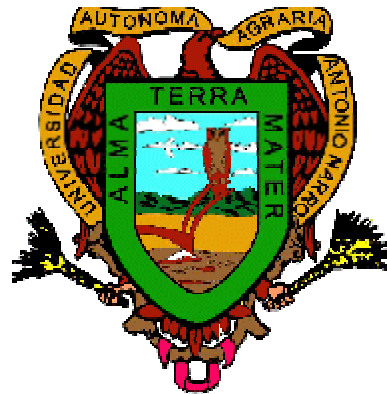


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**



**CARACTERIZACIÓN Y DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD**

**MORFOMETRICA DE *Meloidogyne incógnita*.**

**POR:**

**VICTOR MANUEL ALMARAZ ASIS**

**T E S I S**

**Presentada como requisito parcial para**

**obtener el título de:**

**INGENIERO AGRONOMO EN PRODUCCION**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México Diciembre 2005**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**

**CARACTERIZACIÓN Y DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD**

**MORFOMETRICA DE *Meloidogyne incógnita*.**

**POR:**

**VÍCTOR MANUEL ALMARAZ ASIS**

**T E S I S**

**Que somete a consideración del H. jurado examinador como requisito parcial**

**para obtener el titulo de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

**Aprobado**

---

**El presidente del Jurado  
MC. Mariano Flores Dávila**

---

**Sinodal  
MC. Faustino Lara Victoriano**

---

**Sinodal  
MC. Abiel Sánchez Arizpe**

---

**Sinodal  
Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo**

**El coordinador de la División de Agronomía**

---

**MC. Arnoldo Oyervides García**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México Diciembre 2005**

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

Por brindarme la oportunidad de realizar una carrera profesional.

### **A MI FAMILIA**

Por todo el apoyo que siempre he recibido para realizar mis estudios, su esfuerzo y dedicación hoy se capitalizan.

### **A MIS ASESORES**

Gracias por la paciencia y apoyo decidido que me brindaron; con sus atinadas sugerencias fue posible terminar este trabajo.

### **AL CISEF Y PERSONAL QUE LABORA EN ESTE CENTRO**

Por el apoyo recibido durante el desarrollo de este trabajo y mi formación profesional.

### **A TODOS MIS AMIGOS**

Por su amistad sincera e incondicional durante la estancia en la carrera, en especial a la raza de la generación 100 de la carrera de Ing. Agrónomo en Producción.

### **AI PUEBLO DE MÉXICO**

Que con su esfuerzo y trabajo diario hacen posible que instituciones como la NARRO continúen proporcionando educación a la juventud entusiasta de nuestro país.

## **DEDICATORIA**

**El presente trabajo esta dedicado a todas las personas que de alguna forma me apoyaron durante el desarrollo del mismo, con afecto a todos ustedes.**

**En especial a la memoria de mi abuelito Eustolio Asís Martínez por todo el apoyo y cariño que siempre me brindo, en donde estés abuelito que dios lo tenga en su santa gloria.**

**A mi familia recíbanlo como fruto de su esfuerzo.**

**A mis amigos de la generación 100, a mis maestros que con su enseñanza y amistad me brindaron una formación profesional. A todos gracias por su tiempo y comprensión.**

## INDICE

**Pags**

|                                                            |    |
|------------------------------------------------------------|----|
| I.-                                                        |    |
| RESUMEN.....                                               | 1  |
| II.-INTRODUCCIÓN.....                                      | 2  |
| III.-REVISIÓN DE                                           |    |
| LITERATURA.....                                            | 4  |
| 3.1.-Características del genero                            |    |
| <i>Meloidogyne</i> .....                                   | 4  |
| 3.2.-                                                      |    |
| Síntomas.....                                              | 4  |
| 3.3.-                                                      |    |
| Daños.....                                                 | 5  |
| 3.4.-                                                      |    |
| Hospederos.....                                            | 6  |
| 3.5.-                                                      |    |
| Distribución.....                                          | 6  |
| 3.6.-Descripción de <i>M.</i>                              |    |
| <i>incognita</i> .....                                     | 7  |
| 3.6.1.-                                                    |    |
| Reproducción.....                                          | 7  |
| 3.6.2.-Etapa                                               |    |
| preinfectiva.....                                          | 7  |
| 3.6.3.-Etapa parasítica.....                               | 8  |
| 3.6.4.-Fase                                                |    |
| adulta.....                                                | 8  |
| 3.7.-Identificación de <i>Meloidogyne</i> spp. por métodos |    |
| tradicionales.....                                         | 9  |
| IV.-MATERIALES Y                                           |    |
| MÉTODOS.....                                               | 11 |
| 4.1.-Muestreo de café ( <i>Coffea canephora</i>            |    |
| ).....                                                     | 11 |
| 4.2.-Muestreo de Guayaba ( <i>Psidium guajava</i>          |    |
| <i>L</i> ).....                                            | 12 |
| 4.3.-Muestreo de Chile ( <i>Capsicum</i>                   |    |
| <i>annuum</i> ).....                                       | 13 |

|                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.4.-Muestreo de Papa ( <i>Solanum tuberosum</i> ).....                                                  | 13 |
| 4.5.-Caracterización morfométrica de patrones perineales de <i>Meloidogyne</i> spp....                   | 14 |
| 4.5.1.-Extracción de hembras a partir de raíces.....                                                     | 14 |
| 4.5.2.-Extracción de hembras a partir de tubérculos.....                                                 | 15 |
| 4.5.3.-Corte del patrón perineal.....                                                                    | 15 |
| 4.5.4.-Caracterización de patrones perineales.....                                                       | 16 |
| V.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....                                                                           | 17 |
| 5.1.-Caracterización Morfométrica De Patrones Perineales.....                                            | 17 |
| 5.2.-Caracterización Morfométrica de <i>Meloidogyne</i> spp en café ( <i>Coffea canephora</i> ).....     | 17 |
| 5.3.-Caracterización Morfométrica de <i>Meloidogyne</i> spp en guayaba ( <i>Psidium guajava</i> L )..... | 20 |
| 5.4.-Caracterización Morfométrica de <i>Meloidogyne</i> spp en chile ( <i>Capsicum annuum</i> ).....     | 23 |
| 5.5.-Caracterización Morfométrica de <i>Meloidogyne</i> spp en papa, ( <i>Solanum tuberosum</i> ).....   | 26 |
| CONCLUSIONES.....                                                                                        | 28 |
| LITERATURA CITADA.....                                                                                   | 29 |
| APÉNDICE.....                                                                                            | 35 |

## RESUMEN

Los nematodos agalladores (*Meloidogyne* spp.) están considerados dentro de las más importantes plagas de los cultivos en México y el mundo; debido a la distribución geográfica que presenta *M. incognita* y a la gran diversidad de cultivos que ataca no se debe descartar la posibilidad de que existan razas fisiológicas dentro de esta misma especie, por lo anterior el objetivo de este trabajo es identificar a esta especie en diferentes cultivos para determinar la variabilidad morfométrica del patrón perineal entre individuos de esta especie. A partir de muestras provenientes de localidades y cultivos diferentes, se extrajeron hembras globosas de tejido vegetal (raíces con presencia de agallas), se realizaron cortes del patrón perineal en tres muestras por cultivo, las cuáles después de un análisis morfométrico se identificaron como *M. incognita*, en los modelos perineales obtenidos se observaron diferencias morfométricas entre individuos de un mismo cultivo y en diferentes cultivos.

## INTRODUCCIÓN

Las especies de *Meloidogyne* spp. son nematodos polífagos, con un amplio rango de adaptación a diferentes climas, encontrándose ampliamente distribuidos a nivel mundial. Los nematodos agalladores son organismos nocivos y destructivos para la agricultura, debido a que ocasionan pérdidas económicas en hortalizas, frutales, ornamentales y otras especies vegetales de importancia para el hombre. El daño causado por estos organismos puede ser directo o indirecto, el primero se origina con las rupturas de las células, ocasionando disminución de rendimiento y calidad del cultivo, el segundo surge al predisponer a la planta al ataque de hongos, bacterias y virus.

Los nematodos se consideran entre los organismos más difíciles de identificar, debido a que su morfología es muy similar. Se ha observado la presencia de especies y razas parasitando cultivos que se desarrollan en diferentes regiones climáticas. Los métodos tradicionales de identificación están basados en un análisis morfométrico y pruebas diferenciales de hospederos. Por lo cual se requiere de personal altamente capacitado para caracterizar un espécimen. Dado lo anterior se requiere una combinación de los métodos usados para su identificación.

La identificación correcta es importante para el éxito de la agricultura, debido a que permiten seleccionar métodos de control apropiados para estos patógenos, así como para establecer programas de cuarentena y evitar la introducción de nematodos parásitos a zonas agrícolas no infestadas, lo que ha demostrado evitar pérdidas de cosechas futuras.

## OBJETIVOS

2.1.-Identificar *M. incognita* en café (*Coffea canephora* ), chile (*Capsicum annuum*), y Guayava (*Psidium guajava* L ). papa (*Solanum tuberosum*).

2.2.-Determinar si existe variabilidad morfométrica del patrón perineal entre hembras de *M. incognita*.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### 3.1.-Características del genero *Meloidogyne*

Jobert (1878) analizó plantas de café, encontrando raíces laterales con numerosas agallas, mostrando las siguientes características, las agallas terminales eran piriformes, puntiagudas; las mas grandes eran del tamaño de un chicharo y contenían hembras de paredes hialinas, con huevos elípticos encerrados en membranas hialinas, que presentaban pequeños animales vermiformes, los gusanos emergían de los huevos que salían de las raíces y se encontraban en altas cantidades en el suelo ( Taylor y Sasser, 1978)

Goldei (1887) investigo el mismo problema y publico un documento sobre la enfermedad de los cafetos, señalando a *Meloidogyne exigua* como la causa de la enfermedad y la especie característica de un nuevo genero. Los mismos investigadores citan que la especie y el genero fueron sinonimizados, primero como *Heterodera radicola*, y *Heterodera marioni* respectivamente; posteriormente fueron separadas por Chitwood (1949), describió las 4 especies más comunes y ampliamente distribuidas: *Meloidogyne incógnita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. hapla* (Taylor y Sasser, 1978).

### 3.2.-Síntomas.

Las plantas afectadas por *Meloidogyne* spp presentan marchites, localizándose en manchones a consecuencia de la falta de agua y carencia de raíces funcionales; otros síntomas son agallas, raíces de escobilla o raíces toscas dándole un aspecto de escoba a la

raíz Christie, (1991). Los síntomas ocasionados por el ataque de *Meloidogyne* spp en la parte aérea de las plantas son una marchites generalizada, achaparramiento, hojas pequeñas cloróticas, quemado de bordes , una defoliación total, frutos pequeños, bajos rendimientos y muerte de la planta, mientras que síntomas típicos de las raíces dañadas son la presencia de agallas, las cuales son manifestaciones externas de la actividad de *Meloidogyne* spp ( Cepeda 1996)..

### **3.3.-Daños.**

EL daño se inicia al momento de la penetración de larvas juveniles de segundo estadio, la larva entra en la raíz cerca de la zona de actividad meristemática, moviéndose entre las células no diferenciadas, introducen su cabeza en el cilindro central del desarrollo. En hospedantes susceptibles las larvas inducen la formación de células gigantes de las cuales continúan alimentándose, por medio del estilete perforan las células aumentando la proporción de la división celular en el periciclo, esto da origen a células gigantes (sincitios) formadas por el agrandamiento de las células (hipertrofia) alrededor de la cabeza de la larva. Estos cambios son acompañados por el engrosamiento de la raíz para formar agallas. Cepeda, (1996). Se ha observado que en guayaba el daño por (*Fusarium oxysporum* y *Macrophomina phaseolina*) se incrementa con la presencia de *Meloidogyne* spp. Suárez, et al (1995, 1996<sup>a</sup>, 1996<sup>b</sup>), representando pérdidas de 48 a 57% en rendimiento ( Rodríguez et al.,1985).

En durazno (*Prunus pérsica* L.), el ataque de *Phytophthora* sp. Y *Fusarium* sp. se asocia con *Meloidogyne* spp. Rondon A, (1990). En café (*Coffea arábica*) se ha comprobado que son responsables de cuantiosas pérdidas, Araya, (1994); Campos et al., (1990); Kumar,

(1990), en general los nematodos causan perdidas por un monto de ochenta mil millones de dólares anuales en todas las cosechas del mundo. (Handoo, 1998).

### **3.4.-Hospederos.**

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

(Christie, 1991)

### **3.5.-Distribución.**

Los nematodos del género *Meloidogyne* se encuentran ampliamente distribuidos en varias regiones del mundo, pero más comunes regiones tenpadas , tropicales y subtropicales se han descrito 45 especies; de las cuales *M. incógnita*, *M. javanica*, *M. arenaria* y *M. hapla* son las especies más comunes en el mundo Taylor y Sasser, (1983).. En México, el nematodo agallador de las raíces se ha reportado en Guanajuato, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Sinaloa, Veracruz, Coahuila, Durango, Nuevo León, Tamaulipas, Nayarit, Chiapas, Puebla, Sonora, Tlaxcala, y Baja California Castro et al., (1990), Cid del Prado et al., (1998), Godoy y Yáñez, (1999), y Montes, (1988). La amplia distribución de estos patógenos puede atribuirse a que pueden soportar condiciones climáticas adversas, a esto debe agregarse el movimiento de material vegetal y maquinaria agrícola infestados, entre diferentes regiones..

### **3.6.-Descripción de *M. incognita***

*Meloidogyne incognita* es un parásito obligado, lo que significa que requiere de una planta hospedera para llevar a cabo su ciclo de vida. Ataca a cientos de plantas de interés comercial, entre las que destaca: Algodón, café, calabaza, chayote, chile, frijol, jitomate, garbanzo, guayabo, papa, melón, maíz, plátano entre otros. (Montes, 1988).

#### **3.6.1.-Reproducción**

.....Se reproduce básicamente por partenogénesis mitótica con dos formas citológicas :  $2n= 32-36$  y  $3n= 40 - 46$ , siendo más común la segunda, la hembra deposita de 500 a 1000 huevos en una masa gelatinosa, en el suelo o adheridos a tejido vegetal (Eisenback, *et al*., 1981).

#### **3.6.2.-Etapas preinfectiva**

El desarrollo del cigoto empieza pocas horas después de la oviposición, hasta que se observa el primer estadio larval, completamente desarrollado dentro del huevo teniendo cierta movilidad dentro del mismo, la primera muda tiene lugar dentro del huevo, (Taylor y Sasser, 1983).

#### **3.6.3.-Etapas parasítica**

.....Si las condiciones son favorables; 10 días después de la oviposición tienen lugar la segunda muda, esto ocurre después de la ruptura del huevo y los individuos quedan libres en el suelo, en esta etapa puede entrar en la raíz de la planta, principalmente en la zona de actividad meristemática. Con su estilete perforan las paredes celulares e inyectan

secreciones de las glándulas esofágica, causando hiperplasia e hipertrofia en las células, (Brodie, 1984).

#### **3.6.4.-Fase adulta.**

.....Los adultos presentan dimorfismo sexual el macho es filiforme y mide de 1400 a de largo y 390 micras de ancho, la hembra es globosa en forma de pera o limón, y mide 635 micras de largo y 330 micras de ancho, las hembras adoptan un modelo característico en la región perineal lo que permite identificarla (Eisenback, 1985).

#### **3.7.-Identificación de *Meloidogyne* spp. por métodos tradicionales.**

.....Chitwood (1949), indico que la diferenciación entre especies de *Meloidogyne* se basa principalmente en el patrón perineal, sin embargo se dificulta la identificación; por consiguiente la caracterización de un espécimen depende mucho del juicio personal del investigador. Mientras que Franklin (1979), consideró que el patrón perineal es la característica más útil para identificar especies de *Meloidogyne*.

Golden *et al* (1978), reportaron que los caracteres principales de diagnostico para *Meloidogyne* spp son: El patrón perineal, morfología, longitud del estile en hembras y

machos. Sin embargo la longitud de estos es cuestionable debido a la gran variabilidad morfológica y fisiológica que existe entre especies apodícticas.

Sasser (1979), en su ensayo “Pruebas de hospederos diferenciales” dentro del proyecto internacional de *Meloidogyne* spp realizado en Carolina Del Norte, menciona que se pueden identificar 4 razas de *M. incognita* cuadro 1.

Eisenback *et al.*, (1983), mencionan que la morfología de *Meloidogyne* spp es bastante similar, sin embargo existen características distintas que son de utilidad para la diferenciación entre especies, estos caracteres incluyen: la morfología del modelo perineal en hembras. La morfología del estilete y cabeza en hembras, machos y juveniles de segundo estadio. Los modelos perineales y la forma de la cabeza del macho son las características más útiles. Sin embargo la morfología del estilete no es confiable pero puede ser usada solo en especímenes que son preparados convenientemente y observados en posición lateral precisa, una población nunca debe identificarse con medidas debido a que estas son variables y se sobre ponen entre especies.

Jepson (1987), en su libro “Claves pictóricas para la identificación de *Meloidogyne* spp”, Menciona que en décadas anteriores la identificación de especies de *Meloidogyne* consistía en una comparación con el carácter mas similar que presentaba el espécimen. En la actualidad existen mas de 140 características descritas de Huevos, juveniles de segundo estadio, hembras y machos, siendo la mayoría medidas particulares , y algunas cualitativas, el mas común de ellos es el modelo perineal. Hay especies que se pueden distinguir usando una solo característica y otras que no se pueden, esto debido a la semejanza morfológica entre

especies, sin embargo se recomienda utilizar una combinación de características para una mejor identificación.

## **MATERIALES Y MÉTODOS.**

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Nematología del Departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN y en las instalaciones del Centro Internacional de Servicios Fitosanitarios (CISEF) ubicado en Urdiñola norte # 360 CP 25000 zona centro, Saltillo, Coahuila México. Para cumplir los objetivos del trabajo de investigación, se planteó la siguiente metodología.

### **4.1.-Muestreo de café (*Coffea canephora* ).**

La colecta de material vegetal de café (*Coffea canephora*) se llevó a cabo en el predio agrícola denominado el Faisán, Colonia Marco Antonio Muñoz, Tezonapa Veracruz, México. Ubicado entre los paralelos a 18° 34' Latitud Norte y 96° 49' Longitud Oeste del meridiano de Greenwich y a una altitud de 500 msnm.

Se realizó un muestro dirigido en forma de zig-zag, cubriendo 2 hectáreas de cultivo con 20 años en producción. Se muestrearon plantas con síntomas externos ocasionados por el nematodo agallador, tales como: Marchites generalizada, hojas cloróticas y frutos de baja calidad. El muestreo se realizó en Marzo de 2005, debido a que las condiciones del ambiente influyen sobre la población de nematodos, en general son más activos en primavera y verano a temperaturas por arriba de 20 °c.. La toma de muestra se realizó a una profundidad de 0 a 35 cm. Se seleccionaron raíces jóvenes y en crecimiento activo con presencia de agallas, el tamaño de la muestra fue de 200 gramos para cada punto de muestreo, en total fueron 50 puntos de muestreo, al final las muestras se mezclaron y se tomaron 6 submuestras de 200 gramos cada una. Las muestras fueron cubiertas con papel periódico húmedo y se colocaron en bolsas de plástico etiquetándose inmediatamente, para su traslado al Laboratorio de Nematología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

#### **4.2.-Muestreo de *Guayaba (Psidium guajava L.)*.**

El material vegetal de *Guayaba (Psidium guajava L.)* se colectó en Malpaso, municipio de Calvillo, Ags., México, ubicado entre los paralelos 21° 43'00" y 22° 77'00" de latitud Norte, 102° 33'00" y 102° 52'00" de longitud Oeste, a una altitud de 1680 msnm.

En una huerta de 1 hectárea se llevó a cabo un muestreo dirigido, se seleccionaron 20 árboles con síntomas externos ocasionados por el nematodo agallador tales como: Marchites generalizada, Hojas cloróticas con bordes quemados, frutos pequeños así como la presencia de agallas, se tomaron 200 gramos de raíz a una profundidad de 0 a 30 cm., a una distancia de 1 m. con respecto al tallo. Las 20 muestras se mezclaron y se tomaron 6 submuestras de 200 gramos cada una, posteriormente fueron cubiertas con papel periódico húmedo y se colocaron

en bolsas de plástico, se etiqueto inmediatamente, para su traslado al Laboratorio de Nematología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

#### **4.3.-Muestreo de Chile (*Capsicum annuum*).**

El material vegetal del cultivo de *chile* (*Capsicum annuum*), se colecto en los invernaderos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila México, ubicado entre los paralelos 25°31' Longitud Norte y 101° 01' Longitud Oeste del Meridiano de Greenwich y a una altitud de 1743 msnm.

Se realizo un muestreo dirigido, seleccionando plantas que presentaban síntomas ocasionados por el nematodo agallador; como son marchitamiento generalizado, hojas cloróticas y frutos de baja calidad. Se extrajeron 10 muestras en un almacigo de 2 m de ancho por 20 m de largo, por tratarse de plantas anuales se extrajo toda la planta, posteriormente se cortaron las raíces que presentaban agallas, y por ultimo se homogenizó las muestras para tomar 6 submuestras de 200 gramos cada una. Las muestras fueron cubiertas con papel periódico húmedo y se colocaron en bolsas de plástico, se etiqueto e inmediatamente, se realizó el traslado al Laboratorio de Nematología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

#### **4.4.-Muestreo de Papa (*Solanum tuberosum*).**

El material vegetal de papa (*Solanum tuberosum*), se colecto en Navidad Municipio de Galeana Nuevo León, localizado entre los paralelos 25°00'00" de latitud Norte y 100° 32'00" de longitud Oeste del meridiano de Greenwich, a una altitud de 1800 msnm.

El muestreo se realizo en la época de cosecha (agosto-noviembre), se seleccionaron tubérculos con síntomas ocasionados por el nematodo agallador tales como: protuberancias en la epidermis del tubérculo. La muestra constaba de 10 kg de tubérculo infectado, se homogenizo y se obtuvieron 6 submuestras de 1kg cada una, se colocaron en bolsas de plástico se etiqueto inmediatamente, para su traslado al Laboratorio de Nematología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

#### **4.5.-Caracterización morfométrica de patrones perineales de *Meloidogyne* spp.**

##### **4.5.1.-Extracción de hembras a partir de raíces.**

Cada muestra de raíz se analizo en forma independiente, procedimos a lavar las raíces con agua abundante para eliminar impurezas, se cortaron en segmentos de 6cm, y se colocaron en una caja petri, con ayuda de un microscopio estereoscopio, aguja de disección y pinzas de relojero, se observa cuidadosamente la muestra y una vez localizadas las hembras, se extraen cuidadosamente, para colocarlas en una Siracusa con agua destilada desionizada estéril (DDE).

##### **4.5.2.-Extracción de hembras a partir de tubérculos.**

En los tubérculos se realizan cortes sobre la cutícula de 3 a 5 mm de profundidad con un pela papas de uso casero, se buscan puntos de color púrpura o café; con ayuda de un microscopio estereoscopio se observa cuidadosamente, una vez que se localizan las hembras se extraen, con una aguja de disección, para colocarlas en una Siracusa con agua destilada desionizada estéril.

#### **4.5.3.-Corte del patrón perineal.**

Con ayuda de una aguja de disección se coloca la hembra en una gota de agua destilada desionizada estéril sobre un porta objetos, con un microscopio-estereoscopio, se enfoca la hembra y se observa cuidadosamente, una vez localizada la cápsula encefálica, se realiza un corte ecuatorial con una navaja de rasurar. La parte inferior del corte donde se localiza el ano y la vulva, se transfiere a otra gota DDE y se realizan los cortes necesarios hasta delimitar el patrón perineal en una forma cuadrada, para facilitar su montaje. Una vez obtenido el corte, con un pescador de plástico se transfiere a una gota de ácido láctico al 45%, y se deja reposar por un minuto para eliminar grasa de la hembra, posteriormente de haberlo limpiado se trasfiere a una gota de glicerol en un portaobjetos, se colocó el corte con la parte interior hacia el portaobjetos, con un sacabocados se coloca un anillo de cera blanca alrededor del corte y cuidadosamente se paso el cubreobjetos en la parte superior del corte, pasamos el portaobjetos a una plancha eléctrica para que se derritiera la cera, de esta manera se obtuvo un montaje permanente, inmediatamente se etiqueto con los datos correspondientes.

#### **4.5.4.-Caracterización de patrones perineales.**

Obtenido el patrón perineal en un montaje permanente, se observó en un microscopio con el objetivo de 5X para localizar el corte, el de 10X para enfocar el corte y por ultimo con el de 40X y 100X para observar las características que presenta el patrón perineal, como líneas laterales, arco dorsal, puntuaciones, ano, vulva y campos laterales. Los modelos perineales fueron fotografiados y se identificaron mediante las claves para identificación de *Meloidogyne* spp. de (Jepson 1987).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN.**

A continuación se presentan los resultados obtenidos en las cuatro localidades de estudio, cada muestra se analizo en forma independiente la

identificación se realizó basándose en las características del modelo perineal y el peso de las bandas amplificadas para cada muestra.

### **Caracterización Morfométrica De Patrones Perineales**

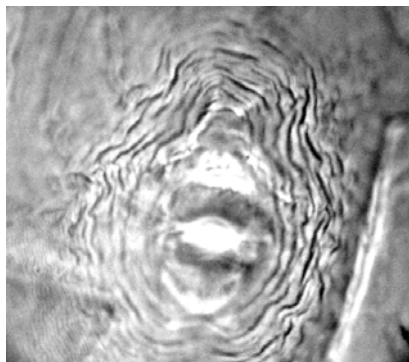
#### **5.2.-Caracterización Morfométrica de *Meloidogyne* spp. en café (*Coffea canephora*)**

Las características de los cortes perineales obtenidos fueron las siguientes, un modelo perineal ovalado, en la Figura 1 se observa arco dorsal alto y cuadrado, formado por estrías onduladas y lisas, que se estrechan en la parte mas alta del arco dorsal; mientras que la Figura 2 presenta un arco dorsal alto y cuadrado, formado por estrías lisas y onduladas menos estrechas que el anterior, la Figura 3 presenta un arco dorsal alto y cuadrado formado por estrías onduladas y discontinuas, en este sentido Eisenback *et al.*, (1983;1985) mencionan que el arco dorsal alto y cuadrado es la característica determinante para identificar a *M. incognita*; las estrías que se observaron en los tres cortes, son onduladas, lisas y discontinuas, presentándose muy poca variabilidad entre cortes; para esta característica Eisenback *et al.*, (1983,1985) describen, que las estrías van de onduladas a lisas, así mismo Jepson (1983) señala que pueden ser discontinuas y agrupadas; la Figura 2 presenta alas laterales visibles, en este sentido Aguilar, (1997) señala que algunos individuos de esta especie presentan indicaciones de alas laterales; en la Figura 1 y 3 se muestran individuos que presentaron líneas laterales ligeramente visible así mismo Eisenback *et al.*, (1983, 1985) señalan que frecuentemente se observa líneas laterales que no están claramente visibles; la

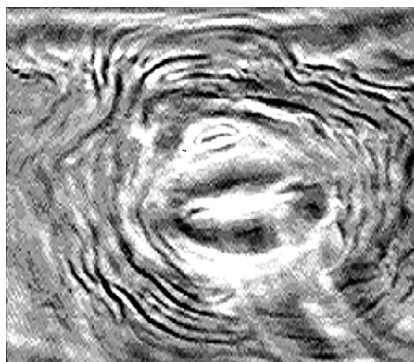
Figura 1, 2 y 3 presentaron un arco ventral formado por estrías que están curvadas hacia la región anterior a la vulva esta esto coincide con Aguilar, (1997) quien menciona que algunas estrías pueden estar curvadas hacia la vulva.

Sin embargo se observan diferencias morfométricas entre los individuos de las Figuras 1,2 y 3, Esta variabilidad entre individuos de la misma especie, y del mismo cultivo, pudieran ser a causa de que son especies apomicticas y a la gran movilidad de material vegetal que existe en la región donde se realizo el muestreo, Golden *et al.*, (1978), citan que existe variabilidad morfológica y fisiológica entre especies apomicticas. Las características anteriormente descritas proporcionaron elementos para determinar que efectivamente la especie encontrada es *Meloidogyne incognita*.

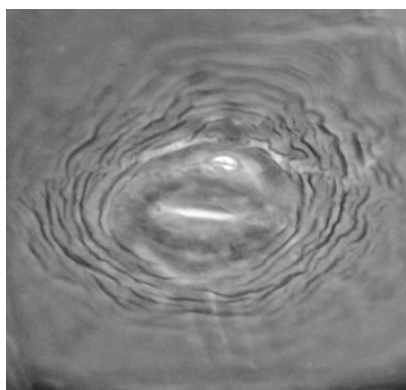
Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Sosa, (1976), quien menciona que desde 1906 se ha observado a esta especie parasitando al cultivo de café (*Coffea canephora* y *Coffea arabica*) en México, Jepson, (1987) menciona que se ha observado a la misma especie parasitando café (*Coffea canephora*) en América del Sur, Castro *et al.*, (1990), Cid del Prado *et al.*, (1998), Godoy y Yáñez (1999), y Montes (1988) reportan que *M. incógnita* se encuentra presente en Veracruz; no se tenían reportes de la presencia de esta especie en la región de Tezonapa Veracruz.



**Figura 1** Patrón perineal ovalado, arco dorsal alto y cuadrado, estrías onduladas, se bifurcan en el área lateral, líneas laterales ligeramente visibles, las estrías del arco ventral están curvadas hacia la vulva, el área entre el ano y la vulva esta libre de estrías.



**Figura 2** Patrón perineal ovalado, presenta un arco dorsal no tan elevado y cuadrado, alas laterales visibles, estrías onduladas y gruesas, las estrías del arco ventral están curvadas hacia la vulva y el área perivulval esta libre de estrías.



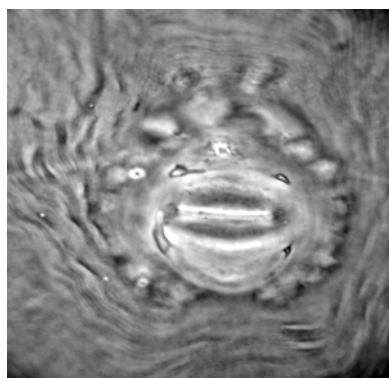
**Figura 3** Presenta un modelo perineal ovalado, arco dorsal no tan elevado y cuadrado, una línea lateral no muy visible, las estrías del arco ventral convergen hacia la región anterior a la vulva, estrías marcadas, onduladas y lisas, las estrías dorsales y ventrales se bifurcan en el área lateral, sin estrías entre al ano y la vulva.

**5.3.-Caracterización Morfométrica de *Meloidogyne* spp. en Guayaba (*Psidium guajava* L.).**

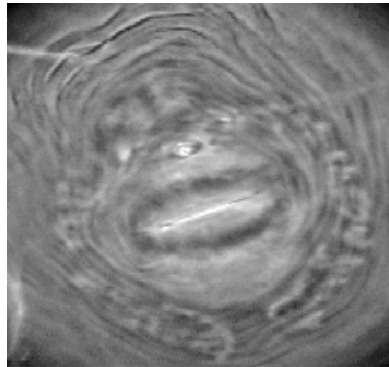
A continuación se describen las características de los patrones perineales obtenidos: modelo perineal en forma ovalada; arco dorsal alto y cuadrado, formado por estrías lisas y onduladas, como se observa en los individuos de la Figura 4, 5 y 6. En este sentido Jepson, (1987), Eisenback *et al.*, (1983,1985) y Aguilar (1997) señalan que *M. incognita* presenta arco dorsal alto y cuadrado; las estrías que presentan los individuos de las figuras 4,5 y 6 son onduladas lisas continuas y gruesas, esto concuerda con Jepson, (1983), Eisenback *et al.*,

(1983,1985), quienes describen que las estrías de esta especie pueden ser de onduladas a lisas, continuas, discontinuas y gruesas. En las figuras 4 y 5 se muestran modelos perineales que presentan líneas laterales ligeramente visibles, lo cual coincide con lo reportado por Eisenback *et al.*, (1983,1985), quienes señalan que frecuentemente se observan líneas laterales poco visibles, como se aprecia en el patrón perineal de la Figura 4, las estrías del arco ventral están curvadas hacia el área anterior a la vulva, en este sentido Aguilar, (1997) quien señala que algunos patrones perineales muestran las estrías del arco ventral curvadas hacia la vulva, mientras tanto en las Figuras 5 y 6 los modelos perineales muestran que las estrías del arco ventral convergen en el área anterior a la vulva; en las Figuras 4 y 5 se observan individuos con líneas laterales ligeramente visibles, esta característica coincide a la descrita por Eisenback *et al.*, (1983,1985) quienes señalan que frecuentemente se observan líneas laterales poco visibles. De acuerdo a las características descritas anteriormente, se concluye que la especie encontrada en este cultivo, es *Meloidogyne incognita*.

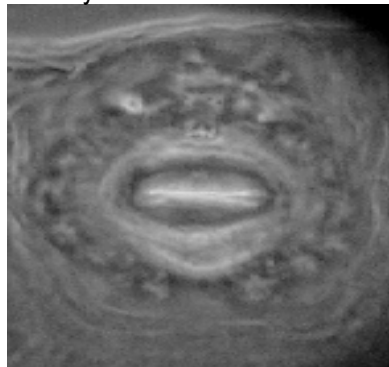
Los resultados obtenidos concuerda con Suárez, *et al.*,(1995, 1996<sup>a</sup>, 1996<sup>b</sup>), quienes indicaron que se a observado a esta especie parasitando el cultivo antes mencionado en Venezuela, en este sentido Rodríguez (1985) señala que esta misma especie se a encontrado en Hawai parasitando el mismo cultivo, así mismo Carrillo *et al.*,(1990) y Acosta, (2002) reportan la presencia de esta especie en esta misma región de muestreo.



**Figura 4** Patrón perineal ovalado, arco dorsal alto y cuadrado, líneas laterales no muy visibles, estrías lisas y onduladas, sin presencia de estrías entre el ano y la vulva, las estrías del arco ventral están curvadas hacia el área anterior a la vulva.



**Figura 5** Modelo perineal ovalado, arco dorsal alto y cuadrado, líneas laterales no muy visibles, las estrías del arco ventral convergen en el área anterior a la vulva, sin presencia de estrías entre el ano y la vulva, estrías onduladas y lisas.



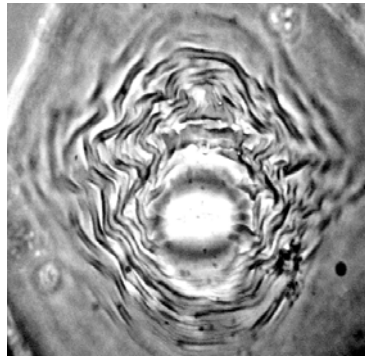
**Figura 6** Patrón perineal ovalado, presenta arco dorsal alto y cuadrado, estrías onduladas y lisas, las estrías del arco ventral se convergen en la región anterior a la vulva, sin estrías entre al ano y la vulva.

#### **5.4.-Caracterización Morfométrica de *Meloidogyne* spp. en Chile (*Capsicum annuum*).**

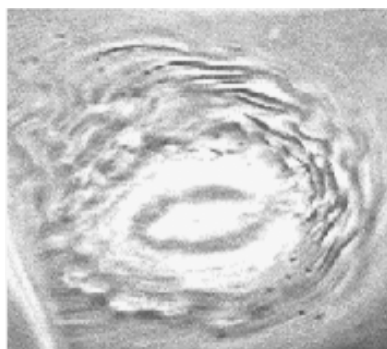
Para este cultivo los patrones perineales obtenidos de las hembras presentaron las siguientes características: Modelo perineal de forma ovalada; arco dorsal alto y cuadrado formado por estrías onduladas estrechas en la parte alta del arco como se observa en la Figura 7, al respecto Eisenback *et al.*, (1983,1985) señalan que el arco dorsal alto y cuadrado es la característica determinante para *Meloidogyne incognita*, mientras que en las Figuras 8 y 9 los individuos presentan un arco dorsal cuadrado mas bajo, formado por estrías onduladas, esto concuerda con Aguilar (1997) este autor describe que algunos patrones perineales muestran un arco dorsal mas bajo que otros; las estrías que se observan en las Figuras 7, 8 y 9 son onduladas gruesas y discontinuas, esto coincide con la descripción hecha por Jepson, (1987) quien señala que las estrías pueden ser gruesas, onduladas y discontinuas; en la Figura 7 se observan alas laterales visibles, esta característica concuerda con Aguilar, (1997) quien menciona que algunos patrones perineales presentan alas laterales visibles; las estrías del arco ventral convergen en el área perivulvar, en este sentido Eisenback *et al.*, (1983,1985) señala que frecuentemente se observan estrías que se dirigen

hacia la vulva. De acuerdo a las características de los modelos perineales obtenidos, la especie encontrada corresponde a *Meloidogyne incognita*.

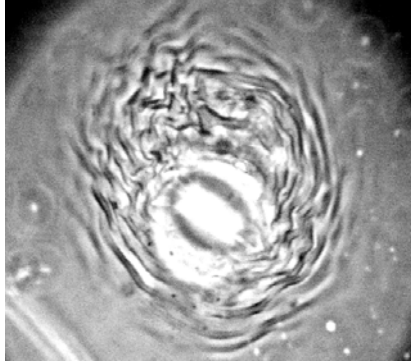
Los resultados obtenidos concuerdan con Jepson (1987) quien reporta a *Meloidogyne incognita* como un parásito en Chile (*Capsicum annuum*) en este sentido Montes, (1988) señala a esta misma especie en el cultivo antes mencionado, así mismo Castro *et al.*, (1990), Cid del Prado *et al.*, (1998), Godoy y Yáñez (1999), y Montes (1988) quienes reportan que *M. incognita* se encuentra distribuida en el Estado de Coahuila, sin embargo no se tenían reportes de que esta especie este presente en el lugar de muestreo.



**Figura 7** Patrón perineal ovalado y alargado en los polos, presenta arco dorsal alto y cuadrado, alas laterales visibles, estrías onduladas, las estrías del arco ventral son continuas en el contorno de la vulva, el área entre al ano y vulva esta libre de estrías.



**Figura 8** Modelo perineal ovalado, arco dorsal extendido a media altura, formado por estrías onduladas y gruesas, sin estrías entre el ano y la vulva, las estrías del arco ventral son lisas.

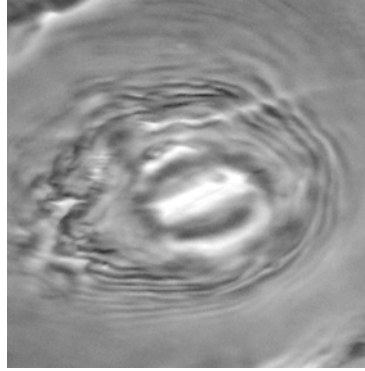


**Figura 9** Presenta un modelo perineal ovalado, arco dorsal alto formado por estrías onduladas que se estrechan en el punto mas alto, estrías agrupadas y onduladas, las estrías del arco ventral son continuas en la zona perivulvar.

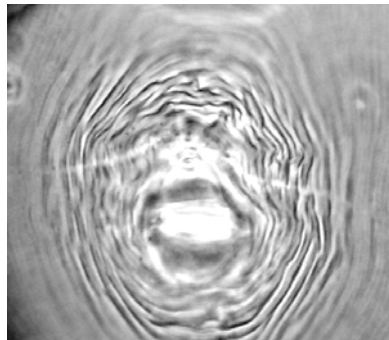
### 5.5.-Caracterización Morfométrica de *Meloidogyne* spp. en papa, (*Solanum tuberosum*).

Los cortes del área perineal obtenidos, presentan las siguientes características: modelo perineal de forma ovalada; arco dorsal alto y cuadrado formado por estrías onduladas y lisas como se observa en las Figuras 10, 11 y 12, al respecto Eisenback *et al.*, (1983,1985) señalan que la característica determinante para identificar esta especie es el arco dorsal alto y cuadrado; se puede observar que los modelos perineales en las Figuras 10,11,12, presentaron líneas laterales ligeramente, esto coincide con lo descrito por Eisenback *et al.*, (1983,1985) quienes mencionaron que frecuentemente se observan líneas laterales poco visibles; las estrías que presentan las figuras 10,11 y 12 son lisas, onduladas y continuas, esto concuerda con Jepson (1987) y Eisenback *et al.*, (1983,1985) quienes mencionan que las estrías pueden ir de lisas a onduladas, continuas y discontinuas; las estrías del arco dorsal en la figura 10 convergen en la región perivulvar, mientras que en las figuras 11 y 12 las estrías del arco ventral están curvadas hacia la región anterior a la vulva, esto coincide con Eisenback *et al.*, (1983,1985) quienes señalan que frecuentemente las estrías del arco ventral se dirigen hacia la vulva, así mismo Aguilar, (1997) menciona que algunos patrones perineales presentan las estrías del arco ventral curvadas hacia la vulva.

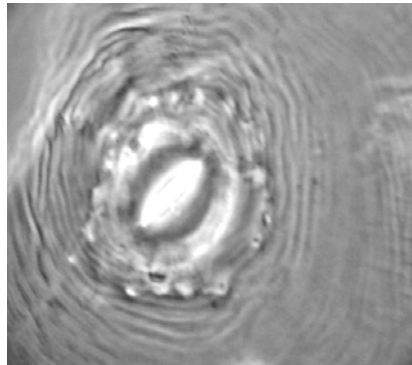
Las características anteriormente descritas nos proporcionaron elementos para determinar que la especie encontrada es *Meloidogyne incognita*. Los resultados obtenidos coinciden con Hooker, (1980), Hewlet *et al.*, (1983) quienes señalan a *M. incognita* como una especie que parasita a papa (*Solanum tuberosum*), así mismo Puente, (1976), y Hernández, (1987) en un estudio realizado en el área de Navidad Nuevo León reporta que *M. incognita* se encuentre presente en esa región afectando al cultivo de papa.



**Figura 10** Modelo perineal ovalado, arco dorsal cuadrado a media altura formado por estrías onduladas, líneas laterales visibles, estrías onduladas y lisas, sin estrías entre el ano y la vulva, las estrías del arco ventral son ligeramente onduladas y son continuas al área perivulvar..



**Figura 11** Presenta un patrón perineal ovalado, arco dorsal a media altura, cuadrado, formado por estrías onduladas; líneas laterales visibles, estrías lisas y gruesas, sin estrías entre el ano y la vulva, las estrías del arco ventral son continuas en la región anterior a la vulva.



**Figura 12** Modelo perineal ovalado con arco dorsal cuadrado a media altura formado por estrías onduladas, líneas laterales ligeramente visibles, estrías onduladas y lisas, sin estrías entre el ano y vulva, las estrías del arco ventral rodean el área anterior a la vulva.

### CONCLUSIONES

6.1.-Se identifico a *Meloidogyne incognita* en café ( *Coffea canephora* ), chile (*Capsicum annuum*), y Guayava (*Psidium guajava* L ). papa (*Solanum tuberosum*).

6.2.-Efectivamente existe variabilidad morfométrica en modelos perineales de hembras dentro de la misma especie.

## **LITERATURA CITADA**

Acosta, Z. M. A. (2002). Identificación de Poblaciones de *Meloidogyne incognita* en el Guayabo (*Psidium guajava* L.) y La Recuperación de Microorganismos Asociados a su Control en la Región de Calvillo, Aguascalientes. Tesis de maestría UAAAN.

Aguilar, M. R. (1997). Nematodos Asociados al Cultivo de Papa (*Solanum tuberosum* L.) UAAAN, Buenavista Saltillo, Coahuila México, 187 p.

Araya, M.(1994) Importancia económica de los nematodos; Noticiero del Café 84 (6):2-6.

Brodie, B. B. (1984) Nematodes parasites of potatoes. Plant and nematodes, marcel N. Y. pag. 167 - 212.

Campos, V.P., Sivapalan, P., Gnanapragasam, C.N. (1990) .(Nematode) Parasites of Coffee, Cocoa and Tea. Pp 387-430.

Carrillo, R. J.1968, y Domínguez, A. J. L .(1990) Nematodos Asociados al cultivo de guayaba *Psidium guajava* L. y Control Químico en el Cañon de Juchipila, Zac. Mex. Revista Chapingo. N° 67 y 68, pp 94-97.

Castro, A. A., E. M. Zavaleta, V. I., Cid del Prado y Zamudio G. V. (1990), Rotación e incorporación de *Tapetes erecta* L. para manejo de *Meloidogyne* en el cultivo de tomate *Lycopersicum esculentum* Mill. En Tecamachalco Puebla. Revista Mexicana de Fitopatología 8:173-180.

Cepeda, S. M. (1996), Nematología Agrícola, UAAAN. trillas México.p 137-150.

Chitwood, B. G. (1949). Root-knot nematodes-Part 1. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. *Proc. Helminth Soco Wash.* 16:90-104.

Christie, R.J. (1991). Nematodos de los Vegetales su Ecología y Control Editorial Limusa, S. A.. México D.F. pp. 62-128.

Cid del Prado, Hernández, T. V. Espinosa, S. A Tovar y Torres C. R. .(1998). Distribución geográfica y frecuencia de especies de *Meloidogyne* en la Republica Mexicana. Avances de la Investigación. Instituto de Fitosanidad Colegio de Posgraduados, Montecillo, Estado de México pp. 114-115.

Eisenback, D.J. (1985). Detailed Morphology of Males and Females of Second-Stage Juveniles Root-Knot Nematodes; International *Meloidogyne* Project. Departments of Plant Pathology and Genetics North Carolina State University. p 47-77.

Eisenback, D.J.; Hirsgmann, H., Sasser,J.N., Triantaphyllou, A. C. (1983) Guía Para La Identificación De Las Cuatro Especies Mas Comunes Del Nematodo Agallador (*Meloidogyne* especies ) Con Clave Pictorica; Traducido Por Sosa-Moss C. Deparments of Plant Pathology and Genetics North Carolina State University; Departamento De Fitopatología, Colegio de Postgraduados Chapingo, México, Raleigh, North Carolina. p 17-21.

Franklin, M. T. (1979). Taxonomy of the genus *Meloidogyne*. In "Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species). Systematics Biology and Control" F. Lamberti and C. E. p 37-54.

Godoy, A.T.P Y Yáñez M. J. (1999). El Nematodo Agallador In: Memorias del Curso de Fitopatogenos del suelo en Hortalizas. Universidad Autónoma de Sinaloa p 19-92.

Golden, A. M. and Birchfield, W. (1978). *Meloidogyne incognita wartel!ei* . subsp. (Meloidogynidae), a root-knot nematode on resistant soybeans in Louisiana.. *Nematol* 10:269-277.

Handoo, Z. A. (1998). Nematodes Plant-Parasitic USDA, Ars, Laboratorio de Nematologia.

Hooker, W. J. (1980) Compendium of Potato Diseases. Centro Internacional De La Papa Perú. p 166.

Jepson, B. S. (1987). Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species) N T. J Nematology Department, Rothasmsted Experimental Station Harpenden. Herts. AL5 2JQ, United Kingdom. p 98.

Kumar A. C.(1990) Nematodes Attacking Coffee and Their Management a Review. J. Coffe Res. 20 (1):1-27.

Montes, B. R. (1988) Nematologia Vegetal en México Inv. Documental Soc. Mex. De Fitopatologia. 158 p.

Passer, J. N. (1997) Worldwide dissemination and important of the root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. J. Nematol 9: 26-29.

Puente, M. J. L., (1976) Evaluación De Los Nematicidas Temik (Aldicarb) y Furadan (Carbofuran) Para el Control de *Meloidogyne* spp. Y la Comparación de Estos Sobre el Rendimiento en el Cultivo De Papa. En la Región De Navidad Nuevo León Tesis Licenciatura (UAAAN). 40 p.

Rodríguez, H., Fernández, F. y Shesteperov. A. (1985) Effect *Meloidogyne* Infection on Guava. Helminthological Abstracts Serie B Vol. 52. 256 p.

Rondon, A. (1990). Enfermedades De Los Frutales En Venezuela. Maracay. Ven. Instituto De Investigaciones Agronómicas FONAIAP-CENIAP.serie B nº 9. 57 p.

Salvador, H. R., (1987) Identificación y Distribución Del Nematodo Agallador en el Cultivo de la Papa en Navidad Nuevo León. Tesis UAAAN.

Sasser, J. N. (1979). Pathogenicity, host ranges and variability in *Meloidogyne* species. In "Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species). Systematics, Biology and Control".pp 256-268.

Sosa, M. C.,Y Castillo, D. (1978) Avances de Investigación Sobre El Genero *Meloidogyne* En México. En Memorias de la Conferencia Regional de *Meloidogyne*. Universidad De Panamá.

Suárez, H. Z., Rosales, L. C., González, M., Rondon, A., Tellechea, V. , Navas, R. y Solórzano, R. (1995) Asociación De Hongos con el Nematodo Agallador del Guayabo (*Psidium Guajava* L.).6 (1):11-14

Suárez, H. Z., Rosales, L. C., Gonzáles, L. M. y Rondon, A. (1996)a., Effect of *Meloidogyne* spp. *Madrophomina phaseolina* and *Fusarium oxysporum* on *Psidium Guajava* L and The Induced Histophological Changes. P 83.

Suárez, H.Z., Rosales, L. C., González, M. Rondon, A., Arnal, E., Tellechea, V. Navas, R., Ramos, F. y Solórzano, R. (1996)b. Factores Bióticos Que Limitan Algunos Frutales p 11-12.

Taylor, A. L y Sasser, S. N.. (1978) Biology, identification and control of root- knot nematodos *Meloidogyne* spp. international Meloidogyne Project North Carolina State University 111pp.

## APENDICE

**Cuadro 1 Razas de *Meloidogyne incognita* (Sasser 1979)**

| <i>Meloidogine incognita</i> | *tabaco | *algodón |
|------------------------------|---------|----------|
| Raza 1                       | --      | --       |
| Raza 2                       | +       | --       |
| Raza 3                       | --      | +        |
| Raza 4                       | +       | +        |

\*Tabaco (*Nicotiana tabacum*) cv Nc 95

\*Algodón (*Gossypium hirsutum*) cv Deltapine 16 (Sasser 1979)