caracteriza por presentar suelos de textura arcillosa, francosa, franco arenosa, franco arcillosa y franco arcillo arenosa. El pH es moderadamente ácido, neutro y medianamente alcalino, con bajo a alto contenido de materia orgánica y suelos no salinos (0.38 mmhos·cm⁻¹) a salinos (4.81 mmhos·cm⁻¹).

De las cuatro poblaciones de *N. aberrans*, una se encontró en el grupo 1 y el resto en el grupo 4. No se encontró similitud de características edáficas entre grupos, pues todos difieren en al menos una característica fisicoquímica.

2.4.1.6. Mapas interpolativos de potencial ocurrencia de *N. aberrans*.

Con base en el análisis PROC FACTOR, el pH, la proporción de limo en el suelo y los juveniles explicaron el 45.93, 29.58 y 24.49% de la varianza total, respectivamente, y se utilizaron para generar los mapas interpolativos de potencial ocurrencia de *N. aberrans* en la región de estudio. Los valores del índice multivariado para la generación del mapa interpolativo de *N. aberrans* para el estado de Guanajuato se muestran en el cuadro 2.6.

De acuerdo con el pH y la proporción de limo en el suelo, las regiones oeste, oestesuroeste y este del estado de Guanajuato presentaron las condiciones más favorables para la ocurrencia de *N. aberrans*. Las zonas de mayor riesgo coinciden con los sitios donde se encontró *N. aberrans*, así también los municipios de Silao, Huanímaro, Irapuato, Manuel Doblado, Valle de Santiago, Salamanca y Cuerámara presentan condiciones edáficas favorables para *N. aberrans* (Fig. 2.4).

La mayor incidencia de *N. aberrans* se encontró en la zona oeste, mientras que las zonas norte y sur, que coinciden con la zona desértica del estado, presentaron las condiciones menos favorables para la ocurrencia de este nematodo.

Cuadro 2.6. Índice multivariado para la generación del mapa interpolativo del potencial de ocurrencia de *N. aberrans* en el estado de Guanajuato 2010.

LOCALIDAD	pH	LIMO	JUVENILES	ÍNDICE MULTIVARIADO	LN	LO
1	-1.15948 ^a	0.775	5.56366	0.0330	21° 01.517	100° 25.087
2	0.51744	-1.79824	0.01311	0.0220	20° 37.275	101° 11.702
3	0.4133	0.26232	-0.24268	0.0261	20° 37.987	101° 09.325
4	0.05505	-1.0425	-0.12539	0.0218	20° 39.125	101° 10.278
5	0.39482	-1.02888	-0.09122	0.0232	20° 39.287	101° 11.028
6	0.73252	-0.24108	-0.14924	0.0262	20° 38.323	101° 12.677
7	-0.10183	0.24167	-0.29449	0.0240	21° 32.498	101° 03.292
8	-0.519	0.48305	-0.36712	0.0229	21° 32.362	101° 03.362
9	-0.40665	-0.54481	-0.23316	0.0211	21° 32.362	101° 03.100
10	-2.6302	-1.15009	-0.3955	0.0110	21° 13.353	101° 19.953
11	0.11669	0.50852	-0.30317	0.0254	20° 33.288	101° 34.627
12	-0.2217	-0.02122	-0.27589	0.0230	20° 33.230	101° 34.582
13	0.41193	0.77844	-0.30414	0.0272	20° 33.057	101° 34.523
14	-0.25321	-0.53867	-0.21773	0.0217	20° 24.588	101° 25.113
15	0.9709	0.80084	-0.24791	0.0294	20° 24.277	101° 25.073
16	-1.04918	-2.11911	-0.11381	0.0151	20° 27.605	101° 35.293
17	1.01749	-0.22966	-0.12057	0.0274	20° 27.372	101° 35.400
18	1.39082	-0.47279	-0.05236	0.0283	20° 51.928	101° 19.475
19	1.32162	0.8149	-0.21263	0.0309	20° 57.885	101° 31.190
20	-0.19978	-0.02034	-0.27368	0.0231	20° 57.910	101° 31.247
21	0.04203	-0.26874	-0.21869	0.0235	20° 57.320	101° 41.790
22	1.57482	-1.07451	0.03852	0.0278	20° 58.382	101° 37.605
23	-0.10183	0.24167	-0.29449	0.0240	20° 57.385	101° 35.318
24	-0.1032	0.7578	-0.35596	0.0251	20° 01.270	101° 42.032
25	-1.64228	-0.52206	-0.36604	0.0163	20° 28.035	101° 36.997
26	1.48693	-0.2573	-0.06783	0.0292	20° 27.222	101° 36.795
27	0.58716	0.50673	-0.2534	0.0273	20° 22.448	101° 57.988
28	-0.52928	1.05044	-0.43561	0.0241	20° 23.033	101° 46.223
29	-1.23955	-1.67766	-0.18632	0.0154	20° 23.038	101° 46.308
30	-0.70387	-1.14001	-0.19376	0.0186	20° 23.148	101° 46.253
31	-0.00942	0.3641	-0.2993	0.0246	20° 40.618	101° 46.395
32	-1.86191	1.1106	-0.58315	0.0189	20° 38.452	101° 40.892
33	0.90006	1.22127	-0.30533	0.0301	20° 36.092	101° 37.925
34	0.45366	-0.64971	-0.13007	0.0243	20° 24.707	101° 11.517
35	-2.35417	3.04205	-0.86448	0.0212	20° 24.165	101° 14.400
36	0.55403	1.04997	-0.32143	0.0283	20° 25.020	101° 15.282
37	0.26054	0.824	-0.3255	0.0267	20° 24.880	101° 05.482
38	-0.43056	-0.87097	-0.19693	0.0203	20° 27.545	101° 58.902
39	0.41698	-0.00556	1.39832	0.0287	20° 52.417	101° 32.702
40	1.41491	1.32985	0.5404	0.0339	20° 36.830	100° 50.468
41	0.48341	-0.48931	1.86499	0.0287	20° 31.822	100° 52.408

LN= Latitud norte, LO= Longitud oeste.

^a Varianza proporcional para factor 1, 2 y 3 = 0.4593, 0.2958 y 0.2449, respectivamente.

La regiones oeste y oestesuroeste, con condiciones favorables para *N. aberrans*, concentran una área de agricultura más intensiva que incluye los municipios hortícolamente más importantes del estado. En esta área se práctica principalmente agricultura de riego con ciclos agrícolas continuos y generalmente se establecen cultivos susceptibles a *N. aberrans*. Además, sus características edáficas, principalmente pH y proporción de limo en el suelo, lo convierten en un área de riesgo para el establecimiento y reproducción de *N. aberrans*.

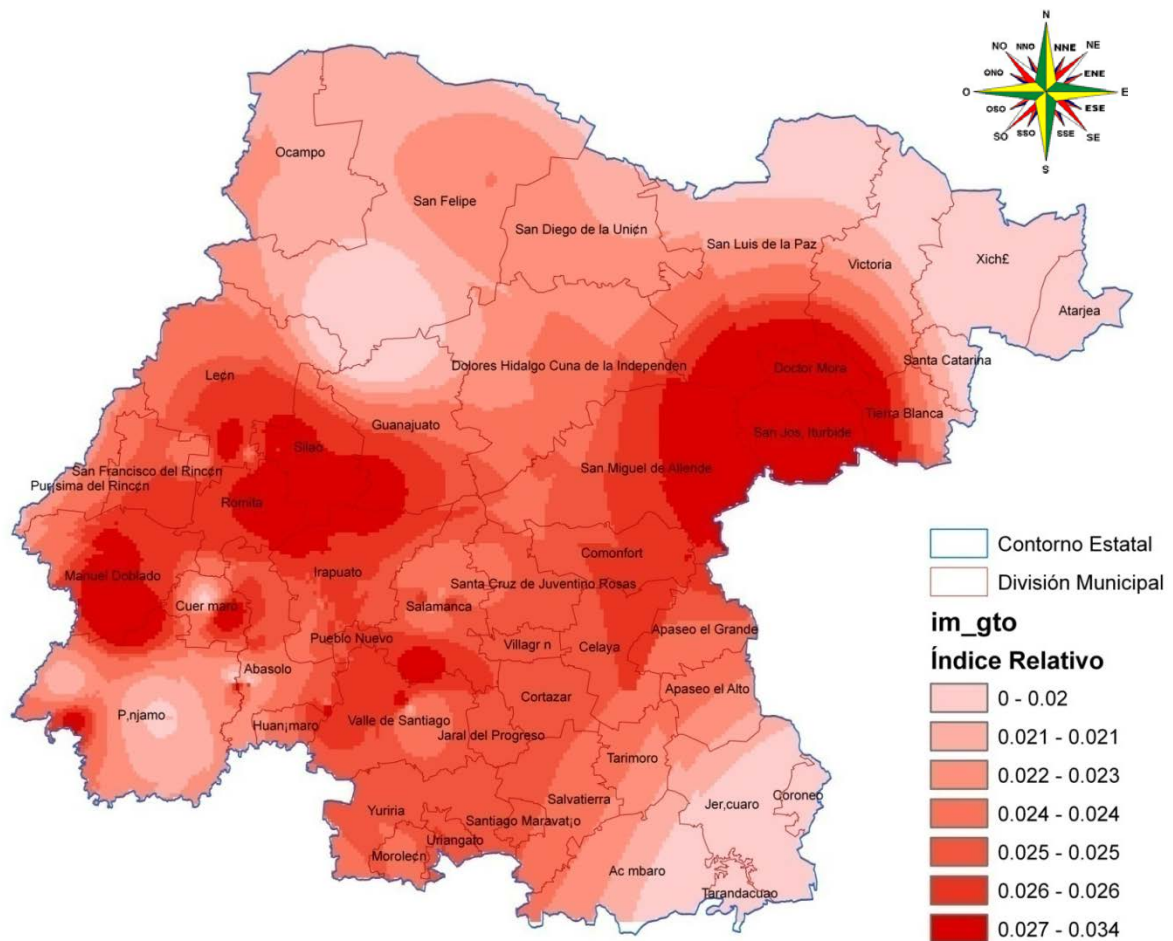


Figura 2.4. Mapa interpolativo del potencial de ocurrencia de *N. aberrans* en el estado de Guanajuato en función de la proporción de limo, pH del suelo y número de juveniles. 2010. Los recuadros a color indican el grado del potencial de ocurrencia de *N. aberrans* en el estado. 0-0.02 menor ocurrencia y 0.027-0.034 mayor ocurrencia.

2.4.2. Estado de Michoacán.

2.4.2.1. Muestreo y características fisicoquímicas del suelo.

Se recolectaron 48 muestras edáficas y vegetales en 16 municipios del estado (Cuadro 2.7). Los principales cultivos muestreados forman parte de las familias Solanaceae (jitomate, chile, papa), Cucurbitaceae (calabaza, pepino), Brassicaceae (brócoli, coliflor), Fabaceae (chícharo, frijol), Apiaceae (cilantro) y Asteraceae (lechuga).

Más del 70% de los campos evaluados fueron de jitomate y chile, principalmente en los municipios de Tanhuato y Yurécuaro (inicialmente no considerados en la planificación del muestreo). Ningún campo se muestreó en los municipios de M. Castellanos y Villamar debido a la ausencia de cultivos de interés.

El 52 y 42% de los sitios evaluados presentaron contenido medio y bajo de MO (1.6-3.5%), y el 2 y 4% contenido muy bajo (<0.5%) y alto (3.6-6%), respectivamente. El 19% de las muestras presentaron pH neutro y el 46% medianamente alcalino.

La CE fue relativamente variable (0.60-6.74 mmhos·cm⁻¹). El 62.5% de los sitios presentaron condiciones de salinidad muy ligera (<2 mmhos·cm⁻¹) y el 35.4% salinidad moderada. La muestra de Yurécuaro 47, obtenida de una parcela cultivada con jitomate, presentó la condición de salinidad más alta con 6.74 mmhos·cm⁻¹.

La textura del suelo fue arcillosa, francosa, franco arcillosa, franco limosa y franco arenosa. El 40% de las muestras presentaron textura arcillosa, con una proporción de arcilla del 43-62%, y el 40% una proporción arcilla-limo superior al 29%. La proporción de arena fluctuó entre 2.2-68.2%, y la de limo del 18-54%. El valor promedio de la proporción arena, arcilla y limo fue del 29.45, 38.38 y 31.97% respectivamente.

Cuadro 2.7. Localización geográfica y características fisicoquímicas de 48 parcelas agrícolas distribuidas en 16 municipios del estado de Michoacán, México 2011.

MUNICIPIO	UBICACIÓN GEOGRÁFICA		CULTIVO	SUP (ha)	PROPORCIÓN (%)			TEXTURA	pH	CE	MO	
	LN	LO			ARENA	ARCILLA	LIMO				%	\bar{x}
Tanhuato 42 ^Ω	20°16.273	102°24.060	Calabacita	2	30.8	34.6	34.7	Fr-Ar	8.15	2.14	2.29	1.59
Tanhuato 43	20°16.665	102°22.940	Chile ancho	4	30.2	31.8	38	Fr-Ar	6.5	3.15	1.34	
Tanhuato 44	20°18.032	102°19.899	Jitomate	2	34.2	17.8	48	Fr	7.63	2.18	1.61	
Tanhuato 45	20°17.836	102°19.772	Chile ancho	1	60.2	9.8	30	Fr-Are	6.92	0.93	0.67	
Tanhuato 46	20°17.745	102°17.118	Chile jalapeño	1.25	44.2	33.8	22	Fr-Ar	8.26	2.25	1.34	
Tanhuato 52 ^Ω	20°18.695	102°18.409	Jitomate	2	62.2	17.8	20	Fr-Are	8.47	1.78	1.34	
Tanhuato 53	20°18.696	102°18.409	Jitomate	4	26.2	39.8	34	Fr-Ar	8.26	3.23	2.42	
Tanhuato 54	20°17.168	102°16.708	Jitomate	4	34.2	21.8	44	Fr	7.8	1.68	2.02	
Tanhuato 55	20°17.044	102°17.128	Jitomate	2	26.2	31.8	42	Fr-Ar	7.39	2.05	2.15	
Tanhuato 81 ^Ω	20°16.936	102°17.606	Jitomate	4	36.2	31.8	32	Fr-Ar	7.6	2.75	1.88	
Tanhuato 82	20°17.863	102°20.235	Jitomate	2	26.2	29.8	44	Fr-Ar	8.12	1.23	1.34	
Tanhuato 83	20°18.499	102°20.829	Jitomate	4	26.2	35.8	38	Fr-Ar	8.24	1.95	1.34	
Tanhuato 84	20°18.547	102°20.866	Jitomate	2	32.2	27.8	40	Fr-Ar	8.04	2.23	1.34	
Tanhuato 85 ^Ω	20°18.806	102°20.672	Jitomate ^a	4	18.2	49.8	32	Ar	7.63	2.28	1.34	
Tanhuato 86 ^Ω	20°18.731	102°20.559	Jitomate	4	28.2	17.8	54	Fr-Li	8.16	1.35	0.67	
Tanhuato 87 ^Ω	20°18.586	102°20.476	Jitomate	3	26.2	23.8	50	Fr-Li	8.49	1.4	2.29	
Yurécuaro 47 ^Ω	20°18.729	102°15.799	Jitomate	4	35.7	40.6	23.7	Ar	8	6.74	1.75	1.42
Yurécuaro 48	20°18.220	102°16.483	Chile ancho	2	38.2	33.8	28	Fr	7.94	1.88	1.34	
Yurécuaro 49	20°18.540	102°16.611	Chile jalapeño	4	50.2	9.8	40	Fr	8.04	1.68	1.34	
Yurécuaro 50	20°19.523	102°17.994	Jitomate	4	24.2	51.8	24	Ar	6.75	2.98	1.34	
Yurécuaro 51	20°19.238	102°18.132	Jitomate	4	24.2	51.8	24	Ar	6.71	2.4	1.34	
Yurécuaro 56	20°19.580	102°16.354	Jitomate	4	36.2	37.8	26	Fr-Ar	7.07	0.9	1.75	
Yurécuaro 57	20°19.280	102°17.791	Jitomate	2	42.2	29.8	28	Fr-Ar	8.09	1.3	1.08	
V. Hermosa 58	20°17.278	102°30.487	Chile	4	24.2	47.8	28	Ar	7.5	1.85	1.34	1.75
V. Hermosa 59	20°17.447	102°30.646	Jitomate	1	28.2	35.8	36	Fr-Ar	7.98	1.38	2.15	

Briseñas 60	20°11.678	102°35.676	Jitomate	2	26.2	45.8	28	Ar	7.11	1.2	2.29	2.29
Pajacuarán 61	20°10.284	102°36.532	Calabaza	3	34.2	29.8	36	Fr-Ar	7.81	1.63	1.34	1.72
Pajacuarán 62	20°09.703	102°37.028	Jitomate	2	24.2	47.8	28	Ar	8.67	2.73	1.61	
Pajacuarán 63	20°09.565	102°37.087	Chile	2	22.2	55.8	22	Ar	8.9	2.05	1.88	
Pajacuarán 64 ^Q	20°10.224	102°37.996	Pepino	3	28.2	39.8	32	Fr-Ar	8.83	2.13	1.75	
Pajacuarán 65	20°10.032	102°37.972	Jitomate	4	24.2	37.8	38	Fr-Ar	9.03	1.85	2.02	
Sahuayo	20°07.160	102°43.685	Calabaza	1	16.2	57.8	26	Ar	9.26	1.85	1.61	1.61
V. Carranza 67	20°08.100	102°45.015	Lechuga	2	30.2	43.8	26	Ar	8.94	1.98	1.48	1.75
V. Carranza 68	20°11.079	102°36.008	Jitomate	4	26.2	47.8	26	Ar	8.38	1.38	2.02	
Tlazazalca	19°58.408	102°04.007	Jitomate	2	40.2	27.8	32	Fr-Ar	5.6	1.48	2.02	2.02
Purépero 70	19°53.195	101°59.418	Brócoli	4	18.2	55.8	26	Ar	4.58	0.6	4.03	2.69
Purépero 71	19°52.356	101°59.753	Brócoli	3	22.2	31.8	46	Fr-Ar	4.96	0.95	3.36	
Purépero 72	19°51.369	102°00.087	Papa	8	68.2	7.8	24	Fr-Are	5.5	2.75	0.67	
Tangancicuaro	19°53.442	102°10.978	Coliflor	8	36.2	21.8	42	Fr	5.72	1.03	3.36	3.36
Zamora	19°56.732	102°15.533	Cilantro	1	20.2	51.8	28	Ar	6.81	2.6	0.27	0.27
Jacona 75	19°56.417	102°16.185	Chícharo	1	22.2	51.8	26	Ar	5.04	2.85	1.75	2.09
Jacona 76	19°56.642	102°16.115	Jitomate	4	12.2	59.8	28	Ar	6.36	1.98	2.42	
Tangamandapio	19°57.925	102°26.337	Frijol	1	10.2	61.8	28	Ar	6.45	1.8	2.69	2.69
Chavinda 78	20°02.094	102°27.149	Chile jalapeño	1	2.2	61.8	36	Ar	6.83	3.25	2.02	2.29
Chavinda 79	20°02.990	102°27.388	Jitomate	4	10.2	71.8	18	Ar	4.71	1.2	2.55	
Ixtlán	20°10.297	102°28.797	Pepino	3	24.2	55.8	20	Ar	7.06	2.23	4.71	4.71
Cojumatlán 88	20°08.575	102°51.544	Calabaza ^b	4	28.2	35.8	36	Fr-Ar	8.58	1	0.67	1.01
Cojumatlán 89	20°06.675	102°50.262	Jitomate	4	22.2	55.8	22	Ar	8.36	1.98	1.34	

SUP= Superficie muestreada (ha); pH= potencial de Hidrógeno; CE= Conductividad eléctrica (mmhos·cm⁻¹); MO= Materia orgánica. Ar= Arcillosa; Fr= Franca; Fr-Ar= Franco arcillosa; Fr-Ar-Li= Franco arcillo limosa; Fr-Ar-Are= Franco arcillo arenosa; Are-Fr= Arena francosa; Fr-Are= Franco arenosa; Fr-Li= Franco limosa; LN= Latitud norte; LO= Longitud oeste.

^Q Sitios positivos a *Nacobbus aberrans*.

^a Agallamiento asociado a *Meloidogyne* spp. y *Nacobbus aberrans*.

^b Agallamiento asociado a *Meloidogyne* spp.

2.4.2.2. Presencia de *N. aberrans*.

De los 16 municipios evaluados, solamente en Tanhuato, Yurécuaro y Pajacuarán se encontraron poblaciones de *N. aberrans* en calabacita (*Cucurbita pepo*), pepino (*Cucumis sativus*) y jitomate (*S. lycopersicum*) (Cuadro 2.8).

Los campos con jitomate presentaron los niveles poblacionales de juveniles más altos (hasta 38 individuos), mientras que en los cultivos de pepino y calabacita fueron de 3 y 2 individuos en 100 cm³ de suelo, respectivamente. En el sitio Tanhuato 85, las plantas de jitomate mostraron 100% de agallamiento inducido por *N. aberrans* y *Meloidogyne* spp. (Cuadro 2.8). La población Tanhuato 85 de *N. aberrans* se separó de *Meloidogyne* spp. y junto con el resto de las poblaciones se mantuvo en invernadero para su incremento.

Cuadro 2.8. Densidad poblacional de *N. aberrans* y porcentaje de agallamiento en raíces de calabacita, jitomate y pepino. Michoacán, México 2011.

MUNICIPIO	No. DE MUESTRAS	CULTIVO	PORCENTAJE DE AGALLAMIENTO (%)	JUVENILES	TEXTURA
Tanhuato 42		Calabacita	13 ^a	2 ^b	Fr-Ar
Tanhuato 52		Jitomate	15	2	Fr-Are
Tanhuato 81	6	Jitomate	95	38	Fr-Ar
Tanhuato 85		Jitomate	100 [†]	29	Ar
Tanhuato 86		Jitomate	70	12	Fr-Li
Tanhuato 87		Jitomate	40	7	Fr-Li
Yurécuaro 47	1	Jitomate	80	5	Fr-Ar
Pajacuarán 64	1	Pepino	10	3	Fr-Ar

^a Porcentaje de agallamiento promedio de 10 plantas.

^b Número de juveniles de *N. aberrans* en 100 cm³ de suelo.

[†] Agallamiento asociado a *Meloidogyne* spp. y *Nacobbus aberrans*.

Ar= Arcillosa; Fr-Ar= Franco arcillosa; Fr-Are= Franco arenosa; Fr-Li= Franco limosa.

Se observaron áreas o manchones de plantas con escaso crecimiento y desarrollo en los campos infestados con *N. aberrans*. Las plantas enfermas mostraron poco desarrollo foliar, achaparramiento, clorosis y ligera marchitez (Fig. 2.5 A).

En el sistema radical se indujeron agallas pequeñas e individuales o agallas fusionadas, dependiendo del grado de daño. Las agallas mostraron proliferación de raíces laterales con heridas y lesiones necróticas causada por los juveniles de *N. aberrans* (Fig. 2.6 F). Generalmente se encontró una sola hembra por agalla rodeada de tejido vegetal de consistencia dura. En Tanhuato 85, el jitomate presentó agallas con más de una hembra de *N. aberrans*.

El porcentaje de daño en las plantas enfermas en etapa de floración-fructificación fue contrastantes (Cuadro 2.8). Los cultivos de calabacita y pepino presentaron porcentajes de agallamiento del 13 y 10%, respectivamente; las agallas fueron pequeñas, poco numerosas e individualmente distribuidas en el sistema radical. En jitomate, se presentaron daños ligeros a severos con agallamiento del 15-100%. Las raíces ligeramente dañadas presentaron agallas agrupadas de manera individual, pequeñas y poco numerosas; mientras que las severamente dañadas mostraron agallas aisladas y agrupadas formando conglomerados, así como raíces colapsadas y agrietadas (Fig. 2.5 B). En estas muestras, *N. aberrans* se encontró asociado con *Meloidogyne* spp., incrementando la severidad de la enfermedad.

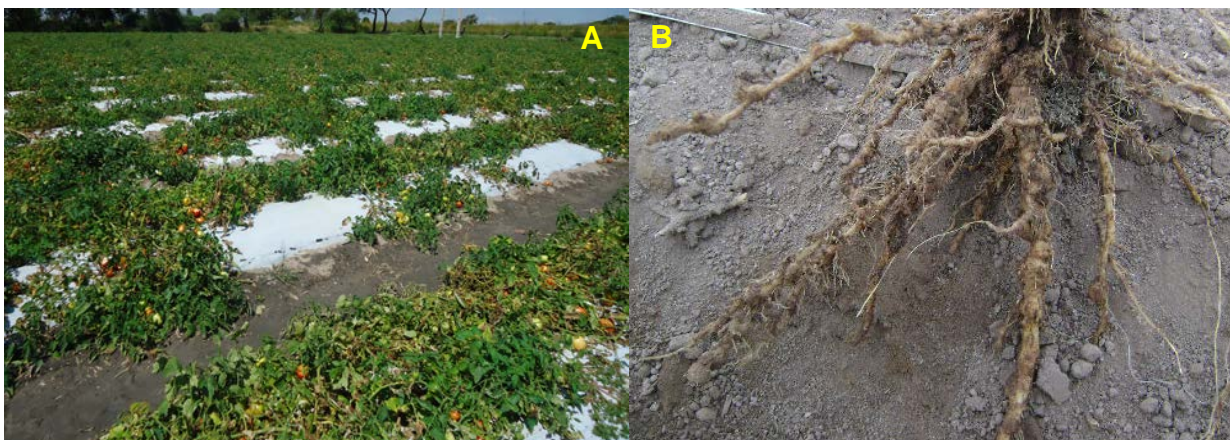


Figura 2.5. Campo agrícola de jitomate infestado con *N. aberrans* (A) y raíz de jitomate agallada por *N. aberrans* asociado con *Meloidogyne* spp (B).

2.4.2.3. Características del nematodo.

Los especímenes de *N. aberrans* fueron morfológicamente similares a los descritos en Guanajuato, pero algunos juveniles mostraron aberraciones en la parte posterior y anterior del cuerpo (Fig. 2.6).

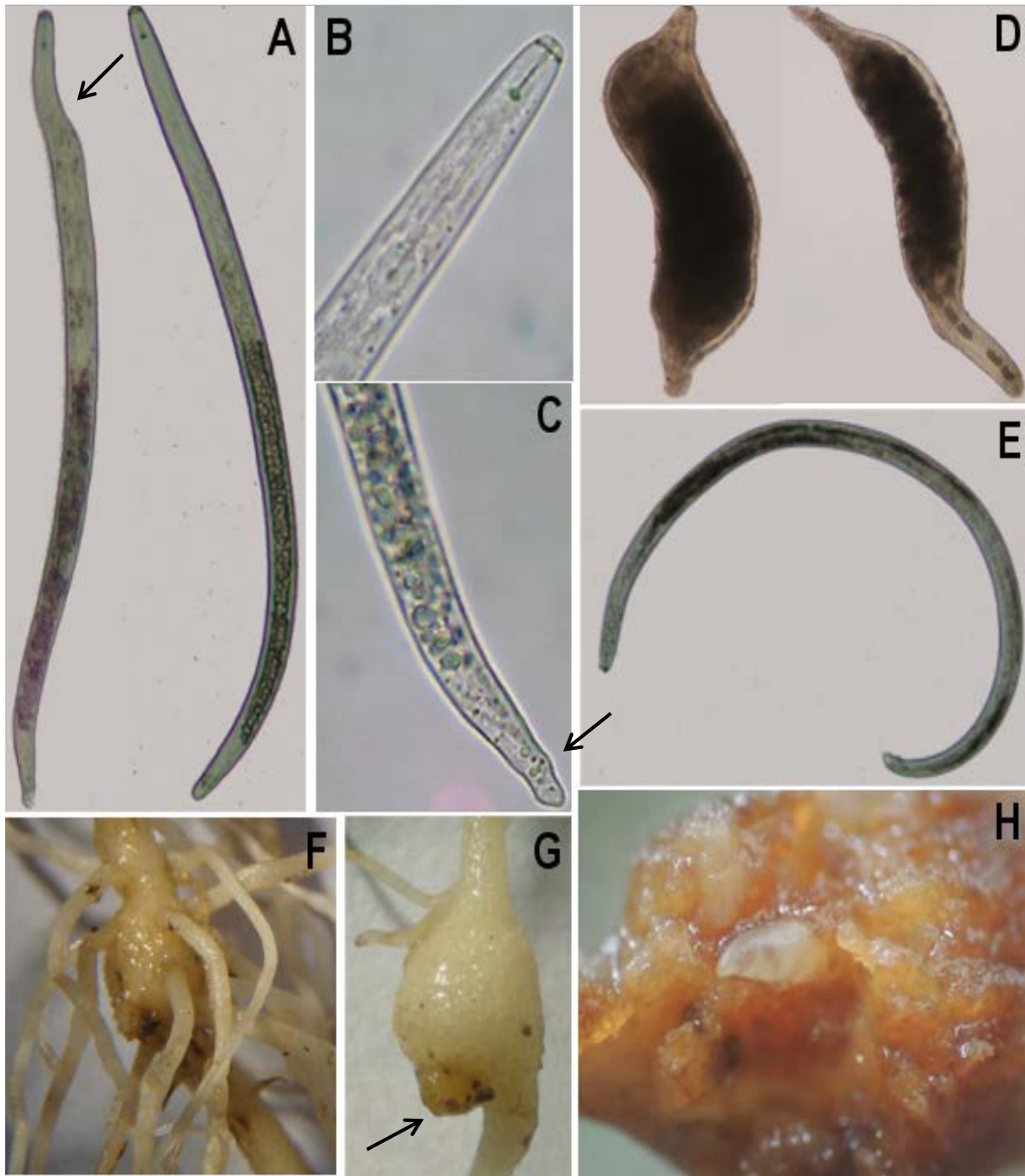


Figura 2.6. *Nacobbus aberrans*. Juveniles de segundo estadio (J2): a la derecha J2 con desarrollo normal y a la izquierda J2 con aberración morfológica (flecha negra) (A); región anterior (B) y posterior (C) de J2 (la flecha indica aberración morfológica); hembras maduras (D); macho (E); agallamiento inducido por *N. aberrans* (F-G); masa de huevos (G) (flecha negra); hembra inmersa en tejido agallado (H).

2.4.2.4. *N. aberrans* y su asociación con las características fisicoquímicas del suelo.

De las 48 parcelas agrícolas muestreadas, ocho estuvieron infestadas con *N. aberrans*, y de estas, siete se presentaron en suelos con una proporción arcilla-limo mayor al 63%. Particularmente, una población se encontró en suelos que contenían más del 62% de arena, cinco en suelos con porcentajes de arcilla del 31-49% y dos en suelos con más del 50% de limo (Cuadro 2.7).

Las poblaciones del nematodo estuvieron asociadas a suelos con contenido bajo a medio de MO (<0.5-3.5%), correlacionándose negativamente con el contenido de arena ($r = -0.3684$) y con el pH del suelo ($r = -0.3784$), y positivamente con el contenido de arcilla ($r = 0.3285$) (Cuadro 2.9).

Aun cuando *N. aberrans* se asoció a suelos mediana y fuertemente alcalinos, no mostró correlación con el pH del suelo (Cuadro 2.9). Siete de las ocho poblaciones se presentaron en suelos medianamente alcalinos (7.4-8.5) con el mayor número de juveniles y causando los daños más severos en los cultivos.

El nematodo se asoció principalmente a suelos ligeramente salinos, moderadamente salinos y salinos (1.4-6.74 mmhos·cm⁻¹), presentando una correlación media positiva con la proporción de arena ($r = 0.4492$). Tres poblaciones se encontraron en suelos ligeramente salinos (1.1-2.0 mmhos·cm⁻¹), cuatro en suelos moderadamente salinos (2.1-4.0 mmhos·cm⁻¹) y una en suelo salino (4.1-8.0 mmhos·cm⁻¹). Los daños más severos y las poblaciones más altas ocurrieron principalmente en suelos con condiciones de salinidad moderada.

No se observó una clara asociación entre los daños provocados por *N. aberrans* y la textura del suelo, ya que severidades medias y altas se encontraron en las plantas cultivadas en suelos de texturas arcillosas, franco arcillosas y franco limosas. Sin embargo, los daños más altos ocurrieron en suelos con proporción de arcilla del 31-49%.

2.4.2.5. Clasificación de los sitios de muestreo.

En los sitios analizados, el porcentaje de agallamiento y el número de juveniles de *N. aberrans* tuvieron una correlación positiva del 83% ($P < 0.0001$) y no hubo correlación

con las variables edáficas. El contenido de arena se asoció negativamente en un 82% con la proporción de arcilla ($P < 0.0001$); así mismo, la proporción de arcilla se correlacionó negativamente con el contenido de limo en un 54% ($P < 0.0001$). El contenido de MO mostró asociación media ($r < 4.0$) con la proporción de arena, arcilla y pH (Cuadro 2.9).

Cuadro 2.9. Coeficientes de correlación y niveles de significancia de nueve variables descriptivas estimadas en 48 parcelas agrícolas del estado de Michoacán. 2011.

Variables	Cultivo	Agalla	Juveniles	Arena	Arcilla	Limo	pH	CE	MO
Cultivo	-0.1408 ^a	-0.1410	-0.2188	0.1865	-0.0062	-0.3646	-0.1873	0.3504	
	0.3397 [†]	0.3392	0.1352	0.2044	0.9667	0.1108	0.2002	0.1146	
Agalla		0.8386^b	0.0143	-0.1051	0.1646	0.1907	0.2993	-0.1716	
		<.0001	0.9231	0.4770	0.2636	0.1941	0.0388	0.2436	
Juveniles			-0.0029	-0.0643	0.1177	0.0953	0.1523	-0.0773	
			0.9845	0.6644	0.4255	0.5193	0.3014	0.6016	
Arena				-0.8244	-0.0206	0.1001	-0.0294	<u>-0.3684</u>	
				<.0001	0.8892	0.4986	0.8426	0.0100	
Arcilla					<u>-0.5489^c</u>	-0.1511	0.1465	<u>0.3285</u>	
					<.0001	0.3052	0.3205	0.0226	
Limo						0.1193	-0.2152	-0.0360	
						0.4192	0.1418	0.8081	
pH							0.1125	<u>-0.3784</u>	
							0.4467	0.0080	
CE								-0.2034	
								0.1656	
MO									

[†] Nivel de significancia de la matriz de correlación de Pearson.

^a Coeficientes de correlación de Pearson de 48 muestras.

^b Números en negritas representan correlación alta ($0.70 \leq r \leq 1.0$) entre las variables involucradas.

^c Números subrayados representan correlación media ($0.30 \leq r < 0.70$) entre las variables involucradas.

CE= Conductividad eléctrica; MO= Materia orgánica.

A partir del análisis de componentes principales se seleccionaron la MO, limo, arena y juveniles, con un 80.95% de la varianza total, para representar el conjunto original de datos. Con estas cuatro variables se determinó la distribución espacial de *N. aberrans* en la región de estudio.

La MO, limo, arena y la presencia de juveniles explicaron el 27.51, 21.28, 18.25 y 13.91% de la varianza total, respectivamente.

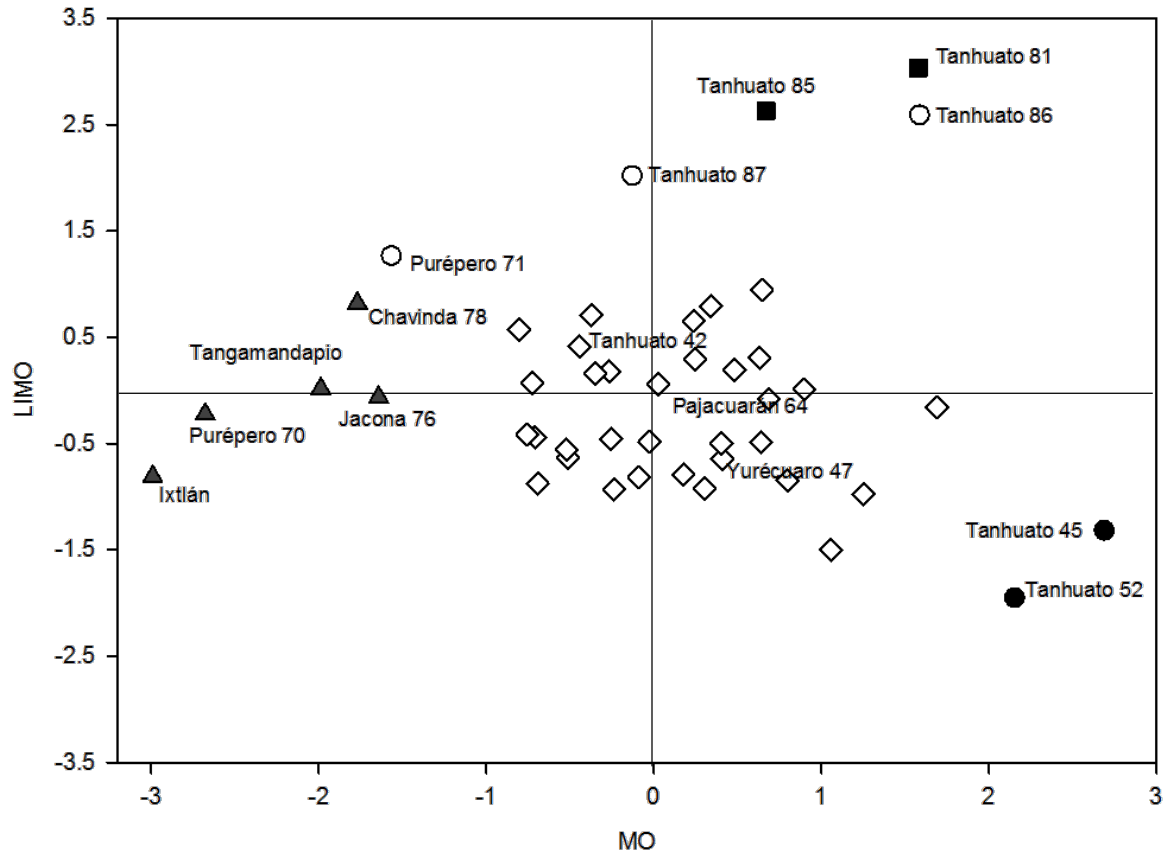


Figura 2.7. Diagrama de dispersión de parcelas agrícolas muestreadas en el estado de Michoacán. El componente principal 1 está correlacionado con contenido de materia orgánica en el suelo (MO), y el componente principal 2 con el contenido de limo. La forma y el color de las figuras geométricas indican la etiqueta para la localidad muestreada y el agrupamiento en clusters. Triángulos grises= Grupo 1, cuadros negros= Grupo 2, círculos negros= Grupo 3, círculos blancos= Grupo 4 y rombos blancos= Grupo 5.

En la gráfica de dispersión de las parcelas agrícolas, construida con los componentes principales MO y contenido de limo en el suelo, se observaron cinco grupos con cierta similaridad edáfica (Fig. 2.7). El primer grupo (triángulos grises), conformado por las parcelas Purépero 70, Jacona 76, Tangamandapio, Chavinda 78 e Ixtlán, se caracterizó por presentar suelos con textura arcillosa (>55% de arcilla), pH fuertemente ácido a medianamente alcalino (4.58-7.06), contenido medio a alto de MO (2.02-4.71%) y suelos no salinos a moderadamente salinos (0.6-3.25

mmhos·cm⁻¹). El segundo grupo (cuadros negros), lo constituyeron las parcelas Tanhuato 81 y Tanhuato 85, caracterizadas por presentar suelos de textura arcillosa y franco arcillosa (>31% de arcilla), medianamente alcalinos (7.6-7.63), contenido bajo a medio de MO (1.34-1.88%), y moderadamente salinos (2.28-2.75 mmhos·cm⁻¹). En el tercer grupo (círculos negros), conformado por las parcelas Tanhuato 45 y Tanhuato 52, los suelos fueron de textura franco arenosa (<17% de arcilla y >60% de arena), pH neutro a medianamente alcalino (6.92-8.47), bajo contenido de MO (0.67-1.34%) y CE baja (0.93-1.78 mmhos·cm⁻¹). El cuarto grupo (círculos blancos), constituido por las parcelas Tanhuato 86, Tanhuato 87 y Purépero 71, se caracterizó por presentar suelos con textura franco limosa a franco arcillosa (>46% de limo), pH fuertemente ácido y medianamente alcalino (4.96-8.49), con bajo a medio contenido de MO (0.67-3.36%), y CE baja (0.95-1.4 mmhos·cm⁻¹). El grupo cinco (rombos blancos) lo conformaron el resto de las parcelas, caracterizadas por presentar suelos con textura arcillosa, franca, franco arcillosa, franco limosa y franco arenosa (7.8-71.8% de arcilla y 10.2-68.2% de arena), pH fuertemente ácido a fuertemente alcalino (4.71-9.26), contenido bajo a alto de MO (1.34-3.36%), y suelos no salinos a salinos (0.90-6.74 mmhos·cm⁻¹).

Dos poblaciones de *N. aberrans* se encontraron en el grupo dos, una población en el grupo tres, dos en el grupo cuatro y tres en el grupo cinco. No se encontró similitud de características edáficas entre grupos, es decir, los grupos difieren en al menos una característica fisicoquímica.

2.4.2.6. Mapas interpolativos del potencial de ocurrencia de *N. aberrans*.

Con base en el análisis de PROC FACTOR, la proporción de arena, la presencia de juveniles y la proporción de limo en el suelo explicaron el 82.70% de la varianza total. La proporción de arena (factor 1), los juveniles (factor 2) y la proporción de limo (factor 3) contribuyeron con el 32.91, 27.48 y el 22.31% de la varianza total, respectivamente, y se utilizaron para generar los mapas interpolativos del potencial de ocurrencia de *N. aberrans* en la región de estudio.

Los valores del índice multivariado para la generación del mapa interpolativo de *N. aberrans* para el estado de Michoacán, se muestran el cuadro 2.10.

Cuadro 2.10. Índice multivariado para la generación del mapa interpolativo del potencial de ocurrencia de *N. aberrans* en el estado de Michoacán 2011.

LOCALIDAD	ARENA	JUVENILES	LIMO	INDICE MULTIVARIADO	LN	LO
1	-0.24843 ^a	-0.10499	0.24541	0.0213	20°16.273	102°24.060
2	0.41867	-0.29514	0.69395	0.0233	20°16.665	102°22.940
3	0.44349	-0.43907	1.86156	0.0249	20°18.032	102°19.899
4	2.61408	-0.4956	-0.33303	0.0264	20°17.836	102°19.772
5	1.21964	-0.33576	-1.2591	0.0219	20°17.745	102°17.118
6	2.23428	-0.24311	-1.57359	0.0240	20°18.695	102°18.409
7	-0.59712	-0.33985	0.18846	0.0199	20°18.696	102°18.409
8	0.14507	-0.45518	1.36893	0.0234	20°17.168	102°16.708
9	-0.40294	-0.36721	1.15221	0.0219	20°17.044	102°17.128
10	0.23202	4.87224	-0.36995	0.0314	20°16.936	102°17.606
11	0.1892	-0.29363	1.42218	0.0239	20°17.863	102°20.235
12	0.19182	-0.25119	0.70728	0.0228	20°18.499	102°20.829
13	0.53122	-0.33126	0.92558	0.0238	20°18.547	102°20.866
14	-0.36169	3.88523	-0.21592	0.0283	20°18.806	102°20.672
15	0.7464	1.34389	2.53597	0.0303	20°18.731	102°20.559
16	-0.53365	0.52802	2.04321	0.0248	20°18.586	102°20.476
17	0.41901	0.3919	-1.08476	0.0218	20°18.729	102°15.799
18	0.87674	-0.31229	-0.5242	0.0224	20°18.220	102°16.483
19	1.55206	-0.52903	0.86559	0.0258	20°18.540	102°16.611
20	0.0845	-0.13017	-0.95414	0.0201	20°19.523	102°17.994
21	0.0845	-0.13017	-0.95414	0.0201	20°19.238	102°18.132
22	0.46402	-0.32057	-0.77187	0.0210	20°19.580	102°16.354
23	1.29394	-0.32808	-0.52737	0.0233	20°19.280	102°17.791
24	0.08275	-0.15846	-0.47755	0.0208	20°17.278	102°30.487
25	-0.2869	-0.34673	0.43065	0.0211	20°17.447	102°30.646
26	-0.49933	-0.28332	-0.52136	0.0191	20°11.678	102°35.676
27	0.6464	-0.32494	0.44232	0.0233	20°10.284	102°36.532
28	-0.11492	-0.18771	-0.4881	0.0203	20°09.703	102°37.028
29	-0.4234	-0.15252	-1.20689	0.0185	20°09.565	102°37.087
30	-0.0029	0.13931	-0.05462	0.0219	20°10.224	102°37.996
31	-0.41945	-0.30286	0.68736	0.0212	20°10.032	102°37.972
32	-0.56775	-0.08566	-0.69974	0.0191	20°07.160	120°43.685
33	0.32141	-0.2254	-0.74132	0.0209	20°08.100	102°45.015
34	-0.30078	-0.23993	-0.7491	0.0193	20°11.079	102°36.008
35	0.49058	-0.43621	-0.08086	0.0219	19°58.408	102°04.007

36	-2.22604	-0.36972	-0.80103	0.0144	19°53.195	101°59.418
37	-1.5174	-0.4826	1.59483	0.0197	19°52.356	101°59.753
39	-0.72167	-0.60813	1.07157	0.0205	19°53.442	102°10.978
40	0.63927	0.00137	-0.42238	0.0226	19°56.732	102°15.533
41	-0.32997	-0.16674	-0.72521	0.0194	19°56.417	102°16.185
42	-1.38849	-0.14358	-0.47978	0.0174	19°56.642	102°16.115
43	-1.69959	-0.15085	-0.48367	0.0166	19°57.925	102°26.337
44	-1.66627	-0.04698	0.52238	0.0185	20°02.094	102°27.149
46	-2.38098	-0.46684	-1.56251	0.0126	20°10.297	102°28.797
47	0.79663	-0.18645	0.48851	0.0241	20°08.575	102°51.544
48	-0.02805	-0.09404	-1.18578	0.0196	20°06.675	102°50.262

LN= Latitud norte, LO= Longitud oeste.

^a Varianza proporcional para factor 1, 2 y 3 = 0.3291, 0.2748 y 0.2231, respectivamente.

Debido a la presencia de *N. aberrans* y a la proporción de limo y arena presente en la región de estudio, existen zonas con diferentes grados de potencial ocurrencia del nematodo (Figura 2.8). Siendo los municipios de Tanhuato, Yurécuaro, Ecuandureo, Cojumatlán de Regules, La Piedad e Ixtlán los que presentan las condiciones más favorables para la ocurrencia de *N. aberrans*. Estos municipios se concentran en una de las zonas hortícolas más importante del estado de Michoacán, en donde la agricultura es predominantemente de riego, en muchos casos riego por gravedad, y la maquila de tierras es una actividad agrícola común, lo cual incrementan los riesgos de diseminación de este nematodo a otras áreas que actualmente se encuentran libre del patógeno.

Los municipios de Sahuayo, Venustiano Carranza, Jiquilpán, Villamar, Vista hermosa, Zamora, Jacona, Briseñas, Tangancícuaro y Tlazazalca muestran un potencial de ocurrencia medio de *N. aberrans*; mientras que los municipios con menor potencial a la ocurrencia del nematodo son Chavinda, Tangamandapio, Marcos Castellanos, Chilchota y Purépero.

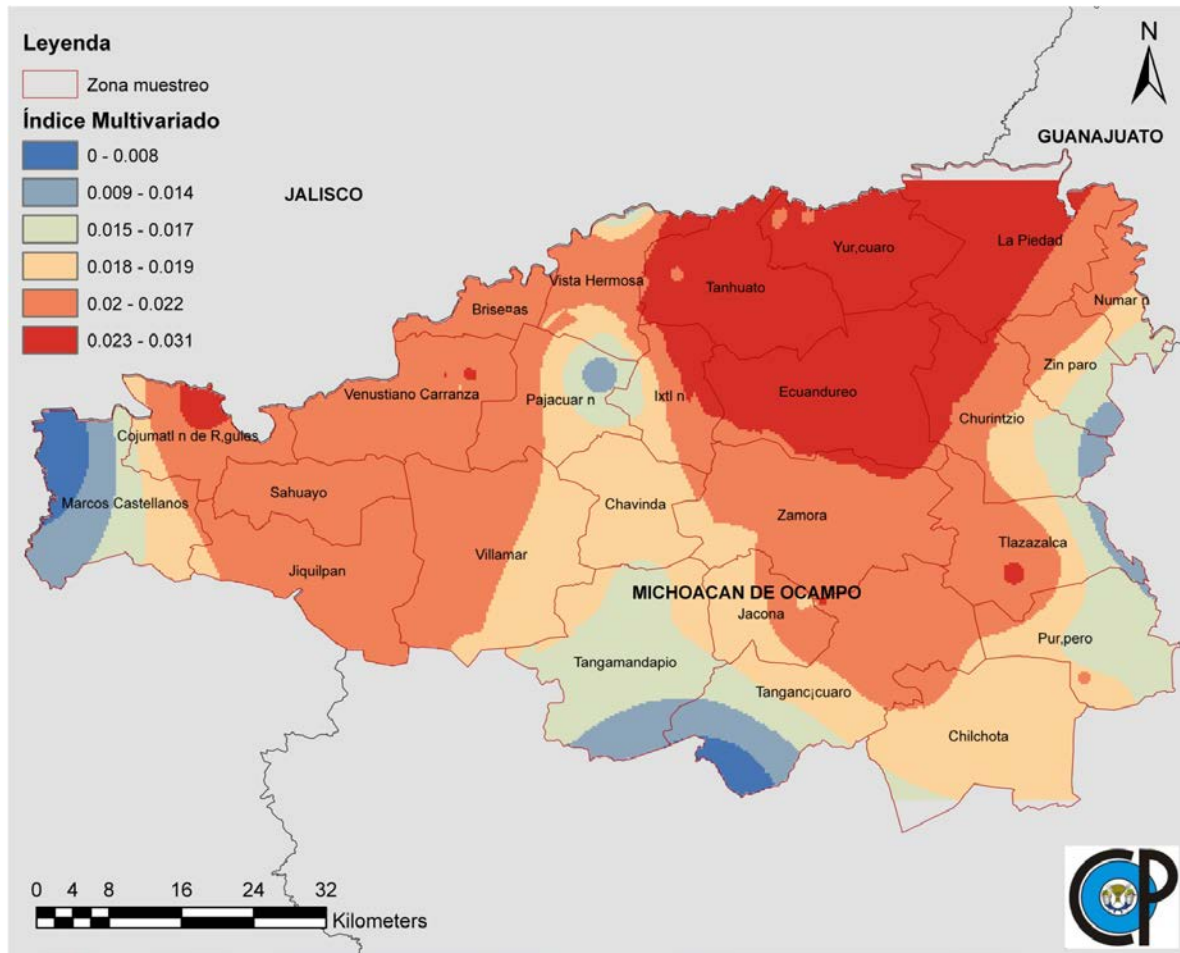


Figura 2.8. Mapa interpolativo del potencial de ocurrencia de *N. aberrans* en el estado de Michoacán en función de la proporción de limo y arena en el suelo, y del número de juveniles (2011). Los recuadros a color indican el grado del potencial de ocurrencia de *N. aberrans* en el estado 0-0.003 menor ocurrencia y 0.023-0.031 mayor ocurrencia.

2.5. DISCUSIÓN

Las características morfológicas de los juveniles y las hembras adultas de los nematodos recolectados en Michoacán correspondieron a *N. aberrans*, dichas características fueron similares a los ejemplares recolectados en el estado de Guanajuato y coinciden con las descritas por Sher (1970) y Manzanilla-López *et al.* (2002) a partir de ejemplares vermiformes inmaduros y hembras maduras de *N. aberrans* recolectados en Norte América, Europa y Suramérica. Se observaron características morfológicas contrastantes en las hembras maduras recolectadas en Tanhuato 85; estos especímenes fueron más alargados y delgados en comparación con el resto de las poblaciones. Dichas características estuvieron posiblemente influenciadas por la especie vegetal y/o las condiciones ambientales en las que se han desarrollado, o por alguna variación de tipo genética, por lo que estudios de naturaleza molecular podrían ayudar a esclarecer esta situación.

Considerando que *N. aberrans* tiene un amplio rango de hospedantes (Toledo *et al.*, 1993; Manzanilla-López *et al.*, 2002; OEPP/EPPO, 2009), se muestrearon cultivos pertenecientes a diferentes familias botánicas, los cuales, además de ser de importancia comercial, económica y alimenticia, son hospedantes de este nematodo. El frijol, chile y jitomate están entre los hospedantes más importantes en México y Suramérica (Canto-Sáenz, 1992; Ferris, 1999; OEPP/EPPO, 2009) por la superficie que se destina a su producción. También se recolectaron muestras de cebolla y espárrago que no son hospedantes de *N. aberrans* (Montoya, 1994), pero en los suelos en donde se cultivaron se habían sembrado previamente especies hospedantes pertenecientes a la familia Cucurbitaceae (*Cucumis melo* y *Citrullus vulgaris*), pero no se encontró al nematodo.

Las plantas de jitomate, pepino, tomate, chile y zanahoria infectadas por *N. aberrans* presentaron síntomas típicos a los inducidos por nematodos agalladores (Schuster *et al.*, 1965; Manzanilla-López *et al.*, 2002; OEPP/EPPO, 2009), con algunas diferencias en severidad determinadas por el nivel poblacional del nematodo y por la especie vegetal cultivada (Toledo, 1989; Cid del Prado, 1993).

Los daños más severos se presentaron en plantas de jitomate encontradas en las localidades de Tanhuato 81, 85 y 86 y en Yurécuaro 47. Las agallas inducidas en

plantas de jitomate provenientes de Tanhuato (52, 81, 86, 87), Yurécuaro (47) y en San José Iturbide, así como las inducidas en chile, calabaza, pepino, tomate y zanahoria, presentaron una sola hembra y se distribuyeron a lo largo del eje de la raíz, adquiriendo una apariencia de rosario, lo que coincide con lo reportado por Costilla (1985) y Canto-Sáenz (1992) en raíces de papa. De manera contrastante, y aun cuando las plantas de jitomate de Tanhuato 85 estuvieron coinfectadas con *M. incognita*, las agallas inducidas por *N. aberrans* fueron más alargadas y con al menos dos hembras. Estas observaciones concuerdan con lo demostrado por Inserra *et al.* (1984) al inocular *Heterodera schachtii*, *M. hapla* y *N. aberrans*, individualmente y en combinación, en plántulas de remolacha. En esa investigación, se observó que *N. aberrans* indujo agallas más grandes y se encontraron juveniles, hembras y quistes de *M. hapla* y *H. schachtii* en las mismas raíces hinchadas y agalladas de la remolacha, similar a lo reportado por Costilla (1985) en plantas de tomate y chile cultivadas en Suramérica.

De acuerdo con Manzanilla-López *et al.* (2002) y Bravo-Baldeón (1977), los cultivares de una misma especie vegetal pueden reaccionar de manera diferente a una población de una especie de nematodos, y las poblaciones de nematodos de una misma región geográfica pueden diferir en hospedantes y preferencias de cultivares, provocando más daño en algunos hospedantes que otros; por lo que es posible que las diferencias en el tamaño de las agallas y en el número de hembras presentes por agalla en los cultivos evaluados se hayan debido a que los hospedantes correspondieron a diferentes especies y genotipos, y a que las poblaciones de *N. aberrans* y las condiciones edafoclimáticas no fueron las mismas.

El primer registro de *N. aberrans* en el estado de Michoacán fue en 1992, en el municipio de Yurécuaro, asociado al cultivo de jitomate (Montes-Belmont, 2000). En esta investigación, se encontró en Yurécuaro, Tanhuato y Pajacuarán (18.75% de los municipios evaluados), afectando calabacita, pepino y jitomate. En Guanajuato, reportado desde 1973 (Sosa-Moss y Muñoz, 1973), se encontró en chile, zanahoria, jitomate y tomate en Celaya, Romita y San José Iturbide. Es claro que se mantiene la presencia del nematodo en Michoacán y Guanajuato, pero con distribución

restringida. Sin embargo, este estudio se enfocó a las principales regiones hortícolas, por lo que no se descarta infestación de otros municipios.

Con relación a las características físico-químicas del suelo, las poblaciones de *N. aberrans* se encontraron asociados a suelos de textura fina (arcillosa) y media (franco arcillosa, franco arenosa y franco limosa). En Michoacán, los suelos presentaron contenido bajo a medio de MO, proporción de limo del 20-54% y 17-49% de arcilla; mientras que en Guanajuato los suelos presentaron contenido medio de MO, proporción de limo del 26-40% y 19-51% de arcilla.

De acuerdo con Barker y Weeks (1991), el suelo puede tener un efecto ligero a moderado en la reproducción de nematodos agalladores; sin embargo, la proporción de arena, limo y arcilla del suelo en las áreas de estudio parece no ser una determinante importante en la movilidad, desarrollo, reproducción y patogenicidad de *N. aberrans*, como ocurre con especies de *Meloidogyne*, donde la predominancia de microporos con niveles bajos de oxígeno afectan el metabolismo, movimiento y patogenicidad de los juveniles (Carter, 1975; Prot y Van Gundy, 1981; Shane y Barker, 1986; Guzmán-Plazola *et al.*, 2006, 2008; Aballay *et al.*, 2009), generando también un efecto negativo sobre el crecimiento y reproducción de las hembras de *Meloidogyne incognita* (Shane y Barker, 1986; Windhan y Barker, 1986; Jordaan *et al.*, 1989; Barker y Weeks, 1991; Robinson *et al.*, 1987; Koenning *et al.*, 1996). De manera contraria, la reproducción de las hembras de *Rotylenchulus reniformis* es favorecida por niveles moderados de limo más arcilla (28%) (Koenning *et al.*, 1996) y comúnmente está asociado a suelos de textura fina (Starr *et al.*, 1993). Lo anterior, sugiere que *N. aberrans* posee una amplia adaptación a diferentes tipos de suelo, lo que posiblemente le confieren una mayor ventaja competitiva sobre *M. incognita*, ya que aparentemente *N. aberrans* puede desarrollarse y reproducirse en niveles más altos de limo y arcilla, sin embargo se requiere de estudios posteriores para corroborar esta hipótesis.

La presencia de *N. aberrans* en Guanajuato y Michoacán se asoció principalmente a suelos con contenido bajo a medio de materia orgánica, coincidiendo con lo reportado por Costilla (1985) y Manzanilla-López *et al.* (2002). Dicha asociación probablemente se deba a que estos suelos presentan una menor densidad de

microorganismos supresivos (parásitos y/o depredadores) a fitonematodos (Singh y Sitaramaiah, 1966; Muller y Gooch, 1982; Sikora y Fernández, 2005), lo que favorece su distribución, desarrollo y reproducción.

Tomando en cuenta lo anterior, una práctica recomendable para el manejo de fitonematodos es la incorporación de materia orgánica, lo cual, de acuerdo con Rodríguez-Kábana (1991) y Cristóbal-Alejo, *et al.* (2006), estimula cierto grado de tolerancia por parte de las plantas y favorece la liberación de compuestos nematicidas o nemastáticos, así como la aparición e incremento de organismos antagonistas del nematodo.

En Guanajuato, las poblaciones de *N. aberrans* asociadas a suelos ácidos, neutros, mediana y fuertemente alcalinos corroboran que esta especie puede adaptarse a un amplio rango de características edáficas, lo que coincide con lo reportado por Costilla (1985) y Yáñez-Juárez *et al.* (2001) con poblaciones de Argentina y México. Lo anterior nos indica la plasticidad biológica de este fitonematodo a condiciones de pH, el cual puede tener poca influencia sobre su comportamiento, ecología y patogenicidad (Godfrey y Hagan, 1933; Steiner, 1952; Bird, 1959). La presencia de juveniles y la severidad de los daños causados por *N. aberrans* no se relacionó con el pH del suelo, lo cual coincide con lo reportado con otras especies de nematodos como *Meloidogyne* y *R. reniformis* en el Valle del Mezquital, Hidalgo, México y Texas, U.S.A. (Starr *et al.*, 1993; Guzmán-Plazola *et al.*, 2008).

El cálculo de componentes principales de las variables fisicoquímicas del suelo fue útil para agrupar los sitios muestreados. Con base en estos cálculos, en Guanajuato, se generaron cuatro grupos en función del número de juveniles, la proporción de limo y el pH del suelo; mientras que en Michoacán, el contenido de materia orgánica, la proporción de limo y arena, y el número de juveniles dieron lugar a cinco grupos. Cabe señalar que la proporción de arcilla y la conductividad eléctrica no contribuyeron de manera significativa en el porcentaje acumulado de varianza total de los componentes principales debido a la homogeneidad relativamente alta de sus valores entre los sitios de muestreo. El diagrama de dispersión obtenido a partir de componentes principales indicó que las poblaciones de *N. aberrans* se localizan en grupos de parcelas agrícolas que presentan cierto grado de similaridad edáfica.

Los mapas interpolativos mostraron que las zonas hortícolas de Guanajuato y Michoacán presentaron diferentes grados de riesgo a la ocurrencia de *N. aberrans*. Las zonas agrícolas intensivas tuvieron índices muy elevados, contrario a las zonas de agricultura de temporal; sin embargo, en el futuro no se descarta la potencial presencia de *N. aberrans* en estas áreas, ya que los agricultores cuentan con pequeñas superficies de terreno y rentan la maquinaria agrícola para la preparación de sus tierras, lo cual podría permitir la entrada del patógeno a sus terrenos; además de que en este estudio se observó que *N. aberrans* presenta una buena adaptación a un amplio rango de tipos de suelo.

Las características fisicoquímicas del suelo no constituyen estrictamente un factor asociado a las zonas de ocurrencia de *N. aberrans*; sin embargo es posible que la distribución de *N. aberrans* se deba al manejo histórico que los agricultores de la región le han dado a sus suelos. Algunas de estas actividades agrícolas son: la maquila de tierras y plantas, y riego rodado, principalmente, así como la ausencia de programas de manejo integral de nematodos y otros patógenos. Los productores se han guiado empíricamente para determinar la conveniencia o no de un determinado cultivo, de esta manera los productores de las zonas de alto riesgo, durante muchos años han repetido siembras de hospederos susceptibles a *N. aberrans*, induciendo una presión de selección que probablemente ya haya formado razas. Es imperativo en los siguientes años estudiar este aspecto, así como convencer a las autoridades y a las asociaciones de productores para que financien programas de manejo de nematodos, puesto que una racionalización de siembras, cultivos susceptibles y no susceptibles podrían abatir los niveles poblacionales de *N. aberrans* mitigando el daño que causa en los cultivos y su nivel de riesgo.

Considerando la predisposición que muestran las áreas agrícolas evaluadas a la infestación de *N. aberrans*, es posible definir correctamente los objetivos de los programas de manejo, ya que una vez que este nematodo se introduce a una área agrícola es virtualmente imposible erradicarlo. De esta manera, los programas de manejo deben implementarse mediante el empleo racional de diversos componentes (muestreos, identificación, monitoreo, niveles poblacionales aceptables, tácticas de control, etc.) que no siempre garantizan su efectividad por la compleja interrelación

de los factores ambientales. Por otro lado, en las áreas libres de *N. aberrans* pero que muestran condiciones favorables para su establecimiento y desarrollo, deben implementarse estrategias que eviten la entrada de material infestado y/o infectado con este fitonematodo.

2.6. CONCLUSIONES

N. aberrans se encontró restringido a seis municipios con producción hortícola de los estados de Guanajuato y Michoacán. Los cultivos afectados fueron tomate (*P. ixocarpa*), calabacita (*C. pepo*), pepino (*C. sativus*), chile (*C. annuum*) y jitomate (*S. lycopersicum*); este último con los mayores porcentajes de agallamiento (15-100%).

El análisis de componentes principales de las variables fisicoquímicas del suelo discriminó entre suelos favorables y no favorables para la ocurrencia de *N. aberrans* en las regiones de estudio.

En Guanajuato, los sitios favorables presentaron pH neutro a medianamente alcalino, y proporción de limo menor al 40%. En Michoacán los suelos presentaron contenido bajo a medio de materia orgánica, proporción de limo del 20-54%, y 18-62% de arena.

El nematodo se asoció a suelos con contenido bajo a medio de materia orgánica y de textura fina a media, con mayor abundancia en Tanhuato, Michoacán.

El estado de Guanajuato presentó tres zonas de mayor vulnerabilidad a la distribución de *N. aberrans*, con base en la proporción de limo y pH del suelo.

En Michoacán, los municipios que presentan las condiciones edáficas más favorables para la ocurrencia de *N. aberrans*, principalmente por su contenido de materia orgánica, proporción de limo y arena en el suelo son Tanhuato, Yurécuaro, Ecuandureo, Cojumatlán de Regules, La Piedad e Ixtlán; mientras que Sahuayo, Venustiano Carranza, Jiquilpán, Villamar, Vista hermosa, Zamora, Jacona, Briseñas, Tangancícuaro y Tlazazalca muestran potencial ocurrencia media al nematodo.

Los mapas interpolativos del potencial de ocurrencia de *N. aberrans* pueden contribuir a la toma de decisiones para la implementación de programas de manejo integrado para este nematodo.

2.7. LITERATURA CITADA

- Aballay, E., P. Persson y A. Martensson. 2009. Nematodos fitoparásitos en viñedos de Chile. *Nematropica* 39:85-97.
- Alarcón, C. y P. Jatala. 1977. Efecto de la temperatura en la resistencia de *Solanum andigena* a *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 7(2):2-3.
- Barker, K. R., and W. W. Weeks. 1991. Relationships between soil and levels of *Meloidogyne incognita* and tobacco yield and quality. *Journal of Nematology* 23(1):82-90.
- Bird, A. F. 1959. The attractiveness of roots to the plant parasitic nematodes *Meloidogyne javanica* and *M. hapla*. *Nematologica* 4(4):322-335.
- Bongers, T., y M. Bongers. 1998. Functional diversity of nematodes. *Applied Soil Ecology* 10:239-251.
- Bravo-Baldeon, J. 1977. Differential pathogenicity of *Nacobbus* spp. from two locations (Puno and Mantaro Valley) on two host plants. *Nematropica* 7:3.
- Brown, L. N. 1933. Flooding to control root-knot nematodes. *Journal of Agricultural Research* 47:883-888.
- Brunner de Magar, P. 1967. "Jicamilla" del Chile causado por un nuevo nematodo y obtención de fuentes de resistencia. *Agrociencia* 2:92-98.
- Canto-Sáenz, M. 1992. Life cycle and pathogenicity of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne and Allen, 1944. Pp. 113-127 in F. J. Gommers and P. W. Th. Maas eds. *Nematology from Molecule to Ecosystem*. European Society of Nematologists: Invergowrie, Dundee, Scotland.
- Carter, W. W. 1975. Effects of soil texture on the interaction between *Rhizoctonia solani* and *Meloidogyne incognita* on cotton seedlings. *Journal of Nematology* 7(3):234-236.
- Castellanos, J. Z., B. J. X. Uvalle, y S. A. Aguilar. 2000. Manual de interpretación de suelos y aguas. 2ª ed. Colección INCAPA. México, D.F. 226p.
- Ceja-Torres, L. F., G. Mora-Aguilera, D. Téliz, A. Mora-Aguilera, P. Sánchez-García, C. Muñoz-Ruiz, B. Tlapal-Bolaños y R. De la Torre-Almaraz. 2008. Ocurrencia de hongos y etiología de la secadera de la fresa con diferentes sistemas de manejo agronómico. *Agrociencia* 42(4):451-461.
- Cid del Prado, V. I. 1993. Morphological variation and host test for Mexican populations of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944. *Nematropica* 23:113.
- Cid del Prado, V. I., S. A. Tovar y H. J. Alfonsina. 2001. Distribución de especies y razas de *Meloidogyne* en México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 19 (001): 32-39.
- Cobb, N. A. 1918. Estimating the nema population of the soil. *Agric. Tech. Circ. I. Bur. Plant, Industr. U.S. Depart. Agric.* 48p.
- Costilla, M. A. 1985. El falso nematodo del nudo *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944 y su relación con el cultivo de papa en el noreste argentino. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán*. 62:79-97.
- Cristóbal-Alejo, J., G. Mora-Aguilera, R. H. Manzanilla-López, N. Marbán-Mendoza, P. Sánchez-García, I. Cid del Prado Vera and K. Evans. 2006. *Epidemiology*

- and integrated control of *Nacobbus aberrans* on tomato in Mexico. *Nematology* 8(5):727-737.
- Duncan, L. W. 1991. Current options for nematode management. *Annual Review of Phytopathology* 29:469-490.
- Edongali, E. A., and H. Ferris. 1982. Varietal Response of Tomato to the Interaction of Salinity and *Meloidogyne incognita* Infection. *Journal of Nematology* 14:57-62.
- Esquivel, A. 2003. Nematode fauna of Costa Rican protected areas. *Nematropica*. 33:131-145.
- ESRI, 2003. ArcGIS 9: Using ArcGIS Geostatistical Analyst. ESRI Press, Redlands, CA. 300p.
- Ferris, H. 1999. *Nacobbus aberrans*. University of California. UC Davis, California. *In*: <http://plpnemweb.ucdavis.edu> Consultada el 12 de marzo de 2011.
- Flores, L. F. J., y C. A. Scott. 2000. Superficie agrícola estimada mediante análisis de imágenes de satélite en Guanajuato, México. IWMI. Serie Latinoamericana No. 15. México, D. F. 60p.
- Franco, J., J. Ramos, R. Oros, G. Main y N. Ortuño. 1999. Pérdidas económicas causadas por *Nacobbus aberrans* y *Globodera* spp. en el cultivo de la papa en Bolivia. *Revista Latinoamericana de la papa*. 11:40-66.
- Gabriel, K. R. 1971. The biplot graphic display of matrices with application to principal component analysis. *Biometrika* 58:453-467.
- Godfrey, G. H. and H. R. Hagan. 1933. Influence of soil hydrogen-ion concentration on infection by *Heterodera radicum* (Greeff) Muller. *Soil Science*, 35:175-184.
- Guzmán-Plazola, R. A., B. Hernández-Flores, F. Franco-Navarro y M. Cadena-Hinojosa. 2008. Nematodos agalladores en la Vega de Metztlán, Hidalgo: Identificación, distribución espacial y relación con factores edáficos. *Nematropica* 38:47-61.
- Guzmán-Plazola, R. A., N. J. Jaraba, E. Caswell-Chen, E. Zavaleta-Mejía and I. Cid del Prado-Vera. 2006. Spatial distribution of *Meloidogyne* species and races in the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) producing region of Morelos, Mexico. *Nematropica* 36:215-229.
- Hammond, P. M. 1992. Species inventory. *In* Global diversity status of the Earth's living resources, B. Groombridge (ed.). Chapman & Hall, London. p. 17-39.
- Hawkins, D. M. and L. P. Fatti. 1984. Exploring multivariate data using the minor principal components. *Statistician* 33:325-338.
- Insera, N. R., G. D. Griffin, N. Vovlas, J. L. Anderson, and E. D. Kerr. 1984. Relationship between *Heterodera schachtii*, *Meloidogyne hapla*, and *Nacobbus aberrans* on Sugarbeet. *Journal of Nematology* 16(2):135-140.
- Hugot, J. P., P. Baujard y S. Morand. 2001. Biodiversity in helminths and nematodes as a field of study: an overview. *Nematology* 3:99-208.
- INEGI. 2005. Marco geoestadístico municipal II. Censo de Población y Vivienda 2005 (MGM-II Censo 2005) Versión 1.0. *In*: www.cuentame.inegi.gob.mx Consultada el 05 de febrero de 2011.
- Jolliffe, I. T. 2002. Principal Component Analysis. 2nd edition. Springer. Series in Statistics. Springer-Verlag, New York, USA. 502p.

- Jordaan, E. M., D. De Waele and P. J. Van Rooyen. 1989. Endoparasitic nematodes in maize roots in the Western Transvaal as related to soil texture and rainfall. *Journal of Nematology* 21(3):356-360.
- Koenning, S. R., S. A. Walters and K. R. Barker. 1996. Impact of soil texture on the reproductive and damage potentials of *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne incognita* on cotton. *Journal of Nematology* 28(4):527-536.
- Manzanilla-López, R. H. 1997. Studies on the characterization and bionomics of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae), Ph. D. Thesis University of Reading. U.K. 395p.
- Manzanilla-López, R. H., M. A. Costilla, M. Doucet, J. Franco, R. N. Inserra, P. S. Lehman, I. V. Cid Del Prado, R. M. Souza and K. Evans. 2002. The genus *Nacobbus* Thorne and Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): systematics, distribution, biology and management. *Nematropica* 32: 149-227.
- McSorley, R. 1987. Extraction of nematodes and sampling methods. Pp. 13-47 in R. H. Brown and B. R. Kerry (eds.). Principles and practice of nematode control in crops. Academic Press. Orlando. 447p.
- Montes-Belmont, R. 2000. *Nematología Vegetal en México*. Investigación documental. Sociedad Mexicana de Fitopatología. Cd. Obregón, Sonora, México. 98p.
- Montoya, F. 1994. Rango de hospedantes del nematode falso agallador *Nacobbus aberrans* (Thorne 1935) Thorne y Allen 1944, en los municipios de Villa de Cos, Panuco y Guadalupe, Zacatecas. 68p.
- Mora-Aguilera, G. 2000. El muestreo en la sanidad: Principios y aplicaciones. *In: Principios de Salud Animal y Fitosanidad*. Cibrian T., J. E., y S. Anaya R. (comps.). Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. pp: 103-124.
- Mora-Aguilera, G. and C. L. Campbell. 1997. Multivariate techniques for selection of epidemiological variables. Pp. 51-58. *In: Exercises in Plant Disease Epidemiology*. L. Franci and D. A. Neher (eds). American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Mora-Aguilera, G., D. Nieto-Angel, C. L. Campbell, D. Téliz and E. García. 1996. Multivariate comparison of papaya ringspot epidemics. *Phytopathology* 86:70-78.
- Muller, R. and P. S. Gooch. 1982. Organic amendments in nematode control: an examination of the literature. *Nematropica* 12:319-326.
- Norton, D. C. 1978. Ecology of plant-parasitic nematodes. New York: John Wiley Sons, Inc. 268pp.
- OEPP/EPPO. 2009. *Nacobbus aberrans* sensu lato. Bulletin OEPP/EPPO. PM 7/5 (2). Bulletin 39:376-381.
- Platt, H. M. 1994. Foreword. In: Lorenzen S, editor. The phylogenetic systematics of free-living nematodes. London: The Ray Society.
- Prasad, S. K. and J. M. Webster. 1967. Effect of temperature on the rate of development of *Nacobbus serendipiticus* in excised tomato roots. *Nematologica* 13:85-90.
- Prot, J. C. and S. D. Van Gundy. 1981. Effect of Soil Texture and the Clay Component on Migration of *Meloidogyne incognita* Second-stage Juveniles. *Journal of Nematology* 13(2):213-217.

- Rhoades, H. L. 1964. Effect of fallowing and flooding on root knot in peat soil. *Plant Disease Reporter* 48: 303-306.
- Robinson, A. F., C. M. Heald, S. Flannagan, W. H. Thames and J. Amador. 1987. Geographic distribution of *Rotylenchulus reniformis*, *Meloidogyne incognita*, and *Tylenchulus semipenetrans* in the Lower Rio Grande Valley as related to soil texture and land use. *Annals of Applied Nematology* 1:20–25.
- Rodríguez-Kábana, R. 1991. Control biológico de nematodos parásitos de plantas. *Nematropica* 21:111-122.
- SAS Institute Inc. 2011a. SAS/STAT®9.3 User's Guide The PRINCOMP Procedure. Cary, NC, USA. p.6057-6106.
- SAS Institute Inc. 2011b. SAS/STAT®9.3 User's Guide The CLUSTER Procedure. Cary, NC, USA. p.1820-1908.
- Schuster, M. L., R. Sandstedt and L. W. Estes. 1965. Host-parasite relations of *Nacobbus batatiformis* and the sugar beet and other hosts. *Journal of the American Society of Sugar Beet Technology* 6:523-537.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación, Segunda Sección. Publicado el 23 de abril de 2003.
- Shane, W. W. and K. R. Barker. 1986. Effects of temperature, plant age, soil texture, and *Meloidogyne incognita* on early growth of Soybean. *Journal of Nematology* 18(3):320-327.
- Sher, S. A. 1970. Revision of the Genus *Nacobbus* Thorne and Allen, 1944 (Nematoda: Tylenchoidea). *Journal on Nematology* 2(3):228-235.
- Sikora, R. A. and E. Fernández. 2005. Nematode parasites of vegetables. In: Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J. (eds) *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*, 2nd ed. CAB International, Wallingford, UK, pp. 319-392.
- Singh, S. K., U. R. Khurma, and P. J. Lockhart. 2012. Distribution and diversity of root-knot nematodes in agricultural areas of Fiji. *Nematropica* 42:16-25.
- Singh, R. S. and K. Sitaramaiah. 1966. Incidence of root-knot of okra and tomato in oil-cake-amended soil. *Plant Disease Reporter* 50:668-672.
- Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2010. Cierre de la producción agrícola por cultivo. In: www.siap.gob.mx/ Consultada el 13 de septiembre de 2010.
- Sosa-Moss, C., y V. Muñoz, G. 1973. Respuesta de dos variedades de tomate (*L. esculentum* Mill.) a siete niveles de población de *Nacobbus serendipiticus* (nematoda: Nacobbidae). *Nematropica* 3:16-17.
- Sotomayor, D., L. H. Allen Jr., Z. Chen, D. W. Dickson and T. Hewlett. 1999. Anaerobic soil management practices and solarization for nematode control in Florida. *Nematropica* 29:153-170.
- Sögüt, M. A., and Devran, Z. 2011. Distribution and molecular identification of root lesion nematodes in temperate fruit orchards of Turkey. *Nematropica* 41:91-99.
- Starr, J. L., C. M. Heald, A. F. Robinson, R. G. Smith and J. P. Krausz. 1993. *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* and associated soil

- textures from some cotton production areas of Texas. Supplement to Journal of Nematology 25:895-899.
- Steiner, G. 1952. The soil in its relationship to plant nematodes. Proceedings-Soil Science Society of Florida 12:24-29.
- Tarjan, A. C. 1971. Migration of three pathogenic citrus nematodes through two Florida citrus soils. Soil and Crop Science Society of Florida Proceedings 31:253-255.
- Toledo, R. J. 1989. Caracterización patogénica de cinco poblaciones de *Nacobbus aberrans* y evaluación del daño que causa a tomate, chile y frijol en México. Tesis de maestría en ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 64 p.
- Toledo, R. J. C., C. Sosa-Moss and E. Zavaleta-Mejía. 1993. Host range of the mexican population of *Nacobbus aberrans*. Nematropica 23:105-108.
- USDA (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos). 1999. Guía para la Evaluación de la Calidad y Salud del Suelo. Departamento de Agricultura-Instituto de Calidad de suelos. USA. 82p.
- Volcy, E. C. 1998. Nematodos. Diversidad y parasitismo en plantas. Tomo II. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 182p.
- Wasilewska, L. 2004. Nematofauna of the shelterbelts in the agricultural landscape. Polish Journal of Ecology 52(2):99-113.
- Windhan, G. L. and K. R. Barker. 1986. Effects of soil type on the damage potential of *Meloidogyne incognita* on Soybean. Journal of Nematology 18(3): 331-338.
- Yáñez-Juárez, G. M., E. Zavaleta-Mejía, C. Flores-Revilla, J. J. Chávez-Alfaro and R. Valdivia-Alcalá. 2001. Management of Wilting (*Phytophthora capsici* Leo.), Root Gallings (*Nacobbus aberrans* Thorne and Allen), and Virosis in Pepper (*Capsicum annuum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 19:40-48.
- Yeates, G. W., T. Bongers, R. G. M. De Goede, D. W. Freckman and S. S. Georgieva. 1993. Feeding habits in soil nematode families and genera -An outline for soil ecologists. Journal of Nematology 25:315-331.

CAPÍTULO III

ESTRUCTURA GENÉTICA DE POBLACIONES DE *Nacobbus aberrans* DEL CENTRO DEL BAJÍO, MÉXICO

Resumen

Se analizó la variabilidad genética de poblaciones de *Nacobbus aberrans* recolectadas en los estados de Guanajuato y Michoacán. Las poblaciones del nematodo se incrementaron en plantas de jitomate en condiciones de invernadero. La extracción del DNA se hizo de hembras adultas usando el protocolo de Life Technologies y el kit comercial Phire animal tissue direct PCR®. Se amplificaron las regiones 18S e ITS del DNA ribosomal y la región COI de la mitocondria usando primers universales. El fragmento 18S se digirió con las enzimas de restricción *Hae* III, *Hinf* I, *EcoR* I y *Rsa* I. Las secuencias de los genes 18S y COI se editaron y analizaron filogenéticamente. Los primers 18S, ITS y COI amplificaron fragmentos de 900 y 800, 800 y 400 pb respectivamente. Solamente el análisis de digestión con la enzima *Hae*III originó dos grupos claramente definidos. El análisis de las secuencias de la región 18S del DNA ribosomal separó las poblaciones de *N. aberrans* formando dos grupos genéticamente bien diferenciados. El análisis filogenético del gene 18S por Máxima Parsimonia generó un árbol que agrupó todas las poblaciones de *Nacobbus* con el género *Pratylenchus*, separándolas de *Meloidogyne* con un 99% de confiabilidad. Las poblaciones de *N. aberrans* de Guanajuato y Michoacán se agruparon en un mismo clado con las accesiones de esta especie reportadas en el GenBank. El gen COI del DNA mitocondrial generó un estricto consenso de tres árboles parsimoniosos principales, indicando que las poblaciones de *N. aberrans* presentan un ancestro común, cuyas variaciones son el resultado de cambios microevolutivos recientes.

Palabras clave: Variabilidad genética, citocromo oxidasa I, gene 18S, PCR-RFLPs, filogenia.

CHAPTER III
GENETIC STRUCTURE OF POPULATION *Nacobbus aberrans* OF THE IN
CENTRAL BAJIO, MEXICO

Abstract

The genetic variability of *Nacobbus aberrans* populations of Guanajuato and Michoacán were analyzed. These populations were increased in tomato plants under greenhouse conditions. DNA extraction was done from adult females with the protocol of Life Technologies and the Kit Phire Animal tissue. The ITS and 18S-DNAr regions and the COI-DNAmt were amplified with universal primers. The 18S fragment was digested with the restriction enzymes *HaeIII*, *HinfI*, *RsaI* and *EcoRI*. The sequences of the 18S and COI gene were edited and analyzed phylogenetically. The primers 18S, ITS and COI amplified fragments of 900, 800, 800 and 400 bp, respectively. The digestion with *HaeIII* originated two clearly defined groups. The analysis of the 18S-DNAr region sequences separated *N. aberrans* populations in two genetically distinct groups. Phylogenetic analysis of the 18S gene by Maximum Parsimony generated one tree which grouped all *Nacobbus* populations with *Pratylenchus*, separating them of *Meloidogyne* with 99% confidence. *N. aberrans* populations of Guanajuato and Michoacán were grouped in the same clade with accessions of this species reported in GenBank. The COI-DNAmt gene generated a strict consensus of three parsimonious trees, indicating that *N. aberrans* populations have a common ancestor, whose variations are the result of recent microevolutionary changes.

Keywords: Genetic variability, cytochrome oxidase I, 18S gene, PCR-RFLP, phylogeny.

3.1. INTRODUCCIÓN

El género *Nacobbus*, distribuido en Norte y Suramérica (Manzanilla-López, 2010), incluye especies endoparásitas cuya validez ha sido motivo de controversia. De acuerdo con Thorne y Schuster (1956), Franklin (1959) y Lordello *et al.* (1961), se tienen descritas cuatro especies nominales (*N. batatiformis*, *N. serendipiticus*, *N. aberrans* y *N. dorsalis*) y una subespecie (*N. serendipiticus bolivianus*). Sin embargo, en la primera revisión detallada del género, Sher (1970) validó solamente dos especies, las cuales a la fecha se siguen reconociendo como *N. dorsalis* Thorne & Allen, 1944 (la especie tipo) y *N. aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944.

Se tiene poca información sobre la caracterización de *N. dorsalis* debido a su poca importancia económica y limitada distribución geográfica, siendo ocasionalmente encontrada en campos de remolacha en Estados Unidos de América (Baldwin y Cap, 1992). En contraste, *N. aberrans* es un fitoparásito de importancia agrícola con una gran heterogeneidad morfológica y amplio rango de hospedantes, que se distribuye ampliamente en las regiones tropicales y templadas del continente Americano parasitando a más de 40 géneros vegetales (Ibrahim *et al.*, 1997; Atkins *et al.*, 2005; Manzanilla-López, 2010).

Dicha heterogeneidad fenotípica sugiere la posibilidad de que el género *Nacobbus* está representado por un complejo de especies con una serie de biotipos o razas fisiológicas; y debido a que los estudios morfológicos no han aportado datos contundentes para establecer sus límites taxonómicos, se requiere de la aplicación de otras herramientas que provean de bases adecuadas para definir su clasificación (Jatala y Golden, 1977; Baldwin y Cap, 1992; Ibrahim *et al.*, 1997).

El uso de métodos moleculares incluyendo el análisis de polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLPs) provee una clara discriminación de las variaciones intra e interespecíficas de nematodos fitopatógenos y permiten la diferenciación entre poblaciones de nematodos (Powers *et al.*, 1997; Stanton *et al.*, 1997; Devran *et al.*, 2002).

Existen varios reportes sobre la gran variabilidad genética y fisiológica intraespecífica entre poblaciones de *N. aberrans* procedentes de diferentes áreas geográficas (Ibrahim *et al.*, 1997; Manzanilla-López *et al.*, 2002; Reid *et al.*, 2003; Anthoine y Mugniéry, 2006; Vovlas *et al.*, 2007), que sugieren la existencia de un complejo de especies dentro del género, que se trata de una especie altamente variable (Mayorga y Jatala, 1990; Doucet y DiRienzo, 1991; Doucet y Gardenal, 1992; Reid *et al.*, 2003; Anthoine y Mugniery, 2005, 2006; Lax *et al.*, 2007; Vovlas *et al.*, 2007), o que son distintas razas fisiológicas, patotipos o nuevas especies (Jatala y Golden, 1977; Boluarte y Jatala, 1992, 1993; Toledo *et al.*, 1993; Canto-Sáenz *et al.*, 1996; Manzanilla-López *et al.*, 1996).

Ibrahim *et al.* (1997), reportaron por primera vez diferencias moleculares y enzimáticas entre poblaciones de *N. aberrans* procedentes de Perú (F1 y F2), México (F4) y Argentina (F5) mediante el análisis de RAPDs, RFPLs e isoenzimas.

Reid *et al.* (2003), evaluaron doce poblaciones de *N. aberrans* de México, Bolivia, Perú, Ecuador y Argentina con RFLPs y mediante el análisis filogenético de la región ITS del DNAr concluyendo que *N. aberrans* es un complejo de especies que comprende al menos tres genotipos diferentes.

Vovlas *et al.* (2007), evaluaron la variabilidad molecular de una población argentina de *N. aberrans* mediante análisis ITS-RFLP. El análisis de secuencias y productos digeridos de la región ITS les permitió sugerir la existencia de especies que comparten un ancestro común bastante reciente.

Ramírez-Suárez (2011), comparó doce poblaciones de *N. aberrans* procedentes de Nebraska, México (Zacatecas, Chapingo, Montecillo, Xalatlaco y Puebla) y Argentina. Mediante el análisis filogenético de los marcadores nucleares y mitocondriales confirmaron la variación intraespecífica de las poblaciones, formando cuatro grupos que muestran un patrón geográfico de distribución bien definido. El análisis barcode basado en caracteres permitió la identificación de caracteres “puros” de diagnóstico para cada grupo, aportando evidencias adicionales de que *N. aberrans* es un complejo de al menos cuatro especies. Concluyen que la población de Nebraska reúne criterios para considerarla como una especie distinta, recomendando que se reintegre a *N. batatiformis* como fue originalmente descrita.

Considerando la importancia económica de *N. aberrans* en la agricultura nacional, no solo por las alteraciones que induce en los cultivos, sino también por su extraordinaria adaptación a un amplio rango de condiciones climáticas y su variabilidad en morfología y rango de hospedante, se planteó la presente investigación con el objetivo de analizar la variabilidad genética de poblaciones de *Nacobbus aberrans* provenientes de los estados de Guanajuato y Michoacán.

3.2. HIPÓTESIS

Existe variabilidad genética entre las poblaciones de *N. aberrans* provenientes de Guanajuato y Michoacán debido a la biología del nematodo, hospedante principal y condiciones edáfico-ambientales a las que han estado expuestas.

3.3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1. Muestreo

El muestreo se hizo en la región central del Bajío, en los estados de Guanajuato y Michoacán en los años 2010 y 2011 (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1. Sitios de muestreo de *Nacobbus aberrans* en la región central del Bajío, México 2010-2011.

Estado	Municipio	No. de muestras	Cultivo	LN	LO
Guanajuato	S J. Iturbide (SJI)	1	Jitomate	21°01.517	100°25.087
	Romita (Ro)	1	Chile	20°52.417	101°32.702
	Celaya, Santo Domingo (SD)	1	Zanahoria	20°36.830	100°50.468
	Celaya, Santa Elena (SE)	1	Tomate	20°29.503	101°12.694
Michoacán	Tanhuato 42 (T42)	6	Calabacita	20°16.273	102°24.060
	Tanhuato 52 (T52)		Jitomate	20°18.695	102°18.409
	Tanhuato 81 (T81)		Jitomate	20°16.936	102°17.606
	Tanhuato 85 (T85)		Jitomate	20°18.806	102°20.672
	Tanhuato 86 (T86)		Jitomate	20°18.731	102°20.559
	Tanhuato 87 (T87)		Jitomate	20°18.586	102°20.476
	Yurécuaro (Yu)	1	Jitomate	20°18.729	102°15.799
	Pajacuarán (Pa)	1	Pepino	20°10.224	102°37.996

Las poblaciones de *N. aberrans* se recolectaron del suelo y de las raíces de plantas de tomate, zanahoria, calabaza, pepino, jitomate y chile en etapa de floración y amarre de fruto.

3.3.2. Incremento y purificación de las poblaciones de *Nacobbus aberrans*

Todas las muestras de suelo infestadas se colocaron independientemente en macetas de 1L de capacidad con plantas de jitomate (variedad Río grande) de 30 días de edad.

Las plantas se mantuvieron en invernadero durante cuatro meses, se regaron cada dos días mediante goteo y se fertilizaron semanalmente con nitrofoska® vía edáfica (12-12-17-2).

Aproximadamente 60 días después del trasplante, se removió una masa de huevo de tres agallas. Las masas se desinfestaron con NaCl al 1% durante 4 min, se enjuagaron cuidadosamente con agua destilada (Vovlas *et al.*, 2007) y se colocaron individualmente sobre la raíz de tres plantas de jitomate cv. Río Grande de 10 días de edad.

Las plantas se trasplantaron a una maceta de 8L de capacidad con sustrato esterilizado con dicloropropeno + cloropicrina, y se mantuvieron en invernadero a 25°C ($\pm 5^\circ\text{C}$) por aproximadamente 6 meses.

Para incrementar y mantener el inóculo, las plantas se renovaron aproximadamente cada 60 días, se regaron cada dos días mediante goteo y se fertilizaron semanalmente con nitrofoska® vía edáfica (12-12-17-2).

3.3.3. Extracción y cuantificación de DNA

Se extrajo el DNA de doce poblaciones clasificadas por la región geográfica (parcela) en que se encontraron y recolectaron (Cuadro 3.1).

La extracción de DNA se llevó a cabo con base en el protocolo de Life Technologies y el kit comercial Phire animal tissue direct PCR® (Thermo Fisher Scientific Inc).

Protocolo de LifeTechnologies con modificaciones (LT)

De cada población se seleccionaron manualmente 10 hembras (Ibrahim *et al.*, 1997; De Luca *et al.*, 2004), se colocaron independientemente en una gota de agua destilada desionizada sobre un portaobjetos de vidrio y se deshicieron con una aguja de insulina estéril. Cada muestra se transfirió a un tubo Eppendorf estéril de 600µL y se maceraron en 10µL de agua desionizada libre de nucleasas con una varilla de vidrio.

Se agregaron 100µL de Plant DNAzol®, se mezcló el contenido por inversión y se incubó a 25°C por 5 minutos. Se añadieron 100µL de cloroformo, se mezcló vigorosamente y se incubó a 25°C con agitación por 5 minutos. La muestra se centrifugó a 12,000g por 10 min y el sobrenadante se transfirió a un tubo estéril. El sobrenadante se mezcló cuidadosamente por inversión con 75µL de etanol al 100% y se mantuvo a temperatura ambiente por 5 minutos. El DNA se sedimentó por centrifugación a 5,000g por 4 min y se removió el sobrenadante. Se adicionaron 100µL de la solución de lavado (25 µL de Plant DNAzol y 75µL de etanol 100%), se dio vórtex, se mantuvo por 5 min a temperatura ambiente y se centrifugó a 5,000g por 4 minutos.

Se removió la solución de lavado y la pastilla de DNA se resuspendió vigorosamente con 100µL de etanol al 75% y se centrifugó a 5,000g por 4 minutos.

Se eliminaron los residuos de etanol lavando por decantación con agua destilada desionizada. Los tubos con las muestras de DNA se mantuvieron verticalmente por 1-2 min y se eliminó el remanente de etanol con una micropipeta. La pastilla de DNA se aireó y se disolvió en 40 µL de buffer TE (pH 8).

Kit comercial Phire animal tissue direct PCR® con modificaciones

Una hembra de cada población se colocó en un tubo Eppendorf de 200µL y se maceró cuidadosamente con una varilla de vidrio. Se adicionaron 50µL de la reacción de PCR (Anexo 3.1) y se introdujo al Termociclador con las condiciones térmicas específicas para cada conjunto de primer (Anexo 3.2).

Cuantificación

Los productos de DNA se cuantificaron con el programa Quantity One® utilizando un Nanodrop espectrofotómetro ND 1000® (Accesolab S.A. de C. V.).

3.3.4. Amplificación de fragmentos

El DNA se amplificó mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Anexo 3.3) usando primers universales (Anexo 3.4).

Las condiciones térmicas de amplificación para cada conjunto de primer se señalan en el anexo 3.2.

Los productos de PCR se corrieron en un gel de agarosa al 1.0% a 97-100 volts (8 µL de cada muestra más 3 µL de buffer de carga). Para revelar las bandas, se tiñó el gel de agarosa con bromuro de etidio durante 5-6 min y se digitalizó en el sistema de fotodocumentación Universal Hood II de BioRad® (Bio-Rad). Los productos amplificados se conservaron a 4°C para su posterior análisis.

Con los amplicones de la región 18S del DNA extraído con el protocolo LT se sometieron a un análisis de restricción (PCR-RFLP), y secuenciaron y compararon con accesiones reportadas en el GenBank.

El producto amplificado de la región COI obtenido con el kit Phire Animal Tissue se secuenció y comparó filogenéticamente.

3.3.5. Análisis de PCR-RFLPs

Digestión. Los productos amplificados de la región 18S se digirieron con las enzimas de restricción *Hae* III, *Hinf* I, *EcoR* I y *Rsa* I. De manera independiente y para cada una de las muestras, se preparó la mezcla de digestión correspondiente (Anexo 3.5). Los componentes de la reacción se mezclaron cuidadosamente de acuerdo a las sugerencias del fabricante, se dio un pulso de centrifuga y se incubó a 37°C por 1-16 horas. Los productos de la digestión se verificaron en un gel de agarosa al 1.2%. (3 µL del producto más 4 µL de buffer de carga) y se fotodocumentaron con cámara fotográfica digital marca Sony Cyber-shot (Carl Zeiss).

Posteriormente, los productos de digestión se visualizaron en geles de poliacrilamida al 8% por tinción con nitrato de plata. Las imágenes se fotodocumentaron con el sistema Universal Hood II de BioRad® (Bio-Rad) y se almacenaron digitalmente.

Para identificar correctamente el fragmento digerido se hizo una digestión virtual con el programa BioEdit usando el aislamiento N3 de *N. aberrans* (número de accesión AY827833.1). El tamaño del fragmento digerido se determinó con el marcador molecular de 100pb Promega® (Promega, Madison, WI USA).

Análisis. Los polimorfismos se analizaron con base en la presencia o ausencia de bandas de un determinado peso molecular entre los individuos de las poblaciones de *N. aberrans*. Se generó una matriz binaria asignando el valor de 1 o 0 a la presencia o ausencia de la banda, respectivamente. Se calculó el índice de distancia genética (similaridad) usando el coeficiente de Nei y Li/Dice, y se construyeron los dendrogramas mediante el método de agrupamiento UPGMA con 1000 repeticiones para cada cluster (nodo) con el software FreeTree (Hampl *et al.*, 2001). Los árboles generados se visualizaron y editaron usando el software TreeView 1.6.6 (Page, 1996).

3.3.6. Secuenciación de los fragmentos 18S del DNAr y COI de la mitocondria.

Limpieza del DNA con ExoSAP-IT. En un tubo Eppendorf de 200µL se agregaron 5µL del producto de PCR más 2µL de ExoSAP-IT® (Affmetrix, USB products), se mezclaron dando un pulso de centrifuga y se incubaron en el termociclador (37°C por 15 min y 80°C por 15min). Se cuantificó el DNA en el Nanodrop, se diluyó a 20ng con agua calidad HPLC y se almacenó a 4°C.

Reacción de secuenciación. Se preparó la mezcla de reacción con el kit de secuenciación BigDye Terminator v.3.1 (Applied Biosystems) (Anexo 3.6). En un tubo Eppendorf de 200µL se colocaron 9µL de la reacción de secuenciación y 1µL de DNA limpio, y se mezclaron por centrifugación (un pulso). Los tubos se incubaron durante 35 ciclos en el Termociclador a 96°C por 10 segundos, 50°C durante 5

segundos, 60°C por 4 minutos y a 4°C por un minuto. Todo el proceso se realizó en oscuridad.

Precipitación. En un tubo Eppendorf de 500µL se agregaron los 10µL de la reacción de secuenciación, 10µL de agua miliQ y 30µL de etanol al 70%; se dio un vórtex y se dejó reposar por 30 minutos a temperatura ambiente en condiciones de oscuridad. La mezcla se centrifugó a 14,000 rpm durante 20 minutos, se eliminó el sobrenadante por decantación y con una pipeta se retiró cuidadosamente el resto de la mezcla, evitando tocar el pellet (no visible).

Se lavó el pellet con 125µL de etanol al 70% (frío) y se centrifugó a 14,000 rpm durante 10 minutos. El etanol se eliminó por decantación y se dejó secar el pellet en condiciones de oscuridad a 90°C por 1 minuto (Termoblock marca AccuBlock™ Digital Dry Baths). El pellet se resuspendió en 10µL de formamida y se dejó a 4°C por 24h. Pasado el tiempo de reposo, se dio un vórtex y se llenaron los pozos de la placa con los 10µL del producto precipitado. Se colocó la protección de hule marcando el extremo 1A y se dio un pulso en centrifuga de placa a máxima velocidad (la placa debe estar cubierta con aluminio para evitar la exposición a la luz).

La placa se colocó en el termociclador programado a 95°C por 5 minutos, 4°C por 3 segundos y 4°C por tiempo indefinido (∞). Se colocó la placa en el congelador a 4°C por 2 minutos y posteriormente al secuenciador.

3.3.7. Análisis de los genes 18S y COI

Las secuencias de los genes 18S y COI se limpiaron con el software FinchTV, y se ensamblaron para realizar consensos con el software BioEdit.

Los consensos de cada población, se alinearon de manera múltiple con ClustalW (Thompson *et al.*, 1997) con parámetros default usando el programa BioEdit.

Los fragmentos alineados de la región 18S se compararon con las secuencias de *N. aberrans* reportadas en el GenBank (Cuadro 3.2) y se determinó la frecuencia de nucleótidos para cada población.

Las secuencias de COI de las poblaciones estudiadas se compararon entre sí, ya que actualmente no existen accesiones de este gen para *N. aberrans* en el GenBank.

Cuadro 3.2. Secuencias de los fragmentos 18S e ITS del DNA ribosomal registradas en el GenBank.

Especie	Primer usado	Código de alineamiento	Número de accesoión	Autor
<i>N. aberrans</i>	18S	NacoAbe1	KC875388.1	Rybarczyk-Mydlowska <i>et al.</i> , 2013 No publicado
<i>N. aberrans</i>	18S	--	AF442190	Tandingan De Ley <i>et al.</i> , 2001 No publicado
<i>N. aberrans</i>	18S	aberrans	AJ966494.1	Meldal <i>et al.</i> , 2007
<i>N. aberrans</i>	18S	SB-SB-1-07	AY919215.1	Powers <i>et al.</i> , 2005 No publicado
<i>M. incognita</i>	ITS DNAr	LGM 45	KF053038.1	Araujo-Filho <i>et al.</i> , 2013 No publicado
<i>M. incognita</i>	ITS DNAr	LGM 44	KF053037.1	Araujo-Filho <i>et al.</i> , 2013 No publicado
<i>M. incognita</i>	ITS DNAr	Brazil	KF482368.1	Carneiro <i>et al.</i> , 2013 No publicado
<i>P. penetrans</i>	18S	A2	KC533815.1	Wang <i>et al.</i> , 2013 No publicado
<i>P. penetrans</i>	18S	A23	KC533828.1	Wang <i>et al.</i> , 2013

3.3.7.1. Elaboración de los árboles filogenéticos

Los árboles filogenéticos para los fragmentos 18S y COI se construyeron con el método estadístico de Máxima Parsimonia (MP) con 1000 repeticiones Bootstrap usando el software Mega 6.05.

Para el fragmento 18S se incluyeron cuatro secuencias de *N. aberrans*, tres de *Meloidogyne incognita* y dos de *Pratylenchus penetrans* obtenidas del GenBank (Cuadro 3.2).

El árbol filogenético para el gen COI se construyó a partir de la comparación de las secuencias de las 12 poblaciones del nematodo.

3.4. RESULTADOS

3.4.1. Amplificación de fragmentos

Los pares de primers COIF-JB3/COIR-JB5, 988F/1912R, 1813F/2646R e ITS-TW81/ITSR-AB28 amplificaron fragmentos de 400, 900, 800 y 800 pb, los cuales corresponden a la región Citocromo Oxidasa I del DNA mitocondrial y a las regiones 18S e ITS del DNA ribosomal, respectivamente (Figuras 3.1-3.3).

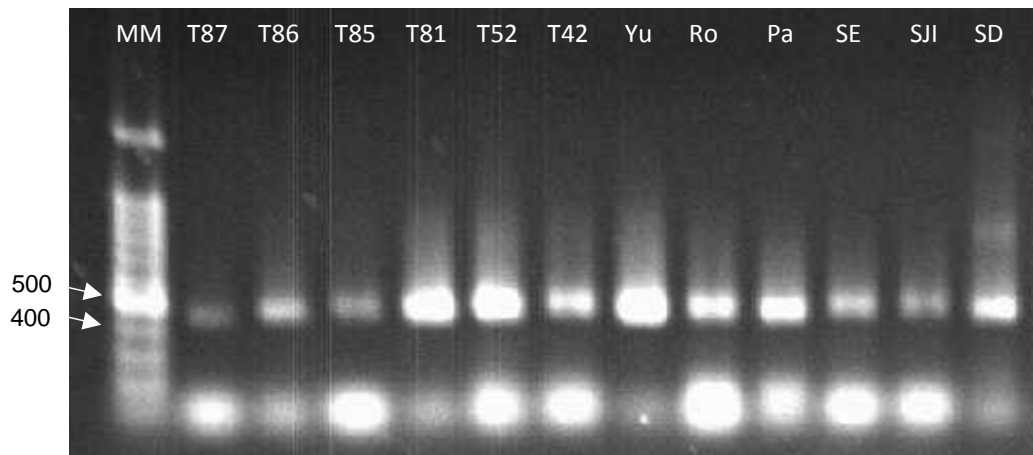


Figura 3.1. Resultados de PCR de la región Citocromo Oxidasa I del DNA mitocondrial de 12 poblaciones de *Nacobbus aberrans* recolectadas en la región central del Bajío, México. Michoacán: Tanhuato (87, 86, 85, 81, 52, 42), Yurécuaro (Yu) y Pajacuarán (Pa). Guanajuato: Romita (Ro), Santa Elena (SE), San José Iturbide (SJI) y Santo Domingo (SD).

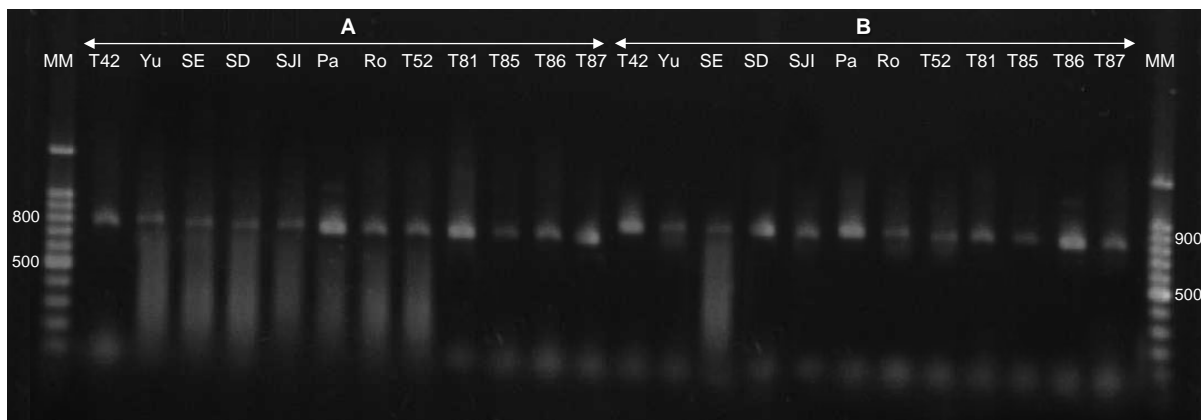


Figura 3.2. Resultados de PCR de la región 18S del DNA ribosomal de 12 poblaciones de *Nacobbus aberrans* recolectadas en la región central del Bajío, México. A) Par de primers 1813F/2646R y B) Par de primers 988F/1912R. Michoacán: Tanhuato (87, 86, 85, 81, 52, 42), Yurécuaro (Yu) y Pajacuarán (Pa). Guanajuato: Romita (Ro), Santa Elena (SE), San José Iturbide (SJI) y Santo Domingo (SD).

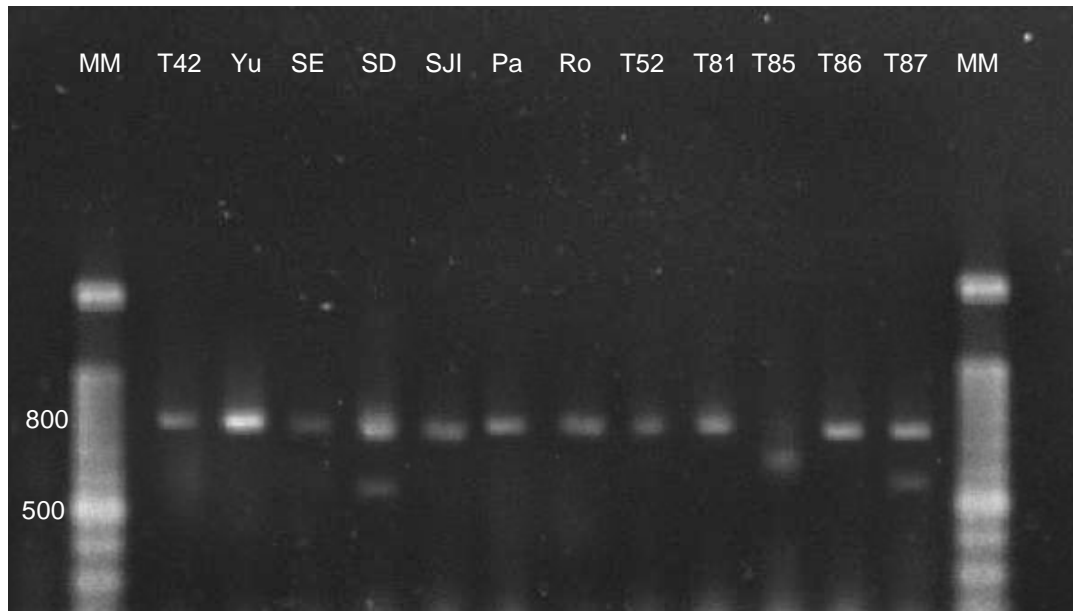


Figura 3.3. Resultados de PCR de la región ITS del DNA ribosomal de 12 poblaciones de *Nacobbus aberrans* recolectadas en la región central del Bajío, México. Michoacán: Tanhuato (87, 86, 85, 81, 52, 42), Yurécuaro (Yu) y Pajacuarán (Pa). Guanajuato: Romita (Ro), Santa Elena (SE), San José Iturbide (SJI) y Santo Domingo (SD).

El alineamiento y comparación del fragmento 18S (amplificado con el par 988F/1912R) con las secuencias del GenBank confirmaron que los especímenes recolectados en Guanajuato y Michoacán corresponden a *N. aberrans*. El análisis de las secuencias mostró índices de similaridad del 95 al 100%, siendo las poblaciones de Chapingo, Pajacuarán, San José Iturbide, Santo Domingo, y Tanhuato 42, 52 y 87 las que presentaron el más alto grado de similaridad con la secuencia del aislamiento de *N. aberrans* NacoAbe1 (KC875388.1) (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.3. Porcentajes de similaridad de la secuencia del fragmento 18S del DNA ribosomal de poblaciones de *Nacobbus aberrans* recolectadas en la región central del Bajío. México.

Población	Número de nucleótidos secuenciados del gen 18S ^a	Especie de referencia (Acceso NCBI) ^b	Similaridad (%)
Chapingo	396	<i>N. aberrans</i> aislamiento NacoAbe1 (KC875388.1)	100
Tanhuato 52	417	<i>N. aberrans</i> aislamiento NacoAbe1 (KC875388.1)	100
Tanhuato 87	389	<i>N. aberrans</i> aislamiento NacoAbe1 (KC875388.1)	100
Pajacuarán	330	<i>N. aberrans</i> aislamiento NacoAbe1 (KC875388.1)	99
San José Iturbide	384	<i>N. aberrans</i> aislamiento NacoAbe1 (KC875388.1)	99
Santo Domingo	507	<i>N. aberrans</i> aislamiento NacoAbe1 (KC875388.1)	99
Tanhuato 42	434	<i>N. aberrans</i> aislamiento NacoAbe1 (KC875388.1)	99
Tanhuato 81	388	<i>N. aberrans</i> aislamiento NacoAbe1 (KC875388.1)	97
Yurécuaro	279	<i>N. aberrans</i> aislamiento NacoAbe1 (KC875388.1)	97
Santa Elena	327	<i>N. aberrans</i> aislamiento NacoAbe1 (KC875388.1)	96
Tanhuato 85	336	<i>N. aberrans</i> aislamiento NacoAbe1 (KC875388.1)	96
Tanhuato 86	339	<i>N. aberrans</i> aislamiento NacoAbe1 (KC875388.1)	96
Romita	274	<i>N. aberrans</i> aislamiento NacoAbe1 (KC875388.1)	95

^apares de bases (pb).

^bNúmero de acceso del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

3.4.2. Análisis PCR-RFLPs

El análisis del patrón polimórfico generado por *HinfI* indicó que las 12 poblaciones de *N. aberrans* conforman un solo grupo, mientras que la digestión con *RsaI* dio lugar a dos grupos; el primero constituido por la población de Chapingo, y el segundo por el resto de las poblaciones (datos no mostrados). La enzima de restricción *EcoRI* no digirió el fragmento (Cuadro 3.4, Figura 3.4).

Cuadro 3.4. Digestión del fragmento 18S del DNA ribosomal de 12 poblaciones de *Nacobbus aberrans* con cuatro enzimas de restricción.

Poblaciones	Enzimas de restricción				<i>EcoRI</i> (0)
	<i>HinfI</i> (315) [¶]	<i>RsaI</i> (727)	<i>HaeIII</i>		
			(314)	(491)	
Tanhuato 42	1	1	1	1	0
Tanhuato 52	1	0	1	0	0
Tanhuato 81	1	1	1	1	0
Tanhuato 85	1	1	1	1	0
Tanhuato 86	1	1	1	1	0
Tanhuato 87	1	1	1	1	0
Pajacuarán	1	1	0	1	0
Romita	1	1	0	1	0
Santo Domingo	1	1	1	1	0
San José Iturbide	1	1	1	1	0
Santa Elena	1	1	1	1	0
Yurécuaro	1	1	0	1	0
Chapingo	1	0	1	0	0

[¶] El número entre paréntesis indica el tamaño del fragmento obtenido expresado en pares de bases con las diferentes enzimas de restricción.

La presencia de algún sitio en particular se indica con “1” y la ausencia con “0”.

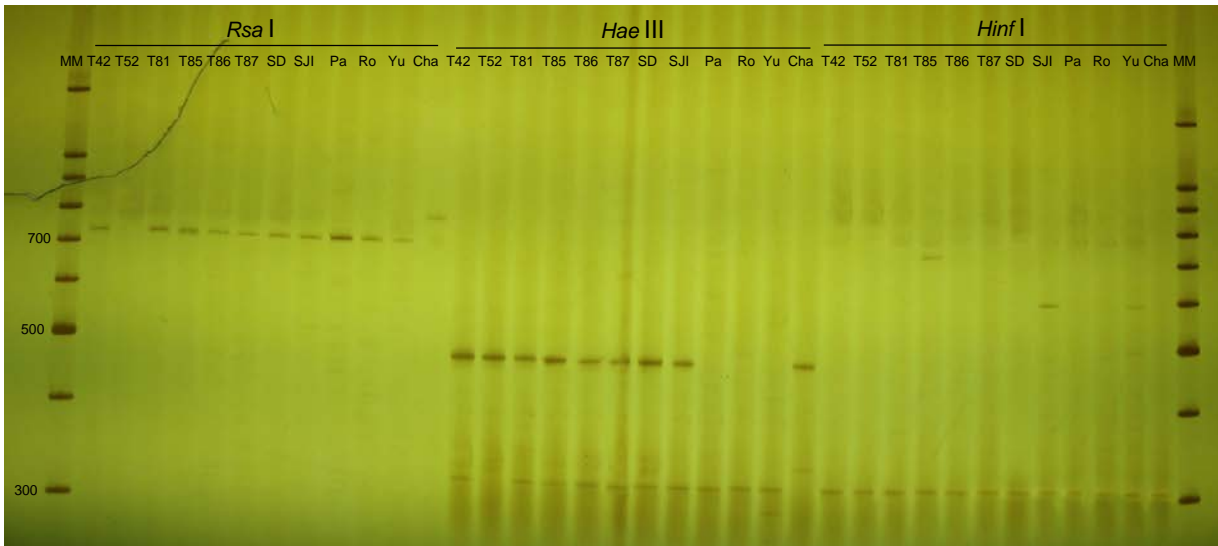


Figura 3.4. Análisis del polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción de la región 18S del DNA ribosomal de poblaciones de *N. aberrans*. Michoacán: Tanhuato (87, 86, 85, 81, 52, 42), Yurécuaro (Yu) y Pajacuarán (Pa). Guanajuato: Romita (Ro), Santa Elena (SE), San José Iturbide (SJI) y Santo Domingo (SD). Marcador molecular de 100pb Promega®.

El análisis de digestión con *HaeIII* originó dos grupos claramente definidos (Figura 3.4); el Grupo I, conformado por las poblaciones de Chapingo, Santo Domingo, Tanhuato 42, Tanhuato 52 y Tanhuato 87 con una confiabilidad del 100%, y el Grupo II con un porcentaje de confiabilidad del 73% (Figura 3.5). Este último, se dividió en dos subgrupos, el primero constituido por las poblaciones de San José Iturbide, Santa Elena, Tanhuato 81, Tanhuato 85 y Tanhuato 86, y el segundo por las poblaciones de Yurécuaro, Pajacuarán y Romita (Figura 3.5).

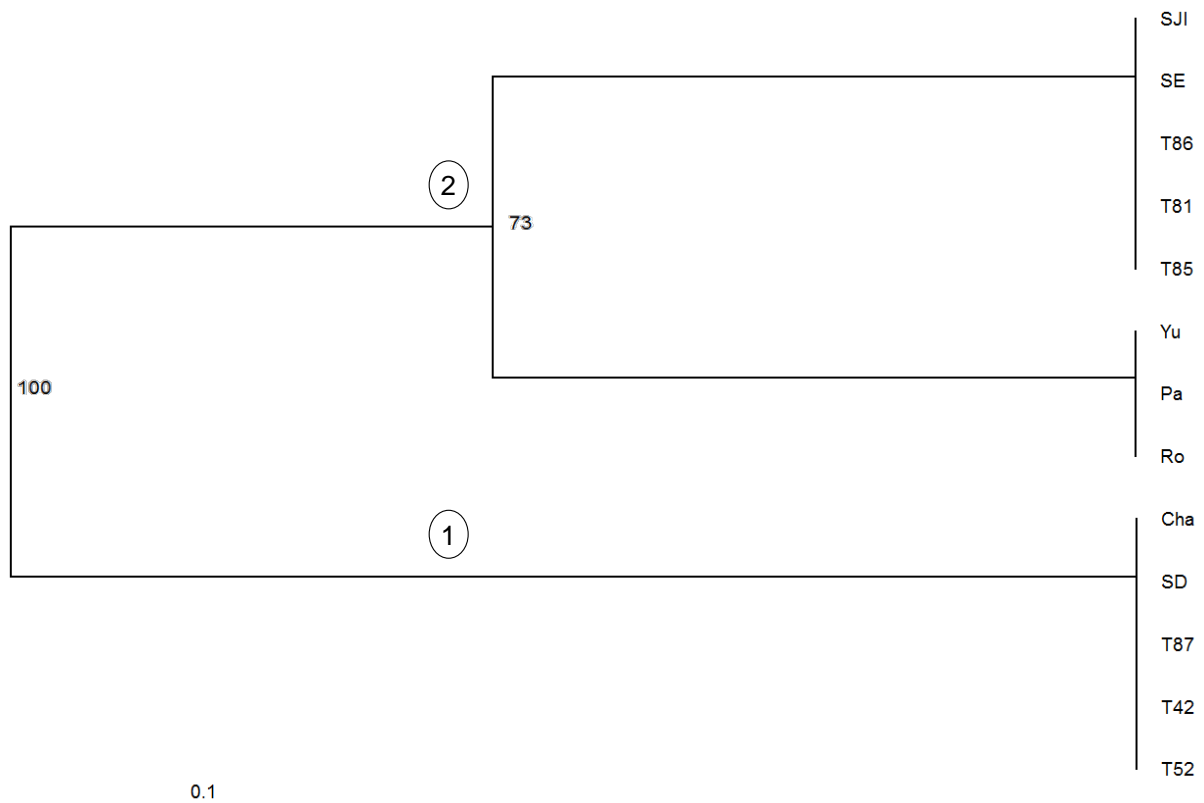


Figura 3.5. Dendrograma generado a partir de la digestión del fragmento 18S del DNA ribosomal con *HaeIII*. Los números en cada rama representan los niveles de confiabilidad bootstrap. Barra= 10% de disimilaridad. Números en círculo= Grupo.

Al agrupar los fragmentos de restricción generados por las enzimas *Hinfl*, *RsaI* y *HaeIII* se observó que el grupo I, formado por *HaeIII* (Figura 3.5), se dividió en dos conjuntos integrados por las poblaciones de SD, T42 y 87 (subgrupo 1A), y las poblaciones de Cha y T52 (subgrupo 1B) con un 40% de confiabilidad (Figura 3.6).

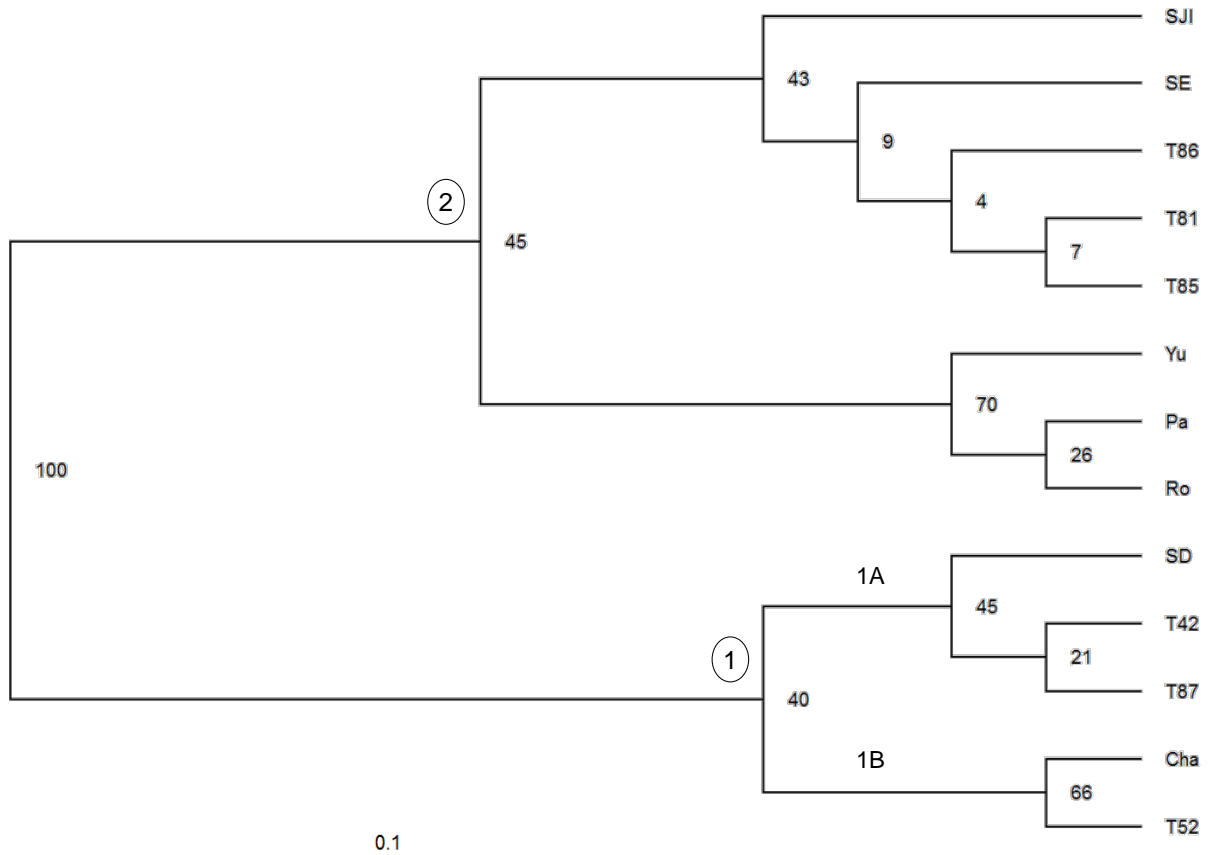


Figura 3.6. Dendrograma UPGMA obtenido a partir de la digestión del fragmento 18S del DNAr con tres enzimas de restricción. Los números en cada rama representan los niveles de confiabilidad bootstrap. Barra= 10% de disimilitud. Números en círculo= Grupo.

3.4.3. Análisis de los genes 18S y COI

El análisis de las secuencias de la región 18S del DNA ribosomal separó las poblaciones de *N. aberrans* en dos grupos genéticamente bien diferenciados (Cuadro 3.3). El grupo 1 (99-100% de similaridad genética), constituido por las poblaciones de Chapingo, Pajacuarán, San José Iturbide, Santo Domingo, Tanhuato 42, 52 y 87, las cuales se encontraron asociadas a los cultivos de tomate, pepino, jitomate y calabacita en áreas agrícolas donde generalmente no se practica rotación de cultivos y los productores usan riego localizado.

En el grupo dos (95-97% de similaridad genética) se encontraron poblaciones asociadas a los cultivos de chile, jitomate y zanahoria. En estas parcelas la mayoría de los productores tienden a cambiar el patrón de cultivo de manera periódica,

alternándolos con cereales, utilizan riego por gravedad y goteo, y rentan la maquinaria agrícola.

3.4.3.1. Análisis filogenético

El análisis filogenético a partir del gene 18S por Máxima Parsimonia generó un árbol que agrupó a todas las poblaciones de *Nacobbus* con el género *Pratylenchus*, separándolas de *Meloidogyne* con un 99% de confiabilidad. Las poblaciones de *N. aberrans* de Guanajuato y Michoacán se agruparon en un mismo clado con las accesiones de esta especie reportadas en el GenBank (Figura 3.7).

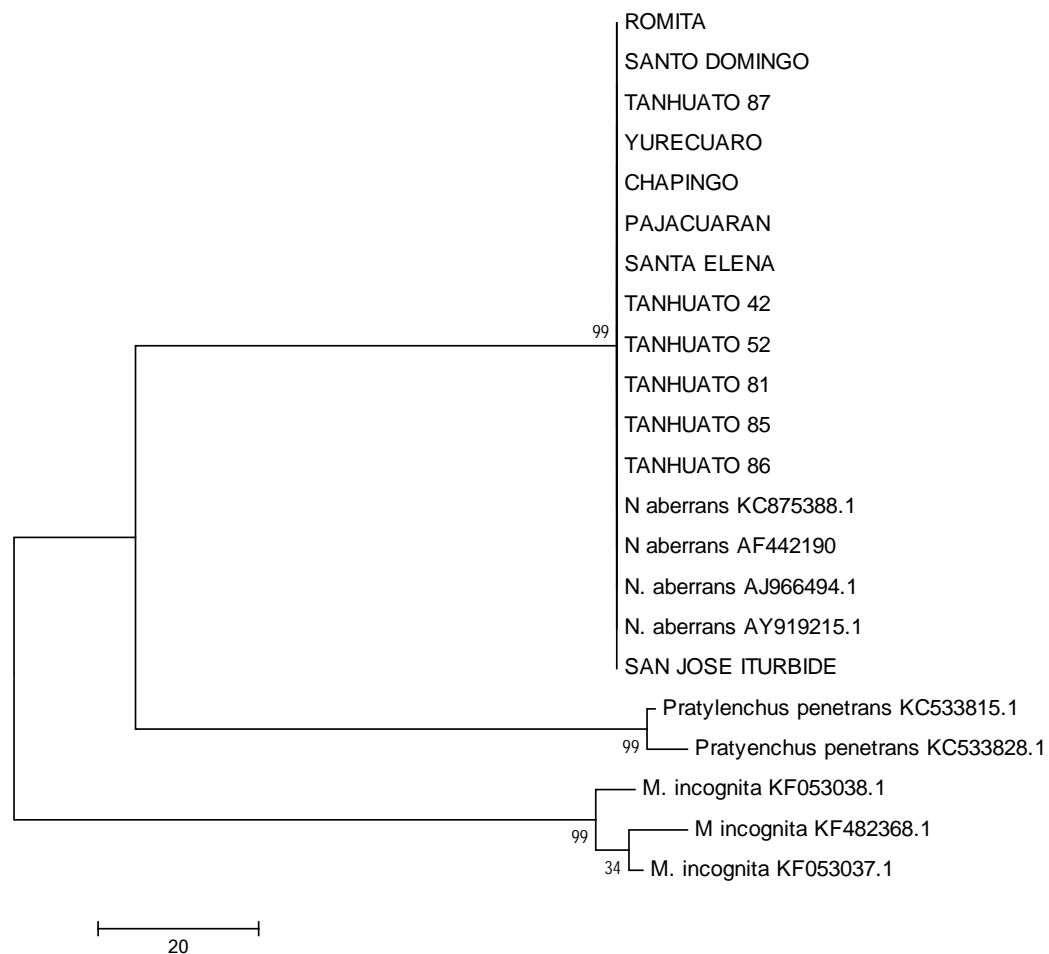


Figura 3.7. Árbol filogenético por Máxima parsimonia obtenido del análisis del alineamiento de secuencias de la región 18S del DNA ribosomal de poblaciones de *N. aberrans* con *Pratylenchus* y *Meloidogyne*. Los números en los nodos son los valores bootstrap (1000 repeticiones bootstrap). Barra=distancia genética.

El análisis de las secuencias de la región COI del DNA mitocondrial agrupó las poblaciones de *N. aberrans* de manera similar a lo obtenido con la digestión del fragmento 18S (Figura 3.6 y 3.8).

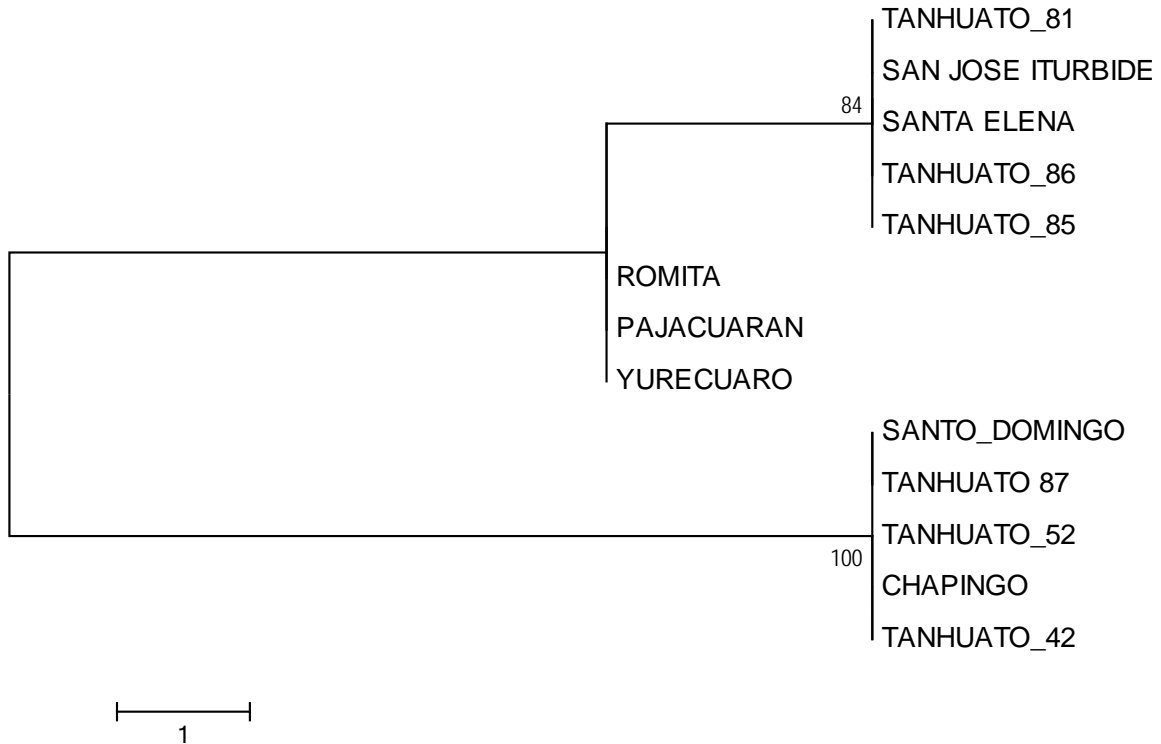


Figura 3.8. Árbol filogenético por Máxima parsimonia obtenido del análisis del alineamiento de secuencias de la región COI del DNA mitocondrial de poblaciones de *N. aberrans*. Los números en los nodos corresponden a los porcentajes de confiabilidad con base en 1000 repeticiones bootstrap. Barra=distancia genética.

3.4.3.2. Frecuencia de nucleótidos

Los porcentajes de los diferentes nucleótidos fueron similares en la mayoría de las secuencias de *N. aberrans* analizadas. Sin embargo, una mayor proporción de Timinas se encontró en los individuos de Pajacuarán, Santa Elena, Tanhuato 42 y 52, similares a los de *M. incognita*. Así también, la proporción de Guaninas es mayor en las secuencias de las poblaciones provenientes de Tanhuato 85 y 86. La cantidad de Citosinas y Adeninas mostró poca variación en las secuencias codificadas (Cuadro 3.5).

Cuadro 3.5. Frecuencia de nucleótidos de las secuencias de la región 18S del DNA ribosomal de poblaciones de *N. aberrans* y *M. incognita*.

Población	T (%)	C (%)	A (%)	G (%)	AT (%)	GC (%)	Nucleótidos totales
Romita	22.99	22.26	22.26	32.48	45.26	54.74	274
San José Iturbide	24.22	23.18	22.92	29.69	47.14	52.86	384
Santo Domingo	23.87	24.06	22.88	29.19	46.75	53.25	507
Tanhuato 87	24.16	23.39	22.62	29.82	46.79	53.21	389
Yurécuaro	23.30	22.58	21.51	32.62	44.80	55.20	279
Chapingo	24.75	22.47	23.23	29.55	47.98	52.02	396
Pajacuarán	32.42	22.42	22.73	22.42	55.15	44.85	330
Santa Elena	32.42	22.63	22.32	22.63	54.74	45.26	327
Tanhuato 42	30.88	22.58	23.50	23.04	54.38	45.62	434
Tanhuato 52	31.18	22.78	23.02	23.02	54.20	45.80	417
Tanhuato 81	23.97	23.20	22.42	30.41	46.39	53.61	388
Tanhuato 85	23.51	22.02	18.45	36.01	41.96	58.04	336
Tanhuato 86	22.12	21.83	21.24	34.81	43.36	56.64	339
<i>N. aberrans</i> NacoAbe1 ^a	22.79	22.98	22.22	32.02	45.01	54.99	531
<i>M. incognita</i> LGM44 ^b	32.27	19.91	24.94	22.88	57.21	42.79	437
<i>P. penetrans</i> A2 ^c	27.24	18.67	26.48	27.62	53.71	46.29	525
Promedio	26.38	22.31	22.67	28.64	49.05	50.95	

^{a, b, c}Secuencias obtenidas del GenBank con número de accesoión KC875388.1, KF053037.1 y KC533815.1 respectivamente. T=Timina, C=Citosina, A=Adenina, G=Guanina, AT=Adenina-Timina y GC=Guanina-Citosina.

En cuanto a la relación Adenina-Timina (AT) y Guanina-Citosina (GC), se puede observar que la mayor proporción de AT se presentó en las poblaciones de Pajacuarán, Santa Elena, Tanhuato 42 y 52, *M. incognita* y *P. penetrans*; mientras que en el resto de las secuencias la proporción de GC es más alta, con valores superiores al 52% (Cuadro 3.5).

3.5. DISCUSIÓN

El análisis directo del genotipo mediante la detección de diferencias en la longitud de los fragmentos de restricción del DNA (RFLPs) permite la identificación precisa de especies de nematodos, ya que provee una clara discriminación de la variación intra e interespecífica en nematodos agalladores (Powers y Sandall, 1988; Hyman y Whipple, 1996; Powers *et al.*, 1997). Esta técnica se usó en este trabajo para distinguir posibles diferencias entre las poblaciones de *N. aberrans* recolectadas en campos agrícolas de Guanajuato y Michoacán.

La digestión del producto amplificado 18S-DNAr con *Hinfl*, *Rsal*, *HaeIII* generaron perfiles RFLPs para todas las poblaciones, pero no ocurrió así con *EcoRI*, posiblemente por la ausencia del sitio de restricción; que se comprobó con la digestión virtual de los fragmentos del gen 18S secuenciados.

Con una sola enzima no es posible distinguir todas las poblaciones del nematodo, aunque algunas proveyeron más información que otras. Por ejemplo, *Hinfl* no distinguió entre las poblaciones de *N. aberrans* formando un solo grupo compacto. *Rsal* produjo un patrón polimórfico, separando la población de Chapingo del resto de los individuos. *HaeIII* produjo dos patrones polimórficos, que agrupó las poblaciones del nematodo en dos clados bien definidos, similar a lo reportado por Vovlas *et al.* (2007) al estudiar la variabilidad de poblaciones argentinas de *N. aberrans*.

Las diferencias en los perfiles de digestión es el resultado de la presencia de distintos sitios de restricción en las secuencias 18S del DNAr como consecuencia de mutaciones a nivel de nucleótidos, ya sea por delección o sustitución, que pueden o no generar una alteración fenotípica, como lo reportó Hugall *et al.* (1994) en especies de *Meloidogyne*, señalando que una sola sustitución de bases generan cambios en los sitios de restricción y una sola delección provoca cambios en los fragmentos de DNA separando un haplotipo de otros.

Los perfiles polimórficos de la región 18S del DNAr permitieron la diferenciación de las poblaciones estudiadas, agrupándolas en dos clados bien diferenciados, como consecuencia de que los individuos provienen de áreas geográficas con condiciones edáfico-ambientales muy particulares y se aislaron de diferentes hospedantes, y de

acuerdo con Ibrahim *et al.* (1997) el rango de hospedantes y la virulencia, así como otros caracteres fenotípicos, podrían simplemente representar alelos que varían en su frecuencia dentro de poblaciones particulares. Por lo que las diferencias observadas en el perfil polimórfico, no necesariamente significa que se traten de organismos genéticamente distintos o de especies diferentes, ya que de acuerdo con Curran *et al.* (1985) las diferencias en los perfiles de restricción (RFLPs) indican la presencia de una barrera de flujo de genes entre las poblaciones de nematodos y pueden marcar los límites entre especies; sin embargo en un estudio más reciente (Curran y Webster, 1989) se señala que las diferencias en los perfiles polimórficos no pueden ser usados como criterio único para delimitar una especie.

La diferencia en los perfiles RFLPs podría estar indicando la presencia de razas en las poblaciones de *N. aberrans* estudiadas, y de acuerdo con Manzanilla-López (2010) las poblaciones cambian a través del tiempo, y mientras *N. aberrans* continué dispersándose a diferentes áreas geográficas y se adapte a las condiciones locales del hospedante, es probable que se registren nuevas razas. No obstante más estudios deben realizarse con este conjunto de poblaciones para corroborar los resultados.

Para descartar o comprobar la existencia de más de una especie en las poblaciones analizadas, se hizo el análisis del gen 18S del DNAr y COI del DNAm de hembras de *N. aberrans*. Así el DNA ribosomal y mitocondrial visualizado, y las relaciones filogenéticas entre los individuos, indican que las poblaciones de *N. aberrans* provenientes de Guanajuato y Michoacán pertenecen a la misma especie.

El análisis de las secuencias parciales obtenidas del gen 18S revelaron muy poca variación o ninguna variación intraespecífica entre las 12 poblaciones de *N. aberrans*, indicando que se trata de una región conservada, similar a lo reportado por Anthoine y Mugniéry (2005) en poblaciones de *N. aberrans* provenientes de Suramérica y México, y lo encontrado por Vovlas *et al.* (2007) en poblaciones argentinas de *N. aberrans*.

Al comparar las secuencias de las 12 poblaciones estudiadas con secuencias relacionadas del GenBank, se observó una variabilidad del 3-5% en el 46% de las poblaciones (Romita, Santa Elena, Yurécuaro, Tanhuato 81, 85 y 86). Sin embargo, para el caso de bacterias, Woo y colaboradores (2009) proponen un nivel de similitud no menor al 97% para separar especies de importancia médica usando el gen 16S del RNAr, debido a que las bacterias son microorganismos muy dinámicos y cambiantes con genoma pequeño compuesto prácticamente por un 100% de genes codificadores de proteínas y con aparente baja complejidad (Binnewies *et al.*, 2006).

Tomando en cuenta lo anterior, podríamos suponer que las poblaciones de Santa Elena, Romita, Tanhuato 85 y 86 de *Nacobbus* (5% de variabilidad) se tratan de una especie diferente, sin embargo de acuerdo con el Genbank la variabilidad del genoma para la separación de especies de nematodos varía del 1-9%, por lo que para determinar si éstas poblaciones son distintas a nivel de especie, deben compararse más secuencias de nematodos para determinar el valor real de separación intraespecífica, que incluya el análisis de otros genes tales como ITS, 5.8S, el segmento D3 del gen 26S del DNA ribosomal, DNA mitocondrial, etc., y de acuerdo con Manzanilla-López (comunicación personal, 2014) los criterios para separar especies molecularmente son distintos, dependiendo del grupo de nematodos con que se trabaje, del gen y las regiones que se examinen. Añade que los porcentajes de similitud son solo indicadores, y que es el investigador con experiencia el que debe determinar y proponer la existencia o no de una nueva especie, usando varios criterios, ya que actualmente se recomienda tener la información de al menos tres genes diferentes en un mismo nematodo para sustentar diferencias a nivel de especie y que en algunos casos, la diferencia en un par de nucleótidos es suficiente para diferenciar especies.

El análisis del gen 18S para la identificación de *N. aberrans*, es simple de usar, reproducible, confiable y relativamente rápida, pero lo más importante e interesante, es que esta técnica puede aplicarse a nematodos que muestran alta variabilidad en

morfología, rango de hospedante y caracteres moleculares como es este nematodo (Anthoine y Mugniéry, 2005).

Las relaciones genéticas observadas en los grupos y clados obtenidos en el análisis filogenético de la región 18S del DNAr indican que los individuos tienen un ancestro en común y que pertenecen a la misma especie, siendo claramente separados de los géneros de *M. incognita* y *P. penetrans*; sin embargo, si se incluyera un conjunto de poblaciones de *N. aberrans* de otras áreas geográficas, posiblemente otros grupos podrían ser formados debido a la alta variabilidad genética reportada en individuos de *N. aberrans* (Reid *et al.*, 2003; Anthoine y Mugniéry, 2005).

El gen citocromo oxidasa I (COI) se empleó en este estudio, porque es uno de los genes actualmente más usados en fitonematología (Peloquin *et al.*, 1993; Hugall *et al.*, 1994; Hyman y Whipple, 1996; Whipple *et al.*, 1998) y de amplia aceptación para la identificación de especies debido a su alta tasa de variación y actualmente se emplea como un código de barras biológico (Herbert *et al.*, 2003). Al analizar filogenéticamente las secuencias alineadas de la región COI se generó un estricto consenso de tres árboles parsimoniosos principales. En este caso, también se observó que las 12 poblaciones de *N. aberrans* presentan un ancestro en común, cuyas variaciones los separó en tres grupos, posiblemente como resultado de cambios microevolutivos recientes reflejando una variación intrapoblacional, como lo señala Avise y colaboradores (1987) al citar la ventajas del DNA mitocondrial en estudios taxonómicos.

El alto contenido de GC (> 52%) en las poblaciones de Romita, San José Iturbide, Santo Domingo, Yurécuaro, Chapingo, Tanhuato 81, 85, 86 y 87, les confiere una mayor estabilidad estructural debido a que estas bases se unen con un triple enlace (Zhang *et al.*, 2011), indicando que estos nematodos presentan un genoma más estable a cambios mutacionales (Mitrevá *et al.*, 2006). La relación GC observada en estas poblaciones es muy similar al de los nematodos enquistados (aproximadamente 50%) y difiere en gran medida al contenido de GC presente en

Strongyloides, *Meloidogyne incognita* y *M. javanica* (32.5, 37 y 36%, respectivamente), que son más ricos en el contenido de Adenina-Timina (Mitreva *et al.*, 2006).

Mitreva y colaboradores (2006) señalan que poco se sabe del porque la presión de mutación direccional o presión selectiva provoca cambios en el contenido de GC entre especies, y que en nematodos no se encuentra ningún patrón de nicho ecológico u otros factores asociados al contenido de GC. Por ejemplo, los nematodos enquistados y agalladores tienen ciclos de vida similares como endoparásitos sedentarios de plantas, pero el contenido de GC en sus secuencias son completamente diferentes, lo mismo ocurre con las poblaciones de *N. aberrans* utilizadas en este estudio (44-58%).

3.6. CONCLUSIONES

Los perfiles polimórficos obtenidos a partir de la digestión con enzimas de restricción del fragmento 18S del DNA ribosomal, muestran ligeras diferencias, principalmente con *HaeIII*.

El agrupamiento generado a partir del análisis de los perfiles RFLPs y el análisis de la secuencia del fragmento 18S del DNA ribosomal, corroboraron la identificación morfológica de las poblaciones de *N. aberrans*.

Las condiciones geográficas, ambientales y planta hospedante no influyeron en una diferenciación genética de las poblaciones de *N. aberrans* estudiadas, ya que todas fueron congregadas en un mismo grupo al analizar las secuencias del gen 18S del DNA ribosomal.

El gen COI del DNA mitocondrial generó un estricto consenso de tres árboles parsimoniosos principales, indicando que las poblaciones de *N. aberrans* presentan un ancestro común, cuyas variaciones pueden ser el resultado de cambios microevolutivos recientes.

Las poblaciones de *N. aberrans* recolectadas en Romita, San José Iturbide, Santo Domingo, Yurécuaro, Chapingo, Tanhuato 81, 85, 86 y 87, presentan un genoma más estable por el contenido alto de guanina-citosina.

3.7. LITERATURA CITADA

- Amiri, S., S. A. Subbotin, and M. Moens. 2001. An efficient method for identification of the *Heterodera schachtii sensu stricto* group using PCR with specific primers. *Nematologia mediterranea* 29:241-246.
- Anthoine, G., and D. Mugniéry. 2005. Variability of the ITS rDNA and identification of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae) by rDNA amplification. *Nematology* 7:503-516.
- Atkins, S. D., R. H. Manzanilla-López, J. Franco, B. Peteira, and B. R. Kerry. 2005. A molecular diagnostic method for detecting *Nacobbus* in soil and in potato tubers. *Nematology* 7(2):193-202.
- Avise, J. C., J. Arnold, R. M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J. E. Neigel, C. A. Reeb, and N. C. Saunders. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 489-522.
- Baldwin, J. G., and G. B. Cap. 1992. Systematics of *Nacobbus*, the false root-knot nematode. In: Gommers, F.J. & Maas, P.W.Th. (Eds). *Nematology from molecule to ecosystem*. Invergowrie, Dundee, Scotland, UK, European Society of Nematologists. pp. 101-112.
- Barker, D.C. 1989. Molecular approaches to DNA diagnosis. *Parasitology* 99(S):125-S146.
- Binnewies, T. T., Y. Motro, P. F. Hallin, O. Lund, D. Dunn, T. La, D. J. Hampson, M. Bellgard, T. M. Wassenaar, and D. W. Ussery. 2006. Ten years of bacterial genome sequencing: comparative-genomics-based discoveries. *Functional Integrative Genomics* 6:165-185.
- Blok, V. C., G. Malloch, B. E. Harrower, and M. S. Phillips. 1998. Intraspecific variation in ribosomal DNA in populations of the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Journal of Nematology* 30:262-274.
- Crawford, D., M. Tago-Nakazawa, T. F. Stuessy, G. J. Anderson, G. Bernardello, E. Ruiz, R. J. Jensen, C. M. Baeza, A. D. Wolfe, and M. O. Silva. 2001. Intersimple sequences repeat (ISSR) variation in *Lactoris fernandeziana* (Lactoridaceae), a rare endemic of the Juan Fernández Archipelago, Chile. *Molecular Ecology* 16:185-192.
- Curran, J., D. L. Baillie, and J. M. Webster. 1985. Use of restriction fragment length differences in genomic DNA to identify nematode species. *Parasitology* 90:137-144.
- Curran, J., and J. M. Webster. 1989. Genotypic Analysis of *Heterorhabditis* Isolates from North Carolina. *Journal of Nematology* 21(1):140-145.
- De Luca, F., A. Reyes, J. Grunder, P. Kunz, A. Agostinelli, C. De Giorgi, and F. Lamberti. 2004. Characterization and sequence variation in the rDNA region of

- six nematode species of the genus *Longidorus* (Nematoda). *Journal of Nematology* 36(2):147-152.
- Derycke, S., T. Remerie, A. Vierstraete, T. Backeljau, J. Vanfleteren, M. Vincx, and T. Moens. 2005. Mitochondrial DNA variation and cryptic speciation within the free-living marine nematode *Pellioiditis marina*. *Marine Ecology Progress series* 300:91-103.
- Doucet M. E., y C. N. Cardenal. 1992. El género *Nacobbus* en Argentina. 4. Comparación preliminar entre poblaciones de *N. aberrans* (Thorne 1935) Thorne & Allen, 1944 por medio de fenotipos de isozimas. *Nematropica* 22(2):243-246.
- Devran, Z., U. Gözel, M. A. Sögüt, S. Yildiz, and I. H. Elekcioglu. 2002. Identification of Root-Knot Nematodes in the Mediterranean Region of Turkey by Using rDNA and mtDNA Markers. *Turkish Journal for Agriculture and Forestry* 26:337-341.
- Franklin, M. T. 1959. *Nacobbus serendipiticus* n. sp., a root-galling nematode from tomatoes in England. *Nematologica* 4:286-293.
- Hapl, V., A. Pavlíček, and J. Flegr. 2001. Construction and bootstrap analysis of DNA fingerprinting-based phylogenetic trees with the freeware program FreeTree: application to trichomonad parasites. *International Journal of Systemic Ecology and Micology* 51: 731-735.
- Herbert, P. D. N., A. Cywinska, S. L. Ball, and J. R. deWaard. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of The Royal Society* 270: 313-321.
- Holterman, M., A. Van der Wurff, S. Van den Elsen, H. Van Megen, T. Bongers, O. Holovachov, J. Bakker, and J. Helder. 2006. Phylum-Wide Analysis of SSU rDNA Reveals Deep Phylogenetic Relationships among Nematodes and Accelerated Evolution toward Crown Clades. *Molecular Biology and Evolution* 23(9):1792-1800.
- Hugall, A., C. Moritz, J. Stanton, and D. R. Wolstenholme. 1994. Low, but Strongly Structured Mitochondrial DNA Diversity in Root Knot Nematodes (*Meloidogyne*). *Genetic Society of America* 136(3):903-912.
- Hyman, B. C. and L. E. Whipple. 1996. Application of Mitochondrial DNA Polymorphism to *Meloidogyne* Molecular Population Biology. *Journal of Nematology* 28(3):268-276.
- Ibrahim, S. K., J. G. Baldwin, P. A. Roberts, and B. C. Hyman. 1997. Genetic Variation in *Nacobbus aberrans*: An Approach toward Taxonomic Resolution. *Journal of Nematology* 29(3):241-249.
- Jatala, P., and A. M. Golden. 1977. Taxonomic status of *Nacobbus* species attacking potatoes in South America. *Nematropica* 7:9-10.
- Lax, P., J. C. R. Dueñas, C. N. Cardenal, and M. E. Doucet. 2007. Assessment of genetic variability in populations of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne and Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae) from Argentina. *Nematology* 9(2):261-270.
- LIFETECHNOLOGIES. 2001. PLant DNazol Reagent. GIRCO BRL. In: <http://tools.invitrogen.com/content/sfs/manuals/10978.pdf>
- Lordello, L. G. E., A. P. L. Zamith, and O. J. Boock. 1961. Two nematodes found attacking potato in Cochabamba, Bolivia. *An. Acad. Brasil Cienc.* 33:209-215.

- Manzanilla-López, R. H. 2010. Speciation within *Nacobbus*: consilience or controversy? *Nematology* 12(3):321-334.
- Mitreva, M., M. C. Wendl, J. Martin, T. Wylie, Y. Yin, A. Larson, J. Parkinson, R. H. Waterston, and J. P. McCarter. 2006. Codon usage patterns in Nematoda: analysis based on over 25 million codons in thirty-two species. *Genome Biology* 7(8):R75.
- Page, R. D. 1996. TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Application in the Biosciences* 12:357-358.
- Peloquin, J. J., M. D. Bird, I. Kaloshian and C. Matthews, 1993. Isolates of *Meloidogyne hapla* with distinct mitochondrial genomes. *Journal of Nematology* 25:239-243.
- Phan K. L., S. A. Subotin, N. C. Nguyen, and M. Moens. 2003. *Heterorhabditis baujardi* sp. N. (Rhabditida: Heterorhabditidae) from Vietnam and morphometric data for *H. indica* populations. *Nematology* 5(3):367-382.
- Powers, T. O., and L. J. Sandall. 1988. Estimation of genetic divergence in *Meloidogyne* mtDNA. *Journal of Nematology* 20(4):505-511.
- Powers, T. O., T. C. Todd, A. M. Burnell, P. C. B. Murray, C. C. Fleming, A. L. Szalanski, B. A. Adams, and T. S. Harris. 1997. The rDNA Internal Transcribed Spacer Region as a Taxonomic Marker for Nematodes. *Journal of Nematology* 29(4):441-450.
- Reid, A., R. H. Manzanilla-López, and D. J. Hunt. 2003. *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne & Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae); a nascent species complex revealed by RFLP analysis and sequencing of the ITS-rDNA region. *Nematology* 5:441-451.
- Sher, S. A. 1970. Revision of the Genus *Nacobbus* Thorne and Allen, 1944 (Nematoda: Tylenchoidea). *Journal on Nematology* 2(3):228-235.
- Stanton, J., A. Hugall and C. Moritz, 1997. Nucleotide polymorphisms and an improved PCR-based mtDNA diagnostic for parthenogenetic root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). *Fundamental Applied Nematology* 20:261-268.
- Subotin, S., P. D. Halford, A. Warry, and R. N. Perry. 2000. Variations in ribosomal DNA sequences and phylogeny of *Globodera* parasitising solanaceous plants. *Nematology* 2:591-604.
- Thorne, G. D. 1935. The sugar beet nematode and other indigenous nematode parasites of shadscale. *Journal of Agricultural Research* 51:509-514.
- Thorne, G., and M. L. Schuster. 1956. *Nacobbus batatiformis* n. sp. (Nematoda: Tylenchidae), producing galls on the roots of sugar beets and other plants. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington* 23:128-134.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin, and D. G. Higgins. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25:4876-4882.
- Vovlas, N., D. Mifsud, B. B. Landa, and P. Castillo. 2005. Pathogenicity of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on potato. *Plant pathology* 54:657-664.
- Vovlas, N., A. I. Nico, F. De Lucha, C. De Giorgi, and P. Castillo. 2007. Diagnosis and molecular variability of an Argentinean population of *Nacobbus aberrans* with

- some observations on histopathology in tomato. *Journal of Nematology* 39:17-26.
- Whipple, L. E., H. L. David and C. H. Bradley, 1998. Mitochondrial DNA length variation in *Meloidogyne incognita* isolates of established genetic relationships: utility for nematode population studies. *Fundamental Applied Nematology* 21: 265-271.
- Woo, P. C. Y., J. L. L. Teng, J. K. L. Wu, F. P. S. Leung, H. Tse, A. M. Y. Fung, S. K. P. Lau, and Kwok-yung Yuen. 2009. Guidelines for interpretation of 16S rRNA gene sequence-based results for identification of medically important aerobic Gram-positive bacteria. *Journal of Medical Microbiology* 58:1030-1036.
- Zhang, J., C. C. Jay Kuo, and L. Chen. 2011. GC content around splice sites affects splicing through pre-mRNA secondary structures. *BMC Genomics* 12:90.

ANEXOS

Anexo 3.1. Cantidad de reactivos o componentes de la reacción de PCR utilizados en el protocolo del Kit comercial Phire animal tissue direct PCR®.

Componentes	Concentración final/1 tubo	Volumen (µL)/1 tubo
Agua HPLC	--	20
Buffer PCR 2x Phire animal tissue (incluye dNTPs y MgCl ₂ 1.5 mM)	1x	25
Primer F 20pM	10 pM	2
Primer R 20pM	10 pM	2
DNA polimerasa Phire hot star II	--	1
Volumen final		50 µL

Anexo 3.2. Programas térmicos para la amplificación de los segmentos 18S, COI e ITS del DNA de *Nacobbus aberrans*.

Primer	Ciclos	Actividades	LifeTechnologies		Protocolo directo	
			T (°C)	Tiempo	T (°C)	Tiempo
18S	1	Desnaturalización inicial	94	5 min	94	5 min
		Segunda desnaturalización	94	30 s	94	30 s
	5	Alineamiento	45	30 s	46	30 s
		Extensión	72	70 s	72	70 s
		Segunda desnaturalización	94	30 s	94	30 s
	35	Alineamiento	54	30 s	51	30 s
		Extensión	72	70 s	72	70 s
	1	Extensión final	72	5 min	72	5 min
COI	1	Desnaturalización inicial	95	5 min	95	5 min
		Segunda desnaturalización	95	60 s	95	60 s
	40	Alineamiento	41	90 s	61	90 s
		Extensión	72	2 min	72	2 min
	1	Extensión final	72	10 min	72	10 min
ITS	1	Desnaturalización inicial	94	4 min	94	4 min
		Segunda desnaturalización	94	30 s	94	30 s
	35	Alineamiento	55	60 s	56	60 s
		Extensión	72	1.5 min	72	1.5 min
	1	Extensión final	72	10 min	72	10 min

T= Temperatura

Nota: Solo reducir el tiempo de desnaturalización inicial. Ajustar el programa a 25µL.

Anexo 3.3. Cantidad de reactivos o componentes de la reacción de PCR para la amplificación del DNA obtenido a partir del protocolo LifeTechnologies.

Concentración madre de reactivos	Concentración final/1 tubo	Volumen (μL)/1 tubo
Buffer de PCR 10x (-MgCl ₂)	1 X	2.5
MgCl ₂ 50mM	2.5 mM	1.25
DNTP's 1mM	200 pM	5.0
Primer F 100pM	10 pM	1.0
Primer R 100pM	10 pM	1.0
Polimerasa <i>Taq</i> 5 U/ μL	1.5 U· μL^{-1}	0.3
DNA	45-50 ng· μL^{-1}	6.0
Agua HPLC		7.95
Volumen final		25 μL

FUENTE: LifeTechnologies (2001).

Anexo 3.4. Oligonucleótidos usados para la identificación de poblaciones de *Nacobbus aberrans*. Montecillo, Estado de México. 2012.

Código	Secuencia del primer 5'- 3'	Especificidad y tamaño de fragmento	Fuente
988F	CTC-AAA-GAT-TAA-GCC-ATG-C	Región ribosomal 18S 900pb	Holterman <i>et al.</i> (2006)
1912R	TTT-ACG-GTC-AGA-ACT-AGG-G		
1813F	CTG-CGT-GAG-AGG-TGA-AAT	Región ribosomal 18S 800pb	Holterman <i>et al.</i> (2006)
2646R	GCT-ACC-TTG-TTA-CGA-CTT-TT		
COIF-JB3	TTT-TTT-GGG-CAT-CCT-GAG-GTT-TAT	Región mitocondrial citocromo oxidasa 1 400pb	Derycke <i>et al.</i> (2005)
COIR-JB5	AGC-ACC-TAA-ACT-TAA-AAC-ATA-ATG-AAA-ATG		
ITSF-TW81	GTT-TCC-GTA-GGT-GAA-CCT-GC	Región ITS 800-1100pb [¶]	Phan <i>et al.</i> (2003)
ITSR-AB28	ATA-TGC-TTA-AGT-TCA-GCG-GGT		

Todos los primers se sintetizaron por Integrated DNA Technologies (IDT).

[¶]El tamaño del producto varía dependiendo de la especie.

Anexo 3.5. Componentes de la reacción de digestión para el análisis RFLP del fragmento 18S del DNA ribosomal de las poblaciones de *Nacobbus aberrans*.

Componentes	Enzimas 1x			
	<i>Hinf</i> (μL)	<i>HaeIII</i> (μL)	<i>EcoRI</i> (μL)	<i>RsaI</i> (μL)
Fragmento de DNA amplificado	3	3	3	3
Agua grado HPLC	14.5	14.3	14.5	14.3
Buffer 10X	2	2	2	2
Enzima	0.5	0.5	0.5	0.5
BSA	-	0.2	-	0.2
TOTAL	20	20	20	20

Cuadro 3.6. Componentes de reacción para la secuenciación de los fragmentos 18S y COI de las poblaciones de *Nacobbus aberrans*.

COMPONENTES	CANTIDAD (μL) 1X
Primers [¶] 0.8pM	4.0
Buffer 5x	1.5
Agua miliQ	2.5
RR (Big Dye 5x sequence buffer) ^{¶¶}	1.0
DNA limpio	1.0
TOTAL	10 μL

[¶] El primer se diluyó a 0.8 pM con agua HPLC ($C_1V_1=C_2V_2$). La mix se preparó por primer.

^{¶¶} El BigDye se agrega al final de la mezcla, en cuarto oscuro.

CAPÍTULO IV

FLUENSULFONE, UNA NUEVA ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE *Nacobbus aberrans* EN CULTIVOS HORTÍCOLAS.

Resumen

Se evaluó el efecto del fluensulfone (FSF) sobre juveniles (J2) de *N. aberrans* en condiciones *in vitro* e invernadero en los cultivos de jitomate y pepino. En el ensayo *in vitro*, se evaluaron ocho concentraciones de FSF y una de oxamil (OX), y se determinó el porcentaje de nematodos inmóviles a las 12 y 24 horas después de la exposición en los productos. En el bioensayo en invernadero se evaluaron el FSF (1 y 2 L·ha⁻¹), OX (4 L·ha⁻¹) y dicloropropeno más cloropicrina (DC+CP) (300 L·ha⁻¹) en microparcels de jitomate y pepino. Todos los tratamientos se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar. A los 60 días después del transplante (ddt), se evaluaron la densidad poblacional del nematodo, tasa de reproducción, invasión, agallamiento y cinco variables vegetativas.

El FSF tuvo un efecto significativo ($P=0.0001$) sobre la movilidad del nematodo. A las 24 horas, el 100% de los nematodos se inmovilizaron a dosis de 20 a 40 ppm, y aún a las concentraciones más bajas perdieron movilidad más del 80% de los individuos. La densidad poblacional final, la tasa de reproducción, así como el agallamiento inducido por *N. aberrans* en las raíces de jitomate y pepino se redujeron significativamente por las aplicaciones de FSF, con valores similares a los observados en las plantas tratadas con DC+CP. El menor número de agallas se obtuvo con las aplicaciones de DC+CP y FSF (2 L·ha⁻¹) con 1.87 y 12.27, reduciendo el agallamiento en un 98 y 91% con respecto al control, respectivamente. La altura y longitud de planta, peso fresco de follaje y raíz, y el peso promedio de frutos mostraron diferencias estadísticas significativas a los 60 ddt ($\alpha=0.05$). En jitomate, la mayor producción de frutos se presentó en las microparcels tratadas con DC+CP y FSF (2 L·ha⁻¹) con 318.67 y 343.53 g·planta⁻¹, incrementando la producción en un 38 y 48.8% con respecto al control, respectivamente. En pepino, la producción de frutos se incrementó favorablemente con las aplicaciones de OX y FSF (1 L·ha⁻¹).

Palabras clave: Fluensulfone, dicloropropeno+cloropicrina, *Nacobbus aberrans*.

CHAPTER IV

FLUENSULFONE, A NEW ALTERNATIVE TO CONTROL OF *Nacobbus aberrans* IN VEGETABLE CROPS

Abstract

The effect of fluensulfone on juveniles (J2) of *N. aberrans* in tomato and cucumber was evaluated under *in vitro* and greenhouse conditions. They were evaluated eight and one concentration of fluensulfone (FSF) an oxamyl (OX), respectively under *in vitro* conditions, and the percentage of immobile nematode was determined at 12 and 24 hours after they were exposed to the products. FSF (1 and 2 L·ha⁻¹), OX (4 L·ha⁻¹), and dichloropropane + chloropicrin (DC+CP) (300 L·ha⁻¹) were evaluated in tomato and cucumber cultivated in microplots under greenhouse conditions. All treatments were distributed under a completely randomized design. The final population density of the nematode, reproduction rate, invasion, root galling, and five vegetative variables were evaluated at 60 days after transplanting (DAT). The FSF had a significant effect ($P = 0.0001$) on the mobility of the nematode. At 24 hours, 100% of the nematodes were immobilized at doses of 20 to 40 ppm, and even at lower concentrations the mobility was lost in more than 80% of the individuals. The final population, reproductive rate, and the root galling by *N. aberrans* in tomato and cucumber roots were significantly reduced by the FSF applications, similar to those obtained with DC+CP. The lower number of galls was obtained with applications of DC+CP and FSF (2 L·ha⁻¹) with 1.87 and 12.27, reducing the root galling by 98 and 91% compared to control, respectively. The height and length of plant, fresh weight of foliage and roots, and the average fruit weight were statistically different at 60 DAT ($\alpha = 0.05$). In tomato, the highest production occurred in the microplots treated with DC+CP and FSF (2 L·ha⁻¹) with 318.67 and 343.53 g·plant⁻¹, increasing production by 38 and 48.8% over the control, respectively. In cucumber, fruit production increased favorably with applications and FSF and OX (1 L·ha⁻¹).

Keywords: Fluensulfone, dichloropropane + chloropicrin, *Nacobbus aberrans*.

4.1. INTRODUCCIÓN

Nacobbus aberrans representa una amenaza en la producción de cultivos, ya que posee una alta capacidad reproductiva y una amplia gama de hospedantes, dentro de los cuales se tienen a más de 80 especies cultivadas y no cultivadas pertenecientes a 18 familias botánicas, convirtiéndolo en un patógeno importante y de difícil manejo (Manzanilla-López, 1997; Franco *et al.*, 1999; Manzanilla-López *et al.*, 2002).

Bajo condiciones de invernadero, *N. aberrans* altera severamente el sistema radical de plantas de remolacha (*Beta vulgaris* L.), causando pérdidas del 27-75% en su peso (Inserra *et al.*, 1984). Pérdidas de rendimiento reportadas en cultivos de importancia alimenticia e industrial promedian un 65% en papa, en la región Andina de América Latina; y 55 y 36% en jitomate y frijol en México, respectivamente (Cristóbal *et al.*, 2000; Manzanilla-López *et al.*, 2002). Santa Cruz y Marbán (1986), reportaron pérdidas en rendimiento en el cultivo de amaranto del 10-14%.

El manejo de *N. aberrans* es un aspecto de importancia creciente para contrarrestar los efectos negativos que provoca en los sistemas de producción de hortalizas susceptibles. Actualmente, los nematicidas más ampliamente usados son organofosforados y carbamatos, tales como etoprop, fenamifos, fostiazato y oxamil, los cuales se desarrollaron a mediados de los años 50's, pero recientemente han sido objeto de fuertes regulaciones y restricciones para su uso debido principalmente a su alta toxicidad en mamíferos, alta persistencia en el suelo y contaminación del agua de mantos freáticos (Marbán-Mendoza y Manzanilla-López, 2012).

Las estrictas demandas sobre inocuidad alimentaria por parte de los consumidores y las restricciones en el uso de nematicidas, conducen a la búsqueda e identificación de alternativas de control compatibles con el ambiente y la sanidad del agroecosistema (Flores-Camacho *et al.*, 2003). Entre estas alternativas se tiene al fluensulfone, un nematicida de nueva generación del grupo de los fluoroalquenilos, que posee actividad nematicida irreversible comparada con los productos actualmente disponibles en el mercado. En plantas de chile tratadas con este nematicida, *Meloidogyne incognita* redujo su movimiento y dejó de alimentarse una

hora después de haber sido expuesto al producto. Las hembras adultas produjeron huevos no viables, y los juveniles que eclosionaron no sobrevivieron (Oka *et al.*, 2011).

Actualmente se desconoce la respuesta de *N. aberrans* al fluensulfone, por lo que los objetivos de este estudio fueron evaluar su rango de acción y el efecto que tiene sobre la movilidad del nematodo en condiciones *in vitro*. Adicionalmente, se comparó la actividad del fluensulfone con la de nematicidas fumigantes y no fumigantes en los cultivos de jitomate y pepino en condiciones de invernadero.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Material biológico y extracción de *N. aberrans*

En el Rancho Santo Domingo en Celaya, Guanajuato (20°29.503' de latitud norte y 101°12.694' de longitud oeste, a 752 msnm), se recolectaron muestras de suelo y raíces de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* L.) infestados e infectados con *N. aberrans*, respectivamente.

La extracción de los especímenes se hizo en el laboratorio integral de nematodos de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH). Se incrementó la población del nematodo en plantas de jitomate variedad Río Grande para disponer de una fuente de inóculo permanente para ensayos subsecuentes.

La extracción de nematodos de las muestras de suelo se hizo mediante la técnica de tamizado de Cobb (Cobb, 1918) y de las raíces con la cámara nebulizadora. Los nematodos se identificaron con base en las características morfológicas descritas por Sher (1970) y Manzanilla-López *et al.* (2002).

Extracción a partir de suelo: Se tomaron 10 g de la muestra edáfica, previamente homogeneizada mediante inversión y se colocaron en una bandeja de plástico con agua, se mezcló perfectamente y se dejó reposar unos segundos. Después se decantó el contenido de la bandeja alternadamente sobre tamices de 20, 40, 60, 100, 200 y 400 mallas.

Se desecharon los residuos de suelo y materia orgánica retenidos en los tamices de 20-200 mallas y se recuperaron solamente los materiales (nematodos y suelo) depositados en el tamiz de 400, los cuales se transfirieron a un vaso de precipitado

de 150 mL con una pizeta, procurando obtener un volumen final de la suspensión no mayor a 30 mL. Se observaron las muestras al microscopio y se almacenaron en un lugar cerrado a 14°C.

Extracción de tejido radical: Las raíces se lavaron con agua de la llave para eliminar el exceso de suelo y otros materiales. Posteriormente, se cortaron y pesaron 10 g de tejido agallado y se colocaron sobre un embudo con una malla de acero galvanizado para soportar las raíces durante el proceso de nebulización.

Los embudos se colocaron sobre los soportes metálicos de la cámara nebulizadora, y se puso un tubo de vidrio en la base de los embudos para retener los nematodos. En estas condiciones se dejó funcionando la cámara por 24 h y después se recogieron los tubos para recuperar los especímenes.

Terminado el proceso de extracción se sacaron los tubos de vidrio de la cámara nebulizadora y se dejaron reposar durante 15 minutos. Se desechó el exceso de agua de los tubos recolectores, dejando aproximadamente 10 mL de la suspensión de nematodos, los cuales se depositaron en un vaso de precipitados de 150 mL. Posteriormente, se tomaron alícuotas de 10 mL en un contador modificado para capturar los especímenes activos de *N. aberrans* en un microscopio estereoscópico marca Olympus SZ40.

Los ensayos *in vitro* se realizaron con los juveniles de segundo estadio (J2) que se recolectaron de las raíces. Los juveniles del material edáfico se cuantificaron para conocer el nivel poblacional del nematodo en las muestras.

4.2.2. Productos químicos

Se evaluaron el dicloropropeno más cloropicrina (DC+CP) (Agrocelhone NE® a 803 + 440 g i.a. L⁻¹) y el fluensulfone (FSF) (MCW02®) a 480g·L⁻¹) y oxamil (OX) (Vydate L® a 235g i.a.L⁻¹) como nematicidas fumigantes y no fumigantes, respectivamente.

4.2.3. Determinación *in vitro* de la actividad del fluensulfone

Se colocaron diez juveniles de *N. aberrans* en siracusas de cristal con 1 mL del producto químico a evaluar. Las siracusas se taparon con un cubreobjetos de vidrio para evitar la evaporación del producto y se mantuvieron a temperatura de laboratorio.

Se evaluaron ocho concentraciones de fluensulfone (FSF) (40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 y 5 ppm) y una de oxamil (OX) (5 ppm) como testigo comercial. Como tratamiento control, se colocaron 10 juveniles en siracusas con 1 mL de agua destilada. Para cada tratamiento se tuvieron cinco repeticiones, las cuales se establecieron bajo un diseño completamente al azar.

Se observó el comportamiento de los nematodos a los 5, 10, y 60 minutos y a las 12 y 24 horas después de haber estado expuestos al FSF y OX. La toma de datos se hizo solamente en las dos últimas observaciones.

Para determinar si el FSF está actuando como nematocida o nematástico, los nematodos inmóviles se resuspendieron por un día en agua destilada aireada. Si los nematodos recuperaban su movilidad después del período de resuspensión (al tocarlos con una aguja), el efecto del producto químico se consideraría como nematástico, de lo contrario como nematocida.

4.2.3.1. Variable evaluada

Porcentaje de nematodos inmóviles a las 12 y 24 horas después de la exposición en los productos químicos.

En cada periodo de tiempo se observaron los nematodos con un microscopio compuesto para garantizar su movilidad.

4.2.3.2. Análisis estadístico

Previo al análisis de varianza, se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza de los datos. Los valores de porcentaje de mortalidad se sometieron a un análisis de varianza y comparación múltiple de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) con el programa estadístico Statistical Analysis system (SAS) Ver. 9.3.

4.2.4. Comparación de la actividad del fluensulfone, dicloropropeno-cloropicrina y oxamil en condiciones de invernadero

El bioensayo se estableció de junio a diciembre de 2011 en las instalaciones del Departamento de Parasitología Agrícola de la UACH.

Se sembraron semillas de jitomate cv. Río grande tipo saladette (hábito determinado) y pepino cv. Turbo en charolas de poliuretano de 200 cavidades en una mezcla de peat-moss más agrolita (2:1) (una semilla por cavidad).

El bioensayo se hizo con plantas de jitomate y pepino de 30 y 20 días de edad, respectivamente, previamente sumergidas en una solución fungicida (propamocarb fosetilato, 2 mL·L⁻¹ y sulfato de Cu, 2 mL·L⁻¹) por 5 minutos.

4.2.4.1. Incremento de inóculo de *N. aberrans*

Macetas. Se recolectaron muestras de suelo infestado con *N. aberrans* de un campo comercial de jitomate localizado en Romita, Guanajuato. Las muestras se mezclaron con suelo arenoso desinfestado con DC+CP y se colocaron en macetas de 10 L de capacidad.

Plántulas de jitomate de 15 días de edad se trasplantaron en las macetas y se mantuvieron en invernadero durante dos meses. Se regaron cada dos días mediante goteo y se fertilizaron vía edáfica con triple 17 (MULTICOTE[®], N-P-K, 17-17-17) cada ocho días.

Aproximadamente 60 días después del trasplante, las raíces de jitomate presentaron agallas a partir de las cuales se removieron las masas de huevo.

Para obtener los juveniles de segundo estadio, las masas de huevo se desinfestaron con NaCl al 1% durante 4 min y se enjuagaron cuidadosamente con agua destilada. Las masas se dispersaron sobre un tamiz metálico (30 µm), previamente colocado en una caja Petri con agua destilada estéril y se incubaron a 25°C (±3°C). Los juveniles que emergieron se recolectaron durante dos días y se almacenaron a 15°C.

El inóculo se ajustó a una concentración de 2000 J2 en 100 mL de agua destilada.

Microparcels. Se establecieron 30 microparcels de 120x30x15 cm (largo-ancho-alto) con suelo franco arenoso (pH 7.09, arena:arcilla:limo, 64:10:26) desinfestado

con DC+CP. Diez plantas de jitomate de 30 días de edad se trasplantaron en cada microparcela y se inocularon a nivel del cuello con 100 mL de la suspensión del nematodo (2000 J2). Las plantas se regaron diariamente mediante goteo y se fertilizaron vía edáfica con triple 17 (N-P-K, 17-17-17) cada ocho días.

Las plantas se sacaron de las microparcels a los dos meses de haberlas plantado y el suelo se mezcló para homogeneizar el nivel de inóculo.

4.2.4.2. Dosis y especificaciones de la aplicación de los nematicidas

El suelo de las microparcels (infestado con el nematodo como se indicó anteriormente), se regó a capacidad de campo y a las 24 h se aplicaron los nematicidas a través del sistema de riego según la dosis correspondiente (Cuadro 4.1). Como tratamiento control se aplicó agua de la llave. Después de la aplicación, se mantuvo el riego para favorecer el movimiento de los nematicidas; cuatro días antes del trasplante se realizó un riego ligero para incorporar el producto y evitar fitotoxicidad.

Cuadro 4.1. Nematicidas evaluados para el control de *Nacobbus aberrans* en jitomate y pepino cultivados en condiciones de invernadero. Chapingo, México. 2011.

Producto	Nombre común	Dosis [¶]	
		g i.a·L ⁻¹	L P.F·ha ⁻¹
Vydate L	Oxamil	240	4
MCW02	Fluensulfone	480	1
MCW02	Fluensulfone	480	2
Agrocelhone NE	Dicloropropeno+ Cloropicrina	803 + 440	300
Control	Agua	--	--

g i.a·L⁻¹= gramos de ingrediente activo por litro; L P.F·ha⁻¹= Litros de producto formulado por hectárea. [¶]Dosificación por área efectivamente mojada por el riego.

Las microparcels tratadas con DC+CP se cubrieron con plástico después de la aplicación, el cual se retiró un día antes del trasplante.

Las plantas de jitomate y pepino se trasplantaron 10 días después de la aplicación de los nematicidas. Se colocaron 10 plantas por microparcela a doble hilera, se regaron

diariamente mediante goteo y se fertilizaron vía edáfica con triple 17 (N-P-K, 17-17-17) cada ocho días.

Los tratamientos se distribuyeron bajo un diseño completamente al azar con tres repeticiones (Figura 4.1).

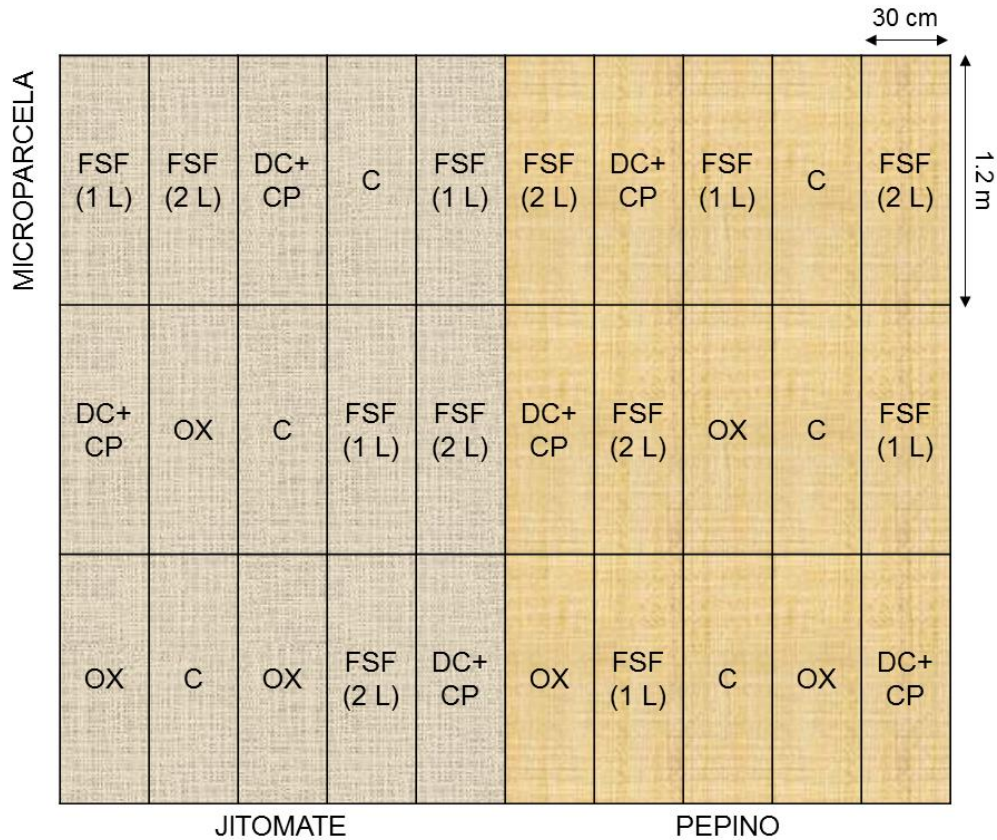


Figura 4.1. Distribución de tratamientos en la parcela experimental de jitomate y pepino. Chapingo, México. 2011. FSF= Fluensulfone (1 y 2 L·ha⁻¹), OX= Oxamil (4 L·ha⁻¹), DC+CP= Dicloropropeno + cloropicrina (300 L·ha⁻¹) y C= Control.

4.2.4.3. Variables evaluadas

A los 60 días después del transplante (ddt), se evaluaron la densidad poblacional del nematodo, tasa de reproducción, número de juveniles en un gramo de raíz agallada, número de agallas por planta, índice de agallamiento, altura de planta, peso fresco del follaje y raíz y producción (g·planta⁻¹). La producción de jitomate se evaluó hasta el segundo corte, aproximadamente 90 ddt.

Densidad poblacional inicial (P_i) y final (P_f). Para obtener una muestra compuesta de 1 kg de suelo, se tomaron de cada microparcela cinco submuestras de aproximadamente 200 g de suelo (en zig-zag) a una profundidad de 10 cm. La muestra se homogeneizó mediante inversión y se tomaron 100 cm³ para extraer los nematodos mediante tamizado de Cobb (Cobb, 1918). La evaluación **inicial** se realizó antes de aplicar los tratamientos y la evaluación **final** a los 60 ddt.

Tasa de reproducción de *N. aberrans* (R). Para determinar la tasa de reproducción del nematodo en las microparcels se empleó la ecuación $R = \frac{P_f}{P_i}$.

Número de juveniles (J2) en raíces agalladas. Se tomaron submuestras al azar de raíces agalladas de dos plantas por microparcela (seis por tratamiento). Los juveniles se cuantificaron a partir de raíces clarificadas y teñidas según la técnica modificada de Byrd *et al.* (1983): Las raíces se lavaron, se cortaron 15 segmentos de 1.5 cm, y se colocaron en un vaso de precipitado con 70 mL de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 1.5% durante 4 min con agitación ocasional. Posteriormente, se enjuagaron con agua de la llave (30-40 segundos) y se dejaron remojando por 15 min para eliminar el hipoclorito de sodio. Se drenaron y transfirieron a un vaso de precipitado con 30 mL de agua y 1 mL de fucsina ácida (3.5 g de fucsina, 250 mL de ácido acético y 750 mL de agua destilada). La solución se hirvió por 30 segundos aproximadamente, se enfrió a temperatura de laboratorio y el exceso de fucsina se removió con lavados en agua de la llave. Las raíces teñidas se transfirieron en 20-30 mL de glicerina acidificada con unas gotas de HCl 5N, se hirvieron y enfriaron. Los segmentos de raíz se montaron en portaobjetos de vidrio y se observaron en un microscopio óptico Olympus CX31.

Número de agallas por planta (NAP). Se hizo un muestreo destructivo de cinco plantas por microparcela (15 plantas por tratamiento) tomadas al azar. La extracción se hizo manualmente separando cuidadosamente las plantas del suelo, posteriormente se lavaron las raíces con agua de la llave y mediante conteo directo se determinó el número de agallas visibles en el sistema radical.

Índice de agallamiento (IA). El índice de agallamiento se determinó con base en el número de agallas por raíz y la escala propuesta por Taylor y Sasser (1978) (Cuadro 4.2).

Cuadro 4.2. Escala de severidad para evaluar el índice de agallamiento causado por *Nacobbus aberrans* en jitomate y pepino.

Escala	Número de agallas en el sistema radical
0	Sin agallas (raíz sana)
1	1-2 agallas
2	3-10 agallas
3	11-30 agallas
4	31-100 agallas
5	Más de 100 agallas

Taylor y Sasser (1978).

Altura de planta (AP). Con una cinta métrica se midió la altura de cinco plantas localizadas en la sección media de cada microparcela (15 plantas por tratamiento). La altura de las plantas de jitomate se tomó del cuello hasta el ápice, y para el pepino se midió la longitud de la guía principal.

Peso fresco de follaje (PFF) y raíz (PFR). El follaje y las raíces se separaron manualmente de cinco plantas por microparcela tomadas al azar. Las raíces (previamente lavadas con agua de la llave) y las hojas se pesaron de manera separada en una balanza mecánica Ohaus® 750 SW.

Producción (gplanta⁻¹). Se registró el peso promedio de frutos por planta de jitomate y pepino. Se cosecharon los frutos en madurez comercial de cinco plantas localizadas en la parte media de la microparcela (en dos cortes) y se pesaron en una balanza mecánica Ohaus®750 SW.

4.2.4.4. Análisis estadístico

Se hizo un análisis exploratorio de los datos para verificar los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Las variables que cumplieron con estos supuestos se sometieron a un análisis de varianza paramétrica; las variables que no los cumplieron se analizaron mediante la prueba de ANOVA de Kruskal-Wallis ($\alpha=0.05$). La diferencia entre tratamientos se determinó mediante comparación múltiple de medias (Tukey, $\alpha=0.05$).

Todos los análisis se hicieron con el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS) Versión 9.3.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Determinación *in vitro* de la actividad del fluensulfone (FSF)

El FSF tuvo un efecto significativo ($P=0.0001$) sobre la movilidad de *N. aberrans*. A las doce horas de haber estado en contacto con el nematicida, se inmovilizaron del 92 al 100% de los nematodos a dosis de 20 a 40 ppm, respectivamente. A 5 ppm, el FSF inmovilizó al 70% de los individuos, dando una respuesta estadísticamente mayor que los tratados con el testigo comercial (oxamil) (56%) (Figura 4.2).

A las 24 horas, el 100% de los nematodos se inmovilizaron a dosis de 20 a 40 ppm, y aún a las concentraciones más bajas perdieron movilidad más del 80% de los individuos (Figura 4.2).

En ninguno de los tiempos evaluados, los nematodos que se colocaron en agua destilada perdieron movilidad (Figura 4.2).

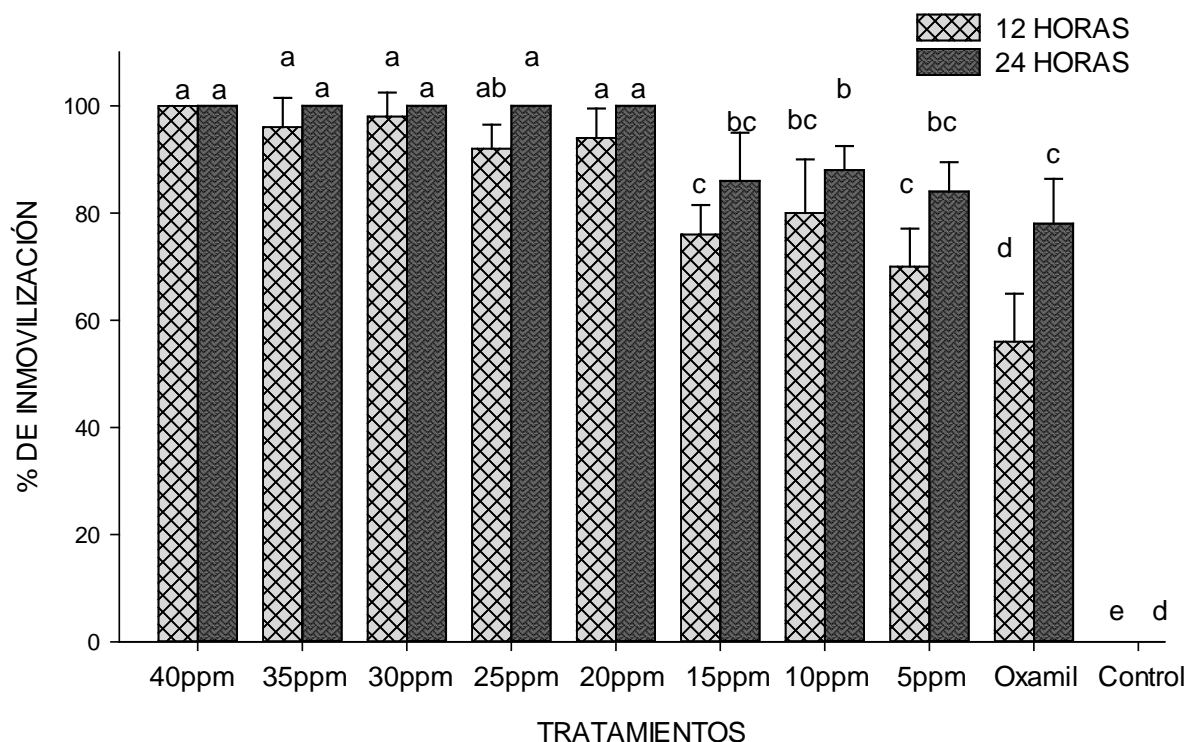


Figura 4.2. Efecto del fluensulfone sobre la movilidad de juveniles (J2) de *N. aberrans* a las 12 y 24 h de exposición en condiciones *in vitro*. Chapingo, México. 2011. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Para cada tratamiento, letras diferentes son estadísticamente diferentes ($\alpha=0.05$).

Ninguno de los nematodos que se inmovilizaron con FSF durante 24 horas y que se transfirieron a agua destilada aireada reaccionó al estímulo mecánico, por lo que se consideraron como muertos. Adicionalmente, el aparato digestivo mostró una coloración oscura (condición fisiológicamente normal que indica la presencia de reservas), en comparación con los que se colocaron en agua destilada (control) y cuyo intestino se aclaró después de 24 horas de observación (Figura 4.3).

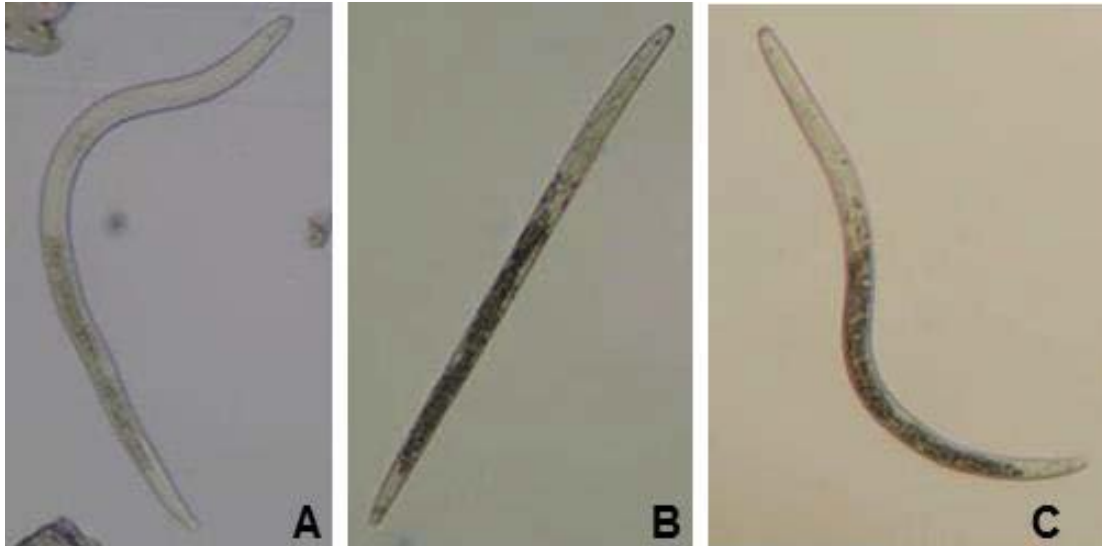


Figura 4.3. Juveniles de *N. aberrans* a las 24 h de exposición en agua destilada (control) (A), fluensulfone (B) y oxamil (C).

A las 24 horas, el oxamil inmovilizó al 78% de los nematodos (Figura 4.2), de los cuales el 80% recuperaron su actividad motriz después de transferirlos a agua destilada aireada.

Los juveniles que se colocaron en agua destilada (control) se mantuvieron activos durante todo el ensayo.

4.3.2. Comparación de la actividad del fluensulfone, dicloropropeno-cloropicrina y oxamil en condiciones de invernadero

4.3.2.1. Densidad población inicial y final

Aun cuando la densidad poblacional inicial de *N. aberrans* fluctuó de 28 a 41 juveniles en las microparcels cultivadas con jitomate, la densidad promedio no fue significativamente diferente ($P=0.8283$) en todas las microparcels con 31 a 35 individuos en 100 cm^3 de suelo (Figura 4.4). De igual forma, la densidad promedio inicial en las microparcels con pepino no mostró diferencias significativas, presentando de 28 a 31 individuos por muestra de suelo (Figura 4.5).

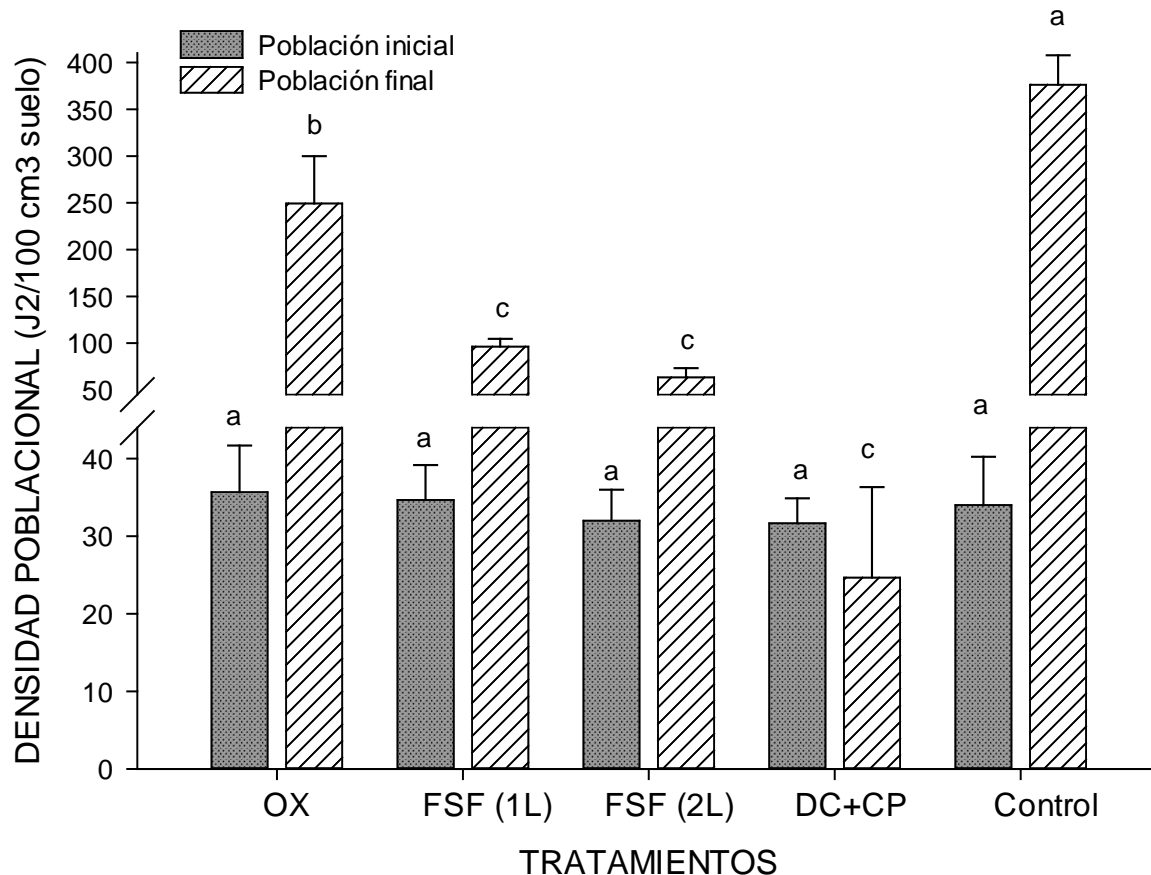


Figura 4.4. Efecto de nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (OX y FSF) sobre los niveles poblacionales de *N. aberrans* en jitomate. Chapingo, México. 2011. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Las letras en las barras representan el nivel de significancia ($\alpha=0.05$).

A los 60 ddt, la población final de nematodos fue de 24.67 y 249.33 juveniles en las microparcelas de jitomate tratadas con DC+CP y OX, respectivamente; mientras que en el tratamiento control el número promedio de juveniles fue significativamente mayor con 376.33 individuos en 100 cm³ de suelo ($P=0.0001$) (Figura 4.4).

Al igual que el DC+CP, el FSF (2 L·ha⁻¹) redujo significativamente ($P=0.0001$) la población final (63 J2) de *N. aberrans* en un 83% con respecto al control. En dosis de 1 L·ha⁻¹, el FSF disminuyó la población del nematodo en un 75% (96 J2); mientras que el OX solo lo hizo en un 33% (249 J2).

En el cultivo de pepino, hubo diferencias significativas entre los tratamientos en las poblaciones finales de *N. aberrans* ($P=0.0001$), encontrándose la mayor cantidad de juveniles en el control con más de 450 individuos en 100 cm^3 de suelo.

La cantidad promedio de nematodos en las microparcelas tratadas con OX, FSF (1 y $2\text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) y DC+CP fue de 311, 129, 56 y 21 juveniles en 100 cm^3 de suelo, respectivamente (Figura 4.5).

A los 60 ddt, la población final de *N. aberrans* se redujo significativamente con DC+CP y FSF ($2\text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) en un 95 y 88 % con respecto al control, respectivamente.

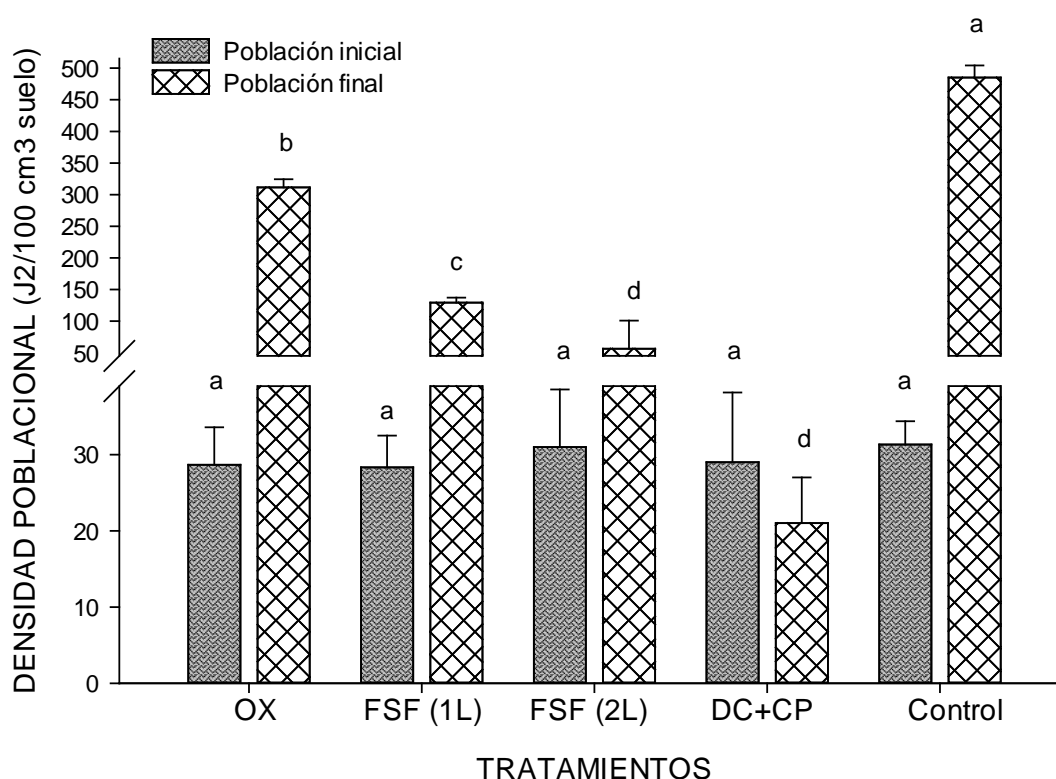


Figura 4.5. Efecto de nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (OX y FSF) sobre los niveles poblacionales de *N. aberrans* en pepino. Chapingo, México. 2011. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Las letras en las barras representan el nivel de significancia ($\alpha=0.05$).

4.3.2.2. Tasa de reproducción

La tasa de reproducción de *N. aberrans* se redujo significativamente con las aplicaciones de DC+CP y FSF, mostrando la mayor supresión en las microparcelas tratadas con DC+CP con valores de 0.76 y 0.74 en los cultivos de jitomate y pepino, respectivamente (Cuadros 4.3). De igual forma, en ambos cultivos las mayores tasas de reproducción se presentaron en las microparcelas tratadas con agua, siendo estadísticamente diferentes al resto de los tratamientos ($P=0.0001$).

En jitomate y pepino, el DC+CP redujo la tasa de reproducción de *N. aberrans* hasta en un 95%, y el FSF ($2 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) lo hizo en más del 82% (Cuadro 4.3).

Cuadro 4.3. Efecto de nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (OX y FSF) sobre la tasa de reproducción de *Nacobbus aberrans* en jitomate y pepino. Chapingo, México. 2011.

Producto	Dosis ($\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$)	Tasa de reproducción [¶]			
		Jitomate		Pepino	
Oxamil	4	6.96	B	11.05	B
Fluensulfone	1	2.83	C	4.63	C
Fluensulfone	2	1.98	C	2.14	C
DC+CP	300	0.76	C	0.74	C
Control	Agua	11.31	A	15.62	A
DMS		2.885		4.146	

[¶]Medias con la misma letra en la misma columna, no son estadísticamente diferentes (Tukey=0.05).

DMS= Diferencia mínima significativa.

4.3.2.3. Número de juveniles (J2) en raíces agalladas

A los 60 ddt, la invasión de juveniles de *N. aberrans* en plantas de jitomate mostró diferencias significativas entre tratamientos ($P=0.0001$). La menor invasión se presentó en las microparcelas tratadas con DC+CP y FSF ($2 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) con 9 y 12 especímenes por gramo de raíz, respectivamente, reduciendo la entrada de los juveniles en un 72 y 63%, respectivamente con respecto al control. El FSF ($1 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) y

OX disminuyeron la invasión del nematodo en un 57 y 23%, respectivamente en comparación con el control (Cuadro 4.4).

La mayor cantidad de nematodos en raíces de jitomate se presentó en las plantas tratadas con agua (tratamiento control) con 33 individuos en un gramo de raíz, y la menor cantidad con el DC+CP (9 J2).

Cuadro 4.4. Efecto de nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (OX y FSF) sobre la invasión de juveniles de *Nacobbus aberrans* en raíces de jitomate y pepino. Chapingo, México. 2011.

Producto	Dosis (L·ha ⁻¹)	Jitomate		Pepino	
		J2 [¶]		J2 [¶]	
Oxamil	4	25.67	B	22.60	B
Fluensulfone	1	14.40	C	14.20	C
Fluensulfone	2	12.20	C	11.67	CD
DC+CP	300	9.33	C	9.33	D
Control	Agua	33.22	A	29.27	A
DMS		5.295		4.268	

[¶]Medias con la misma letra en la misma columna, no son estadísticamente diferentes (Tukey=0.05).

DMS= Diferencia mínima significativa.

En las raíces de pepino tratadas con DC+CP y FSF (2 L·ha⁻¹) se presentó la menor invasión del nematodo con 9 y 11 individuos en promedio, respectivamente; mientras que la mayor invasión ocurrió en las plantas control con un promedio de 29.27 nematodos por gramo de raíz. En las plantas tratadas con OX, las raíces fueron invadidas por un promedio de 23 individuos, siendo estadísticamente diferente al resto de los tratamientos (Cuadro 4.4).

La invasión de *N. aberrans* en las plantas de pepino se redujo en más del 50% con las aplicaciones de DC+CP y FSF (Cuadro 4.4).

4.3.2.4. Número de agallas por planta

En el cultivo de jitomate, el menor número de agallas se presentó en las microparcelas tratadas con DC+CP y FSF (2 L·ha⁻¹) con 1.87 y 12.27, reduciendo el agallamiento en un 98 y 91%, respectivamente con respecto al control (Figura 4.6).

Las plantas tratadas con FSF (1 L·ha⁻¹) y OX desarrollaron en promedio 31 y 62 agallas por planta, respectivamente. La mayor cantidad de agallas se encontró en las plantas tratadas con agua (Figura 4.6).

En el cultivo de pepino, las aplicaciones de DC+CP y FSF (2 L·ha⁻¹) redujeron el agallamiento en un 97 y 88%, desarrollando en promedio 2.93 y 12 agallas por planta, respectivamente en relación al control (Figura 4.6).

Las plantas tratadas con FSF (1 L·ha⁻¹) y OX suprimieron el agallamiento en un 69 y 67% (31.27 y 32.93 agallas), respectivamente en comparación al control (Figura 4.6).

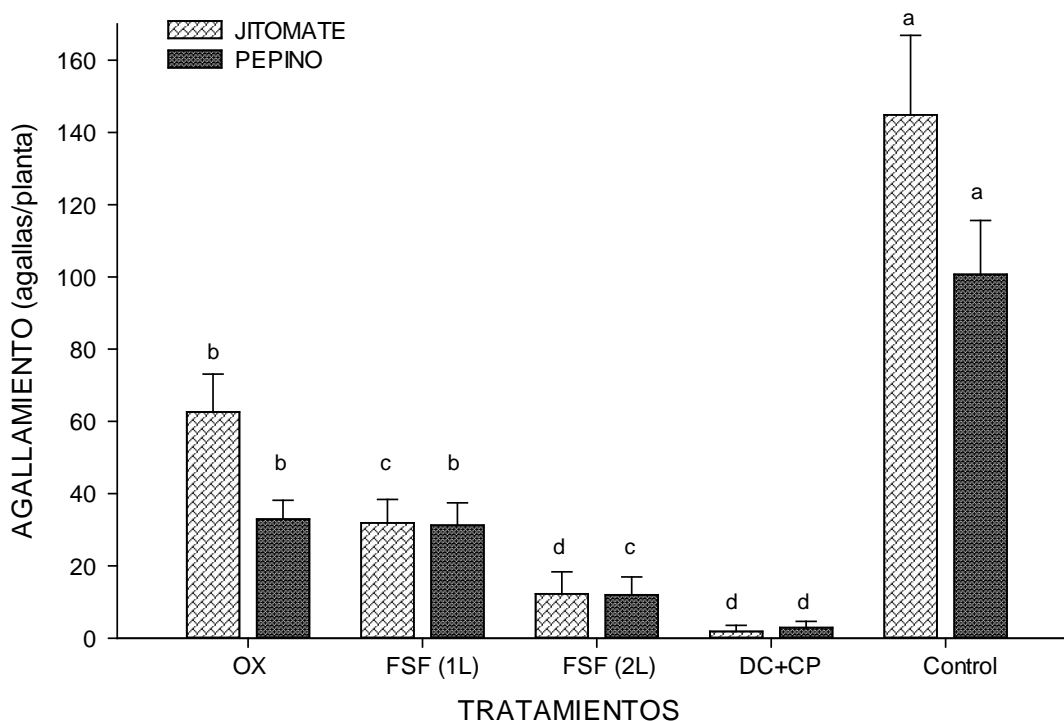


Figura 4.6. Número de agallas por planta en jitomate y pepino a los 60 ddt. Chapingo, México. 2011. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Las letras en las barras representan el nivel de significancia ($\alpha=0.05$).

4.3.2.5. Índice de agallamiento

El índice de agallamiento en el cultivo de jitomate fue estadísticamente diferente entre los tratamientos ($P=0.0001$). Los índices más altos se presentaron en las plantas control con valores de 5 (>100 agallas); mientras que los más bajos se obtuvieron con aplicaciones de DC+CP y FSF en dosis de $2 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$, reduciendo el índice de severidad en más del 40% con respecto al control, respectivamente (Cuadro 4.5).

Cuadro 4.5. Número de agallas e índice de agallamiento inducido por *Nacobbus aberrans* en plantas de jitomate (cv. Río Grande) tratadas con nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (OX y FSF). Chapingo, México. 2011.

Producto	Dosis ($\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$)	NAP [¶]		IA [¶]	
Oxamil	4	62.60	B	4.0	B
Fluensulfone	1	31.93	C	4.0	C
Fluensulfone	2	12.27	D	3.0	D
DC+CP	300	1.87	D	1.0	D
Control	Agua	144.87	A	5.0	A
DMS		11.903			

[¶]Medias con la misma letra en la misma columna, son estadísticamente iguales ($\alpha=0.05$). NAP= Número de agallas por planta; IA= Índice de agallamiento; DMS= Diferencia mínima significativa.

En el cultivo de pepino, los índices más bajos se presentaron en las plantas tratadas con DC+CP y FSF en dosis de $2 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$ con 1.0 y 3.0, disminuyendo el índice de severidad en un 80 y 40% con relación al control, respectivamente (Cuadro 4.6).

Cuadro 4.6. Número de agallas e índice de agallamiento inducido por *N. aberrans* en plantas de pepino cv. Turbo, tratadas con nematicidas fumigantes (DC+CP) y no fumigantes (OX y FSF). Chapingo, México. 2011.

Producto	Dosis (L·ha ⁻¹)	NAP [¶]		IA [¶]	
Oxamil	4	32.93	B	4.0	B
Fluensulfone	1	31.27	B	4.0	B
Fluensulfone	2	12	C	3.0	C
DC+CP	300	2.93	D	1.0	D
Control	Agua	100.73	A	5.0	A
DMS		8.119			

[¶]Medias con la misma letra en la misma columna, son estadísticamente iguales ($\alpha=0.05$). NAP= Número de agallas por planta; IA= Índice de agallamiento; DMS= Diferencia mínima significativa.

Las plantas tratadas con FSF (1 L·ha⁻¹) y OX mostraron índices mayores de 3.0 (11-100 agallas por planta).

En ambos cultivos, las plantas tratadas con agua presentaron el índice de agallamiento más altos.

4.3.2.6. Altura, y peso fresco de follaje y raíz de plantas de jitomate

La altura promedio de las plantas de jitomate tratadas con DC+CP y FSF (2 L·ha⁻¹) fue de 82.27 y 79.33 cm, lo que representó un incremento del 40.87 y 35.84% con respecto a la altura de las plantas del tratamiento control (58.4 cm) (Figura 4.7).

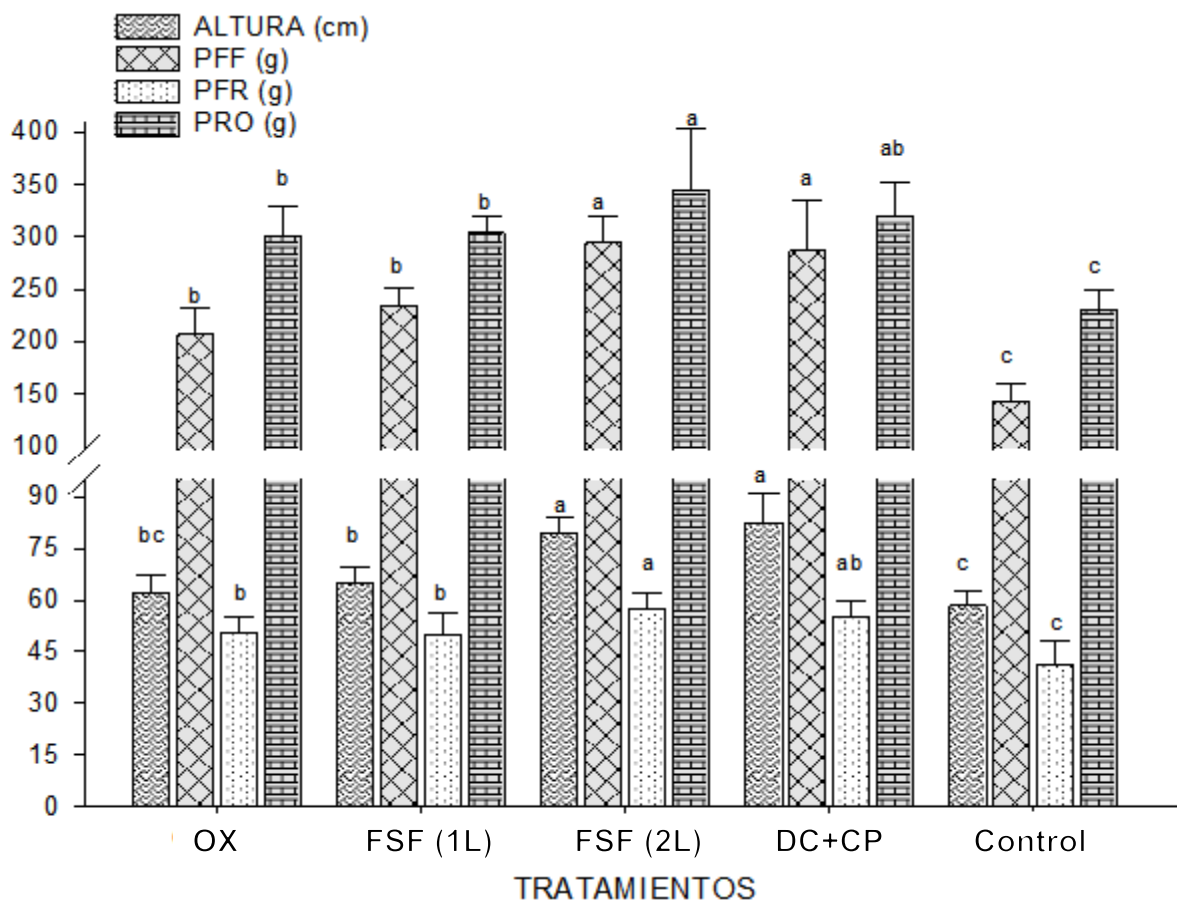


Figura 4.7. Altura de planta, peso fresco de follaje (PFF) y raíz (PFR), y producción (PRO) de frutos por planta de jitomate. Chapingo, México. 2011. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Las letras en las barras representan el nivel de significancia ($\alpha=0.05$).

Las plantas tratadas con FSF ($1 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) y OX alcanzaron alturas promedio de 64.87 y 62.13 cm (Figura 4.7).

El peso fresco del follaje de las plantas tratadas con DC+CP y FSF ($2 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) incrementó en más del 100% con relación al control, alcanzando valores de 286.4 y 293.93 $\text{g}\cdot\text{planta}^{-1}$, respectivamente (Figura 4.7).

En las plantas tratadas con FSF en dosis de $1 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$ y OX, el peso fresco de las hojas incrementó en un 64.23 y 45.28% (233.3 y 206.3 g), respectivamente en relación al

control (142.07 g) (Figura 4.7) pero siendo estadísticamente más bajo que en las tratadas con DC+CP y FSF en dosis de 2 L·ha⁻¹.

De igual forma, las plantas tratadas con DC+CP y FSF (2 L·ha⁻¹) incrementaron el peso fresco de la raíz en un 33.27 y 39.08%, respectivamente con pesos promedios de 55 y 57.4 g por raíz. Las plantas tratadas con agua presentaron el menor desarrollo (41.27 g) (Figura 4.7).

El FSF en dosis de 1 L·ha⁻¹ y OX también aumentaron el peso fresco de la raíz en un 21.47 y 22.12% (50.13 y 50.4 g), respectivamente con respecto al control (Figura 4.7).

4.3.2.7. Longitud de la guía principal, y peso fresco de follaje y raíz de plantas de pepino

A los 60 ddt, la longitud promedio de las plantas de pepino mostró diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$). El mayor crecimiento y desarrollo de las plantas se presentó en las microparcels tratadas con DC+CP y FSF en dosis de 1 y 2 L·ha⁻¹ con 70.87, 63.87 y 64.67 cm, respectivamente, incrementando la longitud de la guía principal en un 26.71, 14.2 y 15.63% con respecto al tratamiento control (Figura 4.8).

Las plantas tratadas con OX alcanzaron longitudes promedio de 57.87 cm (Figura 4.8).

A diferencia de los resultados obtenidos en las plantas de jitomate, el peso fresco promedio del follaje del pepino solo se favoreció con las aplicaciones de FSF en dosis de 2 L·ha⁻¹ (225.1 g·planta⁻¹), incrementando la biomasa verde en un 18.4% con respecto al control.

La producción de follaje en las plantas tratadas con DC+CP no fue estadísticamente diferente ($P = 0.0015$) a la de las plantas tratadas con agua (poco más de 190 g·planta⁻¹) (Figura 4.8).

El FSF en dosis de 1 L·ha⁻¹ y OX incrementaron el peso fresco de las hojas en un 7.6 y 8.2%, respectivamente con relación al control.

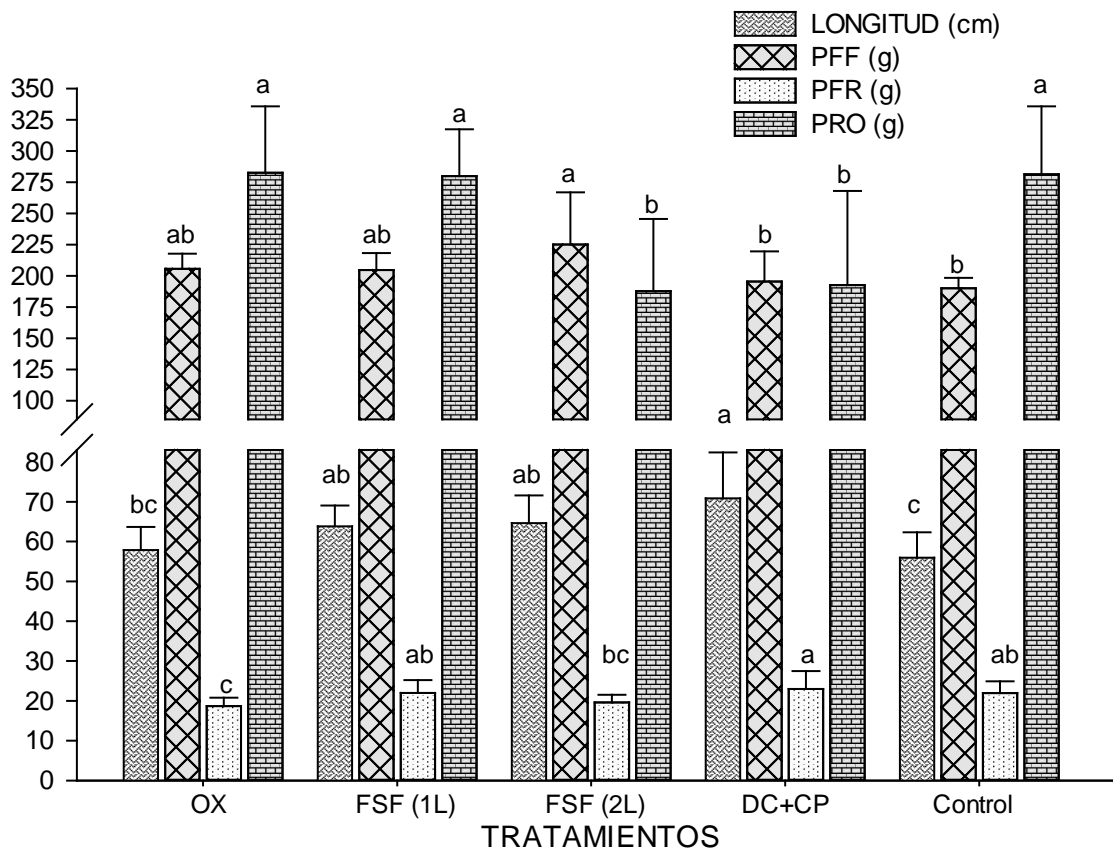


Figura 4.8. Longitud de guía principal, peso fresco de follaje (PFF) y raíz (PFR), y rendimiento de frutos (PRO) por planta de pepino a los 60 ddt. Chapingo, México. 2011. Cada barra representa el promedio de cinco repeticiones y el error estándar de la media. Las letras en las barras representan el nivel de significancia ($\alpha=0.05$).

El peso promedio más bajo de tejido radical se presentó en las plantas tratadas con OX y FSF (2 L·ha⁻¹) con 18.67 y 19.6 g·planta⁻¹ (Figura 4.8).

La mayor producción de biomasa radical se presentó en las plantas tratadas con DC+CP y FSF (1 L·ha⁻¹) con 23 y 22 g por raíz, respectivamente, incrementando el peso promedio de este órgano en un 4.88 y 0.32% con relación al control.

4.3.2.8. Producción (g)

El peso promedio de frutos en los cultivos de jitomate y pepino mostró diferencias estadísticas significativas ($P < 0.0001$). En jitomate, la mayor producción se presentó en las microparcels tratadas con DC+CP y FSF ($2 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) con 318.67 y $343.53 \text{ g}\cdot\text{planta}^{-1}$, incrementando la producción en un 38 y 48.8% , respectivamente con respecto al control.

El FSF en dosis de $1 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$ y el OX incrementaron la producción en un 31.4 y 30.2% , respectivamente en comparación al control. La producción promedio de frutos de jitomate en las plantas tratadas con agua fue de $230.87 \text{ g}\cdot\text{planta}^{-1}$ a los 60 ddt (Figura 4.7).

De manera contraria, las plantas de pepino tratadas con DC+CP y FSF ($2 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) disminuyeron la producción de frutos en poco más del 30% , con rendimientos de 187.8 y $192.73 \text{ g}\cdot\text{planta}^{-1}$, respectivamente (Figura 4.8). La producción más alta se presentó en las plantas tratadas con agua u OX, con 281.4 y 282.67 g por planta. Las plantas tratadas con FSF ($1 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) produjeron 279.93 g de fruto (Figura 4.8)

4.4. DISCUSIÓN

De acuerdo con Jatala *et al.* (1995) e Insunza *et al.* (2001), los nematodos pueden recuperar su movilidad al transferirlos en agua después de haber permanecido en una solución nematocida por algunas horas, o incluso días o semanas, manifestando una serie de respuestas fisiológicas que dependen del producto aplicado y su concentración (Oka *et al.*, 2009). Con base en los resultados de la presente investigación, el fluensulfone a concentraciones mayores a las 20 ppm , indujo reacciones fisiológicas en juveniles J2 de *N. aberrans*. El movimiento del nematodo se redujo en los primeros 10 minutos provocando contracciones a nivel del metacarpus e inmovilización total, adquiriendo una forma de varilla recta.

El contenido intestinal de los juveniles, caracterizado por su coloración oscura, no disminuyó durante el período de observación (48 horas), coincidiendo con lo reportado por Oka *et al.* (2009) en juveniles de *Meloidogyne javanica*.

En contraparte, en los juveniles que se mantuvieron en agua (tratamiento control) se observó aclaramiento del intestino, sugiriendo que el nematodo se mantuvo

fisiológicamente activo, continuando con el proceso de digestión durante el proceso de experimentación.

Los nematodos tratados con fluensulfone en las dosis evaluadas, no recuperaron la movilidad al transferirlos y mantenerlos en agua destilada aireada por 24 horas, por lo que se consideró que el producto mostró actividad nematicida irreversible. Resultados similares se reportaron en juveniles de *M. incognita* al tratarlos con el mismo producto (Oka *et al.*, 2011).

Algunos de los juveniles que se trataron con oxamil a 5 ppm se mantuvieron rectos, y otros permanecieron enrollados y con movimientos lentos, similar a la respuesta de especímenes de *M. incognita* tratados con oxamil a $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (McGarvey *et al.*, 1984). Al transferirlos a agua destilada aireada, el 80% de los nematodos inmovilizados recuperaron la actividad motriz. Dicha respuesta posiblemente se debió a que el oxamil es un carbamato, y como tal actúa como nematostático a concentraciones muy bajas y períodos de exposición demasiado cortos (Thomason, 1985). Estos productos solamente paralizan los nematodos y afectan algunos aspectos de su comportamiento, tales como la orientación y eclosión, entre otros (Opperman y Chang, 1990; Cavelier, 1987; Thomason, 1985; McGarvey *et al.*, 1984). Cabe señalar que los nematodos no dependen de su movimiento para realizar el intercambio gaseoso, por lo que aún inmóviles pueden soportar prolongados periodos sin alimentación (Marbán-Mendoza, 1985).

Es posible que la baja variación en el nivel poblacional inicial de *N. aberrans* en las microparcels de jitomate y pepino se deba a que la inoculación, manejo y condiciones edafoclimáticas fueron similares durante el proceso de incremento del inóculo, lo cual permitió asegurar que las respuestas en las variables evaluadas fueron el resultado del efecto directo de los productos químicos y no de las variaciones en la densidad inicial del nematodo.

Las poblaciones de *N. aberrans* se redujeron significativamente con las aplicaciones de dicloropropeno + cloropicrina y fluensulfone ($2 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$). Sin embargo, el

dicloropropeno + cloropicrina es un fumigante fitotóxico que tiene la desventaja de aplicarse en altos volúmenes ($300-520 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$), se usa en pre-siembra o pre-plantación, requiere equipo especializado de aplicación y el período de espera es relativamente largo (10-28 días) (Marbán-Mendoza y Manzanilla-López, 2012). En contraparte, el fluensulfone no es fitotóxico (si se consideran las medidas de aplicación recomendadas por los fabricantes), el tiempo de espera es corto (8-10 días) y a las dosis utilizadas en la presente investigación actuó como un verdadero nematicida, lo cual abre la posibilidad de implementarlo en programas de manejo integrado de nematodos, ya que es un producto ecológicamente más amigable que los organofosforados y carbamatos comúnmente usados para el control de fitonematodos (Oka *et al.*, 2009).

La reproducción del nematodo es afectada por diversos factores, tales como temperatura, disponibilidad de alimento, prácticas agrícolas, entre otros (Norton, 1978), por lo que los nematodos de las plantas control, al no tener algún factor crítico limitante, presentaron las máximas tasas de multiplicación. Lo contrario ocurre en las poblaciones tratadas con los productos químicos, que redujeron significativamente la reproducción de las hembras al exponerse a las dosis letales y subletales de los productos. Los individuos que sobrevivieron al nematicida pudieron llegar a reproducirse, pero es posible que el fluensulfone haya inhibido la eclosión de los huevos, como lo reportó Oka *et al.* (2009) en *M. javanica*.

El dicloropropeno + cloropicrina y fluensulfone ($2 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) disminuyeron en más del 60% la invasión del nematodo al sistema radical de las plantas de jitomate y pepino con relación al control, lo cual confirma el efecto nematicida de estos productos, ya que al causar la muerte de los individuos disminuye la concentración de inóculo y por consiguiente la infección. Estos resultados coinciden con lo observado por Oka *et al.* (2011) en juveniles de *M. javanica* en raíces de jitomate cv Daniela. En contraste, hubo una mayor penetración de juveniles al sistema radical de las plantas tratadas con oxamil, posiblemente por su efecto nematástico (Opperman y Chang, 1990; McGarvey *et al.*, 1984).

Tomando en cuenta que en las raíces de las plantas cultivadas en las microparcels tratadas con fluensulfone y dicloropropeno + cloropicrina hubo una menor invasión y desarrollo del nematodo, el agallamiento inducido por *N. aberrans* se redujo hasta en un 98%. Como se esperaba, las plantas en las microparcels tratadas con oxamil presentaron un mayor índice de agallamiento, ya que el producto afecta ligeramente la invasión del nematodo en las raíces, pero no su desarrollo.

El menor daño ocasionado por *N. aberrans* en jitomate y pepino por las aplicaciones de fluensulfone puede deberse a la actividad nematicida irreversible del producto. Aunque el modo de acción del fluensulfone no está determinado, se sugiere que actúa de manera diferente a los organofosforados (inhibidores de la acetilcolinesterasa) (Oka *et al.*, 2011), la mayoría de los cuales actúan como nematostáticos, paralizando los nematodos sin provocarles la muerte, o afectando diferentes aspectos de su comportamiento, por lo que los nematodos pueden recuperarse después de remover el nematicida (Opperman y Chang, 1990; McGarvey *et al.*, 1984). De acuerdo con Kearns *et al.* (2014), el fluensulfone afecta la reproducción, desarrollo, alimentación y movilidad de *Caenorhabditis elegans*. Sugieren que la inhibición del desarrollo ocurre por la interferencia en el proceso de muda y que la reducción en la eclosión de los huevos se debe a la inhibición de la respiración mitocondrial; sin embargo tales mecanismos de acción los basa en los resultados observados en embriones de *C. elegans* tratados con azida de sodio 10 mM (Hajeri *et al.*, 2010).

La forma que adoptan los juveniles cuando son expuestos al fluensulfone sugiere que el modo de acción es diferente al de cadusafos y fenamifos (organofosforados), ya que cuando los juveniles son tratados con fluensulfone se muestran rígidos, mientras que con los organofosforados los especímenes se encogen (Oka *et al.*, 2009).

El alto número de juveniles en el suelo de las parcelas tratadas con oxamil y fluensulfone (1 L·ha⁻¹) al final del ensayo, confirma de manera indirecta que estos químicos tienen poco o nulo efecto sobre la eclosión de los huevos (Greco *et al.*,

2000), y que el agallamiento observado en los sistemas radicales de las plantas de jitomate y pepino, es producto de una infección tardía, por lo que no ocurre un efecto significativo en la reducción del rendimiento de los cultivos. Así también, el poco efecto del oxamil y fluensulfone ($1 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$) sobre los juveniles de *N. aberrans*, podría ser atribuido a la alta densidad poblacional inicial.

Las aplicaciones de dicloropropeno + cloropicrina, oxamil y fluensulfone incrementaron la biomasa verde en las plantas de jitomate y pepino, como un efecto directo de la reducción del nivel de daño ocasionado por *N. aberrans* en las plantas tratadas. No obstante, el fluensulfone tuvo el mejor efecto en el desarrollo de la raíz y del dosel vegetativo, aún en presencia del nematodo; sin embargo, es importante mencionar que en etapas tempranas de desarrollo en las plantas tratadas con dicloropropeno + cloropicrina y la dosis alta de fluensulfone, se observaron ligeros síntomas de fitotoxicidad, los cuales se manifestaron con etiolación y escaso desarrollo foliar, pero desaparecieron aproximadamente a los 20 días después del transplante. Estas observaciones indican que se requiere de más investigación a nivel de invernadero y campo para evitar daños significativos en los cultivos, ya que el fluensulfone se biodegrada lentamente, y su movimiento y actividad nematicida son afectados, al igual que el de la mayoría de los nematicidas, por el contenido de arcilla y materia orgánica en el suelo (Oka *et al.*, 2013; Smelt y Leistra, 1992).

La producción de frutos de jitomate fue significativamente favorecida por las aplicaciones de los nematicidas, incrementándose en más del 30% con respecto al control. Mientras que las plantas de pepino tratadas con fluensulfone y dicloropropeno + cloropicrina tuvieron los rendimientos más bajos, posiblemente por el efecto fitotóxico generado por estos productos en los primeros 20 días de crecimiento, el cual, a diferencia del jitomate, no logró recuperarse, ya que su ciclo biológico es más corto y la biomasa acumulada en los tejidos vegetales no fue suficiente para una mejor producción de frutos. Estos resultados se pueden corroborar con el escaso desarrollo radical en las plantas de pepino tratadas con

fluensulfone. La fitotoxicidad pudo haberse ocasionado por la lenta biodegradación del fluensulfone en el suelo (Oka *et al.*, 2013).

4.5. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones evaluadas, el fluensulfone presentó actividad nematicida irreversible sobre *Nacobbus aberrans*.

La densidad poblacional final de *N. aberrans*, el número de juveniles y el agallamiento en las plantas de jitomate y pepino se redujeron significativamente al tratarlas con fluensulfone y dicloropropeno + cloropicrina.

En el cultivo de jitomate, las aplicaciones de dicloropropeno + cloropicrina y fluensulfone (2 L·ha⁻¹) incrementaron significativamente la altura de la planta, peso fresco de raíz y follaje, y la producción de frutos.

En pepino, el fluensulfone (2 L·ha⁻¹) incrementó la longitud de la guía principal y el peso fresco de follaje, pero ninguna de las dosis evaluadas de fluensulfone tuvo un efecto significativo sobre el incremento en el peso fresco de la raíz.

La producción de frutos se incrementó favorablemente en las plantas tratadas con oxamil y fluensulfone (1 L·ha⁻¹), sin diferencias significativas entre tratamientos, pero mayor ($\alpha=0.05$) a la producción de las plantas tratadas con dicloropropeno + cloropicrina y fluensulfone en dosis de 2 L·ha⁻¹.

El fluensulfone tiene un gran potencial para el control de *N. aberrans* con niveles poblacionales altos, mostrando eficacias de control similares al del dicloropropeno + cloropicrina.

El fluensulfone representa una alternativa ambientalmente sana y técnicamente viable, por su baja fitotoxicidad en vertebrados, alta solubilidad en agua y fácil aplicación para el control de *N. aberrans* en sistemas de producción cerrados.

4.6. Consideración

Desarrollar más estudios a nivel de campo e invernadero en distintas áreas del país productoras de hortalizas y con problemas de fitonematodos para evaluar y mejorar las condiciones de aplicación del fluensulfone y reducir los problemas de fitotoxicidad en las plantas.

4.7. LITERATURA CITADA

- Byrd, Jr., D. W., T. Kirkpatrick, and K. R. Barker. 1983. An improved technique for cleaning and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology* 15:142-143.
- Cavelier, A. 1987. Le mode d'action des nematicidas non-fumigants. *Agronomie* 7(10):747-762.
- Cobb, N. A. 1918. Estimating the nema population of the soil. *Agric. Tech. Circ. I. Bur. Plant, Industr. U.S. Depart. Agric.* 48p.
- Cristóbal-Alejo, J., I. V. Cid del Prado, R.H. Manzanilla-López, N. Marbán-Mendoza, G. Mora-Aguilera, and P. Sánchez-García. 2000. Area under the progress curve of root-knot disease in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) caused by *Nacobbus aberrans*. *Nematropica* 30:120.
- Flores-Camacho, R., R. H. Manzanilla-López R. H., I. V. Cid del Prado, y A. Martínez-Garza. 2007. Control de *Nacobbus aberrans* (Thorne) Thorne y Allen con *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Gams y Zare. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25:26-34.
- Franco, J., J. Ramos, R. Oros, G. Main, y N. Ortuño. 1999. Pérdidas económicas causadas por *Nacobbus aberrans* y *Globodera* spp. en el cultivo de la papa en Bolivia. *Revista Latinoamericana de la papa* 11:40-66.
- Greco, N., A. Brandonisio, and A. Dangelico. 2000. Control of the potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis*, with soil solarization and nematicidas. *Nematología Mediterranea* 28:93-99.
- Hajeri, V. A., B. A. Little, M. L. Ladage, and P. A. Padilla. 2010. NPP-16/Nup50 function and CDK-1 inactivation are associated with anoxia-induced prophase arrest in *Caenorhabditis elegans*. *Molecular Biology of the Cell* 21:712-724.
- Hartwig, J., and R. A. Sikora. 1991. Mode of action of the carbamate nematicides cloethocarb, aldicarb and carbofuran on *Heterodera schachtii*. 1. Contact activity. *Review of Nematology* 14:525-530.
- Inserra, R. N., M. Di Vito, and H. Ferris. 1984. Influence of *Nacobbus aberrans* Densities on Growth of Sugarbeet and Kochia in Pots. *Journal of Nematology* 16(4):393-395.
- Insunza, V., E. Aballay, and J. Macaya. 2001. *In vitro* nematicidal activity of aqueous plant extracts on Chilean populations of *Xiphinema americanum sensu lato*. *Nematropica* 31:47-54.

- Jatala, P. S., P. Jatala, K. R. Schubert, L. Gavilano, and I. Delgado. 1995. Differential nematicidal activity of various extracts of selected plants from Peru. *Biocontrol* 1(2):35-48.
- Kearn, J., E. Ludlow, J. Dillon, V. O'Connor, and L. Holden-Dye. 2014. Fluensulfone is a nematicide with a mode of action distinct from anticholinesterases and macrocyclic lactones. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. *In: www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357514000212*
- McGarvey, B. D., J. W. Potter and M. Chiba. 1984. Nematostatic activity of oxamyl and N, N-dimethyl-1-cyanoformamide (DMCF) on *Meloidogyne incognita* juveniles. *Journal of nematology* 16(3):328-332.
- Manzanilla-López, R. H. 1997. Studies on the characterization and bionomics of *Nacobbus aberrans* (Thorne, 1935) Thorne y Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae), Ph. D. Thesis University of Reading. U.K. 395p.
- Manzanilla-López, R. H., M. A. Costilla, M. Doucet, J. Franco, R. N. Inserra, P. S. Lehman, I. V. Cid Del Prado, R. M. Souza, and K. Evans. 2002. The genus *Nacobbus* Thorne and Allen, 1944 (Nematoda: Pratylenchidae): systematics, distribution, biology and management. *Nematropica* 32:149-227.
- Marbán-Mendoza, N., and R. H. Manzanilla-López. 2012. Chemical and non-chemical tactics to control plant-parasitic nematodes. Pp. 729-759. *In: Manzanilla-López R. H. and N. Marbán-Mendoza (eds.). Practical plant nematology. Mundi-Prensa, Colegio de Postgraduados.*
- Marbán-Mendoza, N. 1985. Quimioterapia en nematodos. pp: 259-286. *In: Marbán, M. N, y Thomason, J. I. (Eds). 1985. Fitonematología avanzada I. COLPOS, Montecillo, Estado de México. 345p.*
- Norton, D. C. 1978. Ecology of plant-parasitic nematodes. John Wiley and Sons, Inc. United States of America. p.101.
- Oka, Y., S. Shuker, and N. Tkachi. 2009. Nematicidal efficacy of MCW-2, a new nematicide of the fluoroalkenyl group, against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Pesticides Management Science* 65(2):1082-1089.
- Oka, Y., S. Shuker, and N. Tkachi. 2011. Systemic nematicidal activity of fluensulfone against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on pepper. *Pesticides Management Science* 68(2):268-275.
- Oka, Y., S. Shuker, and N. Tkachi. 2013. Influence of soil environments on nematicidal activity of fluensulfone against *Meloidogyne javanica*. *Pesticides Management Science Wiley online library.com DOI 10.1002/ps.3487.*
- Opperman, C. H., and S. Chang. 1990. Plant parasitic nematode acetylcholinesterase inhibition by carbamate and organophosphate nematicides. *Journal of nematology* 22(4):481-488.
- Santa Cruz, V. H., y M. N. Marbán. 1986. Respuesta del cultivo de alegría *Amaranthus hypochondriacus* a niveles iniciales de infestación del nematodo *Nacobbus aberrans*. Pp. 193-203. *In: El amaranto Amaranthus spp. (Alegría) su cultivo y aprovechamiento. Chapingo, México.*
- Sher, S. A. 1970. Revision of the Genus *Nacobbus* Thorne and Allen, 1944 (Nematoda: Tylenchoidea). *Journal on Nematology* 2(3):228-235.
- Smelt, J. H., and M. Leistra. 1992. Availability, movement and transportation of soilapplied nematicides, *in: Nematology: from Molecule to Ecosystem, (eds.*

- Gommers, F. J. and Maas, P. W. T.). European Society of Nematologists, Invergowrie, Dundee, UK, pp. 266-280.
- Steel, R. D. G., y J. M. Torrie. 1986. Bioestadística. Principios y procedimientos. 2ª Edición. Ed. McGraw Hill. México D. F. 622p.
- Taylor, A. and J. Sasser. 1978. Experimental and Agronomic use of Nematicides. USA. North Carolina State University. 2000p.
- Thomason, I. J. 1985. Nematicides. pp: 235-257. *In*: Marbán, M. N, y Thomason, I. J. (Eds). 1985. Fitonematología avanzada I. COLPOS, Montecillo, Estado de México. 345p.